



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE:
CARDIOLOGIA E CIÊNCIAS CARDIOVASCULARES**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Avaliação Ecocardiográfica do Strain miocárdico por Speckle Tracking: em busca de uma ferramenta não invasiva para detecção de rejeição miocárdica pós-transplante cardíaco

Aluna: Luciana J.B.M. Carrion

**Orientadora: Ângela B.S.Santos
Co-orientador: Luis Eduardo P. Rohde**

Porto Alegre, Abril de 2018.

AGRADECIMENTOS

Inicio meus agradecimentos à querida e inspiradora professora Ângela Barreto Santiago Santos. A mesma me conduziu com extremos zelo, atenção, disponibilidade, humildade, compreensão e, sobretudo, competência ao longo deste trabalho. Tenho a convicção de que tive muita sorte em poder contar com sua orientação tanto no aspecto técnico, pois fui capacitada por ela na modalidade de *strain*, quanto no aspecto profissional, por ser esta uma pessoa tão comprometida e ao mesmo tempo extremamente acessível.

Agradeço ao professor Luis Eduardo Paim Rohde por compartilhar seus conhecimento e sua larga experiência sempre acrescentando preciosas contribuições a este trabalho. Além disso, foi o responsável por eu ter sido orientada pela professora Ângela.

Ao professor Fábio Cañellas por ter me incentivado e auxiliado a dar seguimento a esta etapa de pós-graduação, sendo a ponte fundamental entre mim e esta instituição. Isso sem mencionar a importância que teve para minha formação como ecocardiografista.

À colega Raffaella Nazário pela ajuda e contribuição indispensáveis ao acesso a informações primordiais ao longo deste período. À estagiária Alice Sperotto por seu empenho e presteza sempre que solicitada, além da responsabilidade na coleta dos dados. À doutora Lívia Adams Goldraich Igoldraich pelos ensinamentos e generosidade ao compartilhar informações que foram o cerne deste trabalho. À professora Sandra Fuchs por ter disponibilizado a estação de trabalho *off line* (TomTec Imaging Systems) situada em seu laboratório do centro de pesquisas clínicas, PREVER. Aos professores do programa de pós graduação, em especial às professoras Leila Beltrami e Andréia Biolo por me auxiliarem a desenvolver um olhar científico e a aguçar o espírito crítico para a ciência.

Aos meus familiares: meus pais que foram responsáveis pela possibilidade de eu chegar neste estágio, à minha mãe que sempre me incentivou a evoluir tanto pessoal quanto profissionalmente, acreditando na importância do estudo continuado e ao meu pai por dar seu exemplo de cultura e curiosidade constantes. Ao meu marido que, além do suporte prático diário que ele me proporciona para que eu possa me dedicar, além do trabalho, também às atividades de pesquisa, é meu grande companheiro e incentivador da minha evolução profissional, acreditando em mim e respeitando minhas escolhas quanto à vida científica.

ÍNDICE

ABREVIATURAS.....	4
INTRODUÇÃO.....	5
Rejeição do enxerto no TC.....	5
- Rejeição aguda celular.....	6
- Rejeição humoral.....	7
Diagnóstico de rejeição pós transplante	7
- Ecocardiograma e rejeição pós transplante.....	7
- <i>Strain</i> miocárdico por <i>speckle tracking</i>	9
HIPÓTESES	13
OBJETIVOS.....	14
REFERÊNCIAS.....	15
ABBREVIATIONS.....	20
ARTIGO ORIGINAL PARA PUBLICAÇÃO.....	21

ABREVIATURAS

IC	Insuficiência Cardíaca
TC	Transplante Cardíaco
ISHLT	Interacional Society of Heart and Lung Transplantation
SGL	Strain Global Longitudinal

INTRODUÇÃO

A insuficiência cardíaca (IC) é uma síndrome em que, a despeito do tratamento clínico otimizado, incluindo o uso de dispositivos cardíacos, muitos pacientes evoluem para o estágio clínico terminal. O transplante cardíaco (TC) tem se apresentado como a terapêutica preferencial neste estágio.⁽¹⁾ Aproximadamente 4.000 transplantes cardíacos são realizados ao ano, em cerca de 300 países, com uma sobrevida em torno de 90% no primeiro ano após a cirurgia, em pacientes selecionados.^(2,3) No Brasil, este número corresponde a aproximadamente 300 casos/ano, distribuídos entre 33 centros autorizados no país, segundo dados obtidos do último Registro Brasileiro de Transplantes, feito pela Associação Brasileira de Transplante de Órgãos.⁽⁴⁾

Nos últimos 50 anos, houve um aprimoramento das técnicas cirúrgicas e da terapia aplicada aos pacientes transplantados, assim como houve evolução no conhecimento da fisiologia do TC, aumentando a sobrevida dessa população^(5,6). Ampliaram-se as indicações do TC, aumentou-se o número de potenciais candidatos e, assim, o perfil desses pacientes tornou-se mais complexo. Maior número de idosos, pacientes com múltiplas comorbidades e clinicamente debilitados, encontram-se atualmente como potenciais candidatos ao TC. Embora tenha ocorrido o aumento dessa demanda, o número de doadores não acompanhou esse crescimento, sendo este um importante limitador para a realização de TC. A identificação precoce de complicações pós-transplante como a rejeição e a doença cardiovascular do enxerto, assim como seu imediato tratamento são necessários para aumentar as chances de sucesso terapêutico do TC e aumentar da sobrevida do receptor.⁽¹⁾

Rejeição do enxerto no TC

A rejeição constitui-se em uma das principais causas de mortalidade no primeiro ano após o TC.^(2,7) Diferente da doença cardiovascular do enxerto, que se desenvolve de forma insidiosa, a rejeição ao enxerto pode surgir precocemente, sendo seu início normalmente oligossintomático, ou, até mesmo, assintomático, podendo estar associado a pior prognóstico após o TC. Com isso, é fundamental que seja feita a vigilância regular dos pacientes após o TC.

De acordo com suas características, a rejeição ao enxerto é classificada em três subtipos principais: a rejeição hiperaguda, subtipo raro e geralmente fatal; a

rejeição aguda celular, a forma mais frequente; e a rejeição humoral ou vascular, subtipo menos frequente e mais grave que o anterior e, geralmente, associado a instabilidade hemodinâmica ⁽⁷⁾.

Rejeição aguda celular

A rejeição aguda celular, subtipo de rejeição mais frequente, ocorre em aproximadamente 50-70% dos pacientes nos primeiros 6 meses de evolução após o TC.^(2,6) A maioria dos seus episódios é assintomático na fase inicial ou pode resultar em sintomas inespecíficos, como fadiga, astenia, anorexia e estado subfebril. Manifestações de IC como congestão ou baixo débito e disfunção sistólica, ao método ecocardiográfico tradicional, são mais tardios, indicando rejeição grave e com alto potencial para falência do enxerto.⁽⁸⁾

Como apenas, aproximadamente, um terço dos pacientes permanece livre desses episódios no primeiro ano pós-transplante⁽⁹⁻¹¹⁾, seu acompanhamento regular, conforme o protocolo de cada instituição, é fundamental para o diagnóstico precoce e o tratamento desse quadro clínico. A decisão sobre o tratamento mais ou menos agressivo da rejeição celular não é apenas baseada em dados histológicos, devendo ser considerados fatores de risco para a rejeição, dados imunológicos pré-transplante, dados clínicos, parâmetros de função sistólica e diastólica no ecocardiograma e efeitos colaterais das terapêuticas mais agressivas.

De acordo com o tipo e a intensidade dos processos inflamatórios desenvolvidos no enxerto, a rejeição celular é classificada em 4 graus histológicos, conforme nomenclatura estabelecida pela Sociedade Internacional de transplante de Coração e de Pulmão (*International Society for Heart and Lung Transplantation - ISHLT*) estabelecida em 1990 e revisada em 2004:⁽¹²⁾

- grau 0R (ausência de rejeição);
- grau 1R (rejeição leve, baixo grau), caracterizado por infiltrado inflamatório linfocitário perivascular ou intersticial, pouco exuberante, sem agressão aos cardiomiócitos ou com apenas um foco de agressão;
- grau 2R (rejeição moderada, grau intermediário) caracterizado pela presença de dois ou mais focos de agressão dos cardiomiócitos pelo infiltrado inflamatório, que é tipicamente multifocal, podendo conter alguns eosinófilos;
- grau 3R (rejeição intensa, alto grau) caracterizado pelo acometimento inflamatório dos vários fragmentos da biópsia, com padrão difuso em ao menos um deles, associado a múltiplas áreas de agressão celular.^(7,12)

Rejeição aguda humoral

A rejeição humoral ou rejeição aguda mediada por anticorpos é o termo que se aplica a um subtipo que agride preferencialmente a microcirculação do enxerto cardíaco. Sua incidência está em torno de 15-20% no primeiro ano pós-transplante e seu diagnóstico é feito através de achados histopatológicos compatíveis com anticorpos circulantes associados a disfunção do enxerto.⁽⁷⁾ Este subtipo está associado a uma deterioração clínica precoce e a sinais de instabilidade hemodinâmica. Deve-se suspeitar de quadro quando houver uma importante piora clínica e dos parâmetros ecocardiográficos, sem, contudo, apresentar grandes alterações histológicas à biópsia. Diferente da rejeição aguda celular, em que a mortalidade é baixa, aproximadamente 5 – 10%, a mortalidade da rejeição humoral com comprometimento hemodinâmico é bastante alta, chegando a atingir até 30 – 50% dos casos.⁽⁷⁾

Diagnóstico de rejeição pós transplante

A biópsia endomiocárdica é o padrão-ouro no diagnóstico de rejeição do enxerto.^(2,7,13) Entretanto, este procedimento é invasivo e associada a riscos não desprezíveis ao paciente. Além disso, suas amostras podem ter resultados insuficientes e, suas análises, apresentar grandes variações inter-observador ⁽¹⁴⁾. Sendo assim, tem sido buscadas alternativas na área em busca da substituição deste método por outro que encontre uma identidade, através do arranjo do DNA, que caracterize o perfil da expressão genética e se obtenha um diagnóstico mais fidedigno da rejeição. Tem havido resultados bastante promissores na área. A biópsia endomiocárdica em nosso contexto, contudo, permanece o método mais acessível a ser empregado no dia-dia do pós-transplante. Ela é realizada através de um acesso femoral ou jugular, retirando-se fragmentos do septo interventricular direito, guiado por fluoroscopia no laboratório de cateterismo cardíaco ou guiado por ecocardiograma.

Os protocolos de biópsia endomiocárdica variam de acordo com cada serviço, mas em geral, a primeira já é realizada após uma semana do transplante.

Ecocardiograma e rejeição pós transplante

Na busca de um método confiável, menos oneroso e, sobretudo, não invasivo para diagnóstico de rejeição após o TC, a ecocardiografia vem ampliando sua participação no cenário de seguimento desses pacientes. Por ser acessível, de fácil execução e por possibilitar a comparação entre exames sequencias de parâmetros como as funções sistólica e diastólica, as dimensões das cavidades cardíacas, e a funcionalidade valvar, esse método tem sido avaliado e estudado em sua potencial utilidade na detecção de sinais de rejeição.^(2,4,7)

O paciente submetido ao TC, de acordo com os protocolos institucionais, faz estudos ecocardiográficos de forma regular e rotineira com dois objetivos principais: avaliar possíveis complicações decorrentes dos procedimentos de acompanhamento invasivos como as biópsias miocárdicas e avaliar o surgimento de sinais ecocardiográficos de deterioração cardíaca que apontem para o diagnóstico de rejeição ao enxerto. Nesse último aspecto, a fração de ejeção do ventrículo esquerdo sempre foi o parâmetro ecocardiográfico mais utilizado, contudo sabe-se que sua redução é tardia, já estando, muitas vezes, associada a um quadro de degeneração miocárdica irreversível. Sendo assim, seu valor como preditor de disfunção do enxerto num contexto em que se prioriza a precocidade do diagnóstico e sua possível reversibilidade, torna-a bastante limitada.^(2,7, 8) Desta forma, foi iniciada uma busca de marcadores ecocardiográficos que detectassem precocemente essa complicação pós TC.

Estudos iniciais mostraram que alteração da função diastólica, avaliada por fluxo transmitral e Doppler tecidual, ocorria mais precocemente na rejeição do enxerto do que a queda da fração de ejeção.^(2, 15) Contudo, como a avaliação do enchimento ventricular e do fluxo transmitral sofre influência de inúmeras variáveis, como pré-carga, dinâmica e morfologia atrial, dissociação receptor–doador, complacência e contratilidade do ventrículo esquerdo, idade do doador e frequência cardíaca, essas alterações eram pouco específicas para o diagnóstico de rejeição apesar dessas medidas se fazerem sempre necessária no estudo ecocardiográfico devido ao valor prognóstico que agregam^(2,9,16) Adicionalmente, Valentine *et al*, estudando a disfunção diastólica como parâmetro de rejeição precoce observou que houve grande diversidade de seus resultados quanto a sensibilidade e especificidade de sua associação com achados de alterações precoces nas biopsias endomiocárdicas sequenciais⁽¹⁷⁾. Ou seja, não se pôde estabelecer uma relação temporal clara, com elevadas sensibilidade e especificidade, entre a disfunção diastólica e os achados histopatológicos de rejeição. Em outros trabalhos, foi aventada a possibilidade de detecção subclínica de disfunção do enxerto através do uso do Doppler Tissular. No

entanto, em virtude de fatores como: diferenças das velocidades das ondas e' e a' que encontram-se alteradas num mesmo paciente transplantado conforme a fase de evolução pós-transplante e, em razão da possibilidade de variações dessas médias apresentadas ao longo da evolução dos anos de seguimento, sua utilização enfrenta algumas limitações. Além disso, fatores como angulação e frame-rate na aquisição, também comprometem seus resultados e sua acurácia⁽¹⁸⁾. Outros fatores ainda resultantes do ângulo de inclinação do estudo Doppler e dos movimentos complexos do coração podem interferir com o registro da velocidade miocárdica. Anormalidades de movimento de parede ocorridos regionalmente em pacientes transplantados, também foram limitantes para a aplicação do método.^(19,20) Posteriormente, Sun JP *et al.* avaliou o Doppler Tissular isoladamente e associado a outros parâmetros ecocardiográficos já conhecidos (efusão pericárdica, tempo de relaxamento isovolumétrico, a razão entre E/A, entre outros), concluindo também que, embora os mesmos sejam de grande relevância na avaliação pós TC, não comprovaram consistência suficiente a ponto de poder-se prescindir da biópsia endomiocárdica quando na busca de detecção precoce de rejeição ao enxerto.⁽²¹⁾

Assim, continuou-se a busca por medidas ecocardiográficas mais confiáveis e robustas para se fazer diagnóstico precoce de rejeição após o TC. Nesse cenário, tem se destacado o estudo da detecção subclínica de disfunção miocárdica através do *strain* miocárdico. Dados iniciais, foram mostrados usando o *strain* com Doppler tissular para avaliar a função sistólica longitudinal anormal no pos TC^(22,23,24), entretanto, essa técnica possui limitações mediante a dependência do ângulo de incidência da aquisição da imagem, da dependência da pré-carga e pós-carga e inabilidade de acessar planos diferentes de deformação além do longitudinal. Mais recentemente, o surgimento da técnica do *speckle-tracking* através da análise de imagens ecocardiográficas no modo bi-dimensional tem permitido a avaliação da função contrátil miocárdica suplantando as limitações do Doppler tissular descritas previamente⁽²⁵⁾ e de forma mais acurada que a metodologia prévia, em especial o *strain global longitudinal* (SGL).

Strain miocárdico por speckle tracking

A Ecocardiografia ao longo dos anos tem sido utilizada em larga escala na avaliação cardíaca devido a sua natureza dinâmica de interpretação da mecânica miocárdica. Na última década, com o surgimento de novas técnicas que sofrem constantes atualizações, tem-se permitido ao ecocardiografista análises mais

detalhadas e sensíveis, sobretudo mais precoces, de patologias miocárdicas por meio dessas ferramentas. ⁽²⁶⁾ Neste contexto destaca-se o *strain*, método utilizado ainda predominantemente em pesquisas, que analisa a deformidade miocárdica através de mínimas partículas denominadas *speckles*. O software está apto a fornecer a variação da distância (deformidade) entre os *speckles* em uma área de interesse previamente definida, obtendo o valor do *strain*, o qual tem agregado significativo valor diagnóstico e prognóstico ao estudo ecocardiográfico. ⁽²⁷⁾

O Strain (ϵ) descreve a deformação miocárdica através da variação fracional do comprimento de seus segmentos. Matematicamente é calculado através da subtração entre dois pontos de distância (do ponto de início – L0, ao ponto final do movimento - L1) dividido pelo comprimento inicial, ($\epsilon = \Delta L / L0$ ou $\Delta L = L1 - L0$). ⁽²⁸⁾ É uma medida sem unidade cuja expressão é feita em percentual. Pode ter valores positivos ou negativos, conforme a distensão ou o encurtamento da fibra, respectivamente. ⁽²⁸⁾ O termo strain global longitudinal, strain global circunferencial ou strain global radial se refere à média longitudinal, circunferencial e radial de todos os segmentos avaliados nestes três domínios.

O Strain por Speckle Tracking é uma técnica relativamente nova que se configura bastante independente da variação angular e, diferentemente do strain por Doppler Tissular, a análise dos seus vetores de velocidade permite a quantificação da deformidade em todas as direções do plano de imagem. ^(28,29) É um método semiautomático que requer definição manual do miocárdio analisado. Quando existe má qualidade das imagens, sobretudo nas patologias que são dependes de variações de segmento a segmento, e quando suas visualizações de um ou mais segmentos consecutivos estão prejudicadas, o método perde acurácia. ⁽²⁹⁾ A imagem de qualidade é uma condição indispensável para tornar o método confiável, e esta é uma das limitações mais comuns na prática diária, onde um percentual significativo de pacientes é afetado pela obesidade, por patologias pulmonares ou por outras condições que limitam a aquisição de imagens de qualidade.

Alterações na deformidade miocárdica se dão de forma mais precoce e muitas vezes indetectável às avaliações qualitativa e quantitativas tradicionais. ⁽²⁸⁻³⁰⁾ Dentre os três subtipos de *strain*, o SLG tem-se mostrado o parâmetro mais sensível de deformidade e de detecção precoce de disfunção miocárdica. ⁽²⁷⁾

Sua leitura é realizada *off line* sobre imagens 2D previamente adquiridas com frame rates entre 40 – 80 frames/sec. ⁽³¹⁾ Em geral utiliza-se softwares de leitura de diferentes marcas, cada um capacitado especificamente para as imagens adquiridas em máquinas de suas respectivas empresas. Este fato é considerado como um grande limitador do método, pois dificulta a reprodução e o compartilhamento dos

dados adquiridos entre diferentes marcas. Contudo existem estações de trabalho *off line*, mais completas, como a TomTec Imaging Systems, que têm a capacidade, através de um único software, de realizar as medidas do strain adquiridas em diferentes marcas de aparelhos ecocardiográficos. Esta é uma vantagem que além de facilitar a capacitação dos recursos humanos para o trabalho, também uniformiza a interpretação desses dados.

Embora a maior parte dos estudos estejam baseados da avaliação de dados de strain do ventrículo esquerdo, é crescente o interesse por respostas sobre a cavidade ventricular direita. Em um passado recente a grande maioria das empresas criadoras dos softwares de strain haviam desenvolvido ferramentas apenas para a avaliação do ventrículo esquerdo. Um dos principais motivos para isso deve-se ao fato do complexo formato do ventrículo direito e das poucas possibilidades de, através do estudo ecocardiográfico, poder-se avaliar a estrutura desta cavidade. Contudo existem empresas, e nesse contexto cabe destacar a TomTec Imaging Systems, que desenvolveram um software específico para a cavidade ventricular direita, permitindo, assim, que todas as peculiaridades dessa cavidade possam ser destacadas. Diferentemente do VE, cuja análise do strain global longitudinal é feita em três distintas janelas ecocardiográficas, (apical 4 câmaras, apical 2 câmaras e apical 3 câmaras), o strain global longitudinal do VD é obtido apenas pela janela apical 4 câmaras, e a mesma ainda é utilizada para avaliação segmentar das paredes livre do VD e septo interventricular. Embora ainda não esteja comprovado, existe uma forte tendência a considerar o strain da parede livre do VD como um método mais confiável de avaliação da função ventricular direita quando comparado ao strain global do VD. Isso porque este último inclui informações do septo, as quais podem sofrer influências da cavidade ventricular esquerda.

Tem-se atribuído grande importância prognóstica ao strain de VD em paciente com insuficiência cardíaca e fração de ejeção reduzida, associando-se seus baixos valores a desfechos como morte, necessidade de transplante cardíaco e internações recorrentes por patologias cardiovasculares.⁽³⁰⁾ Também foi evidenciado em estudos que o strain de VD está reduzido em pacientes com insuficiência cardíaca com fração de ejeção preservada, comparados aos controles que apresentam apenas disfunção diastólica assintomática.⁽³⁰⁾ Assim como ocorre com o VE, o strain do VD também se altera de forma mais precoce comparado aos parâmetros tradicionais como o TAPSE, a velocidade da onda S' e o FAC. Evidenciando achados ainda subclínicos de alterações da função ventricular direita.

Estudos têm sido feitos para avaliar a ampla utilização do strain por speckle tracking e sua potencial fonte de informação em diversas patologias sistêmicas cujo

acometimento também se apresenta sobre o aparato cardiovascular. Além disso tem sido comprovado seu forte valor preditor sobre diversos desfechos como morte, reinfarto e hospitalizações por insuficiência cardíaca em pacientes com infarto agudo, tanto em relação ao strain do VE como do VD, confirmando seu importante papel neste contexto de avaliação cardíaca. ^(30,31) Seu papel no transplante cardíaco, também é sinalizado com possibilidades promissoras para o diagnóstico de rejeição do enxerto, um aspecto vital para essa população de pacientes. Para tanto, faz –se necessário a busca por mais dados concretos através de novos estudos. ^(32,33)

Hipóteses

A disfunção sistólica subclínica do ventrículo esquerdo e direito, detectada por *strain* miocárdico pelo método de *speckle tracking*, está associado a rejeição do enxerto em pacientes pós-TC.

Objetivos

1. Comparar função miocárdica do ventrículo esquerdo, através do SGL, em exames ecocardiográficos associados a biópsias em que houve rejeição e exames ecocardiográficos em que não houve rejeição.
2. Comparar função miocárdica do ventrículo direito, através do strain miocárdico de parede livre do ventrículo direito e/ou global do ventrículo direito, em exames ecocardiográficos associados a biópsias em que houve rejeição e exames ecocardiográficos em que não houve rejeição.

REFERÊNCIAS

1. Kittleson M.M., Kobashigawa J.A.
Cardiac Transplantation: Current Outcomes and Contemporary Controversies. 2017 Journal of American College of Cardiology: Heart Failure 5(12):857-868.
2. Badano L.P., Miglioranza M.H., Edvardsen T., Colafranceschi A.S., Muraru D., Bacal F., et al.
European Association of Cardiovascular Imaging / Cardiovascular Imaging Department of the Brazilian Society of Cardiology recommendations for the use of cardiac imaging to assess and follow patients after heart transplantation. 2015 European Heart Journal – Cardiovascular Imaging 16: 919–948.
3. Taylor D.O., Edwards L.B., Boucek M.M., Trulock E.P., Aurora P., Christie J. et al.
Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: twenty-fourth official adult heart transplant report–2007. J Heart Lung Transplant 26:769–81.
4. Registro Brasileiro de Transplantes - RBT Ano XXI Num. 3 jan/Set de 2017.
5. Clemmensen T.S., Munk K., Tram E.M., Ilkjaer L.B., Severinsen I.K., Eiskjaer H.
Twenty years' experience at the Heart Transplant Center, Aarhus University Hospital, Skejby, Denmark. 2013 Scand Cardiovasc J 47:322-8.
6. Stehlik J., Edwards L.B., Kucheryavaya A.Y., et al.
The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: 29th Official Adult Heart Transplant Report—2012. J Heart Lung Transplant 31: 1052-64.
7. Bacal F.; Souza Neto J.D.; Fiorelli A.I; Mejia J.; Marcondes-Braga F.G.; Mangini S.; et al.
II Diretriz Brasileira de Transplante Cardíaco. 2010 Arquivos Brasileiros de Cardiologia 94:1 supl.1
8. Santos S.M., Palomero V.M., Lunar I.G., Mitroi C.D., Artaza J.G., Rivero B., et al.
Usefulness of Two-Dimensional Strain Parameters to Diagnose Acute

Rejection after Heart Transplantation. 2015 Journal of the American Society of Echocardiography. 28(10):1149-56.

9. Wu G.W., Kobashigawa J.A., Fishbein M.C., Patel J.K., Kittleson M.M., Reed E.F., et al.

Asymptomatic antibody-mediated rejection after heart transplantation predicts poor outcomes. 2009 J Heart Lung Transplant 28:417-22.

10. Raichlin E., Edwards B.S., Kremers W.K., Clavell A.L., Rodeheffer R.J., Frantz R.P., et al.

Acute cellular rejection and the subsequent development of allograft vasculopathy after cardiac transplantation. 2009 J Heart Lung Transplant 28:320-7.

11. Patel JK, Kittleson M, Kobashigawa JA.

Cardiac allograft rejection. 2011 Surgeon 9:160-7

12. Stewart S., Winters G.L., Fishbein M.C., Tazelaar H.D., Kobashigawa J., Abrams J., et al.

Revision of the 1990 working formulation for the standardization of nomenclature in the diagnosis of heart rejection. The Journal of Heart and Lung Transplant. 2005; 24:1710-20.

13. Miller L.W., Labovitz A.J., McBride L.A., Pennington D.G., Kanter K.
Echocardiography - guided endomyocardial biopsy. A 5-year experience. 1988 Circulation 1988;78.

14. Bodez D., Hocini H., Tchitchek N, Tisserand P., Benhaïem N., Barau C. et al.

Myocardial Gene Expression Profiling to Predict and Identify Cardiac Allograft Acute Cellular Rejection: The GET-Study. 2016 PLOS ONE 11 (29)

15. Amende I., Simon R., Seegers A., Daniel W., Heublein B., Hetzer R., et al.

Diastolic dysfunction during acute cardiac allograft rejection. 1990 Circulation, 81: (III) 66-70.

16. Palomero V.M., Santos S.M., Artaza J.G., Gonzalez E.R., Córdoba M.A.R., Sanchez D.J., et al.

Two-Dimensional Speckle Tracking Echocardiography in Heart Transplant Patients: Two-Year follow up of right and left Ventricular Function.

2016 Journal of the American Society of Echocardiography. 33:703-713.

17. Valantine H.A., Yeoh T.K., Gibbons R., McCarthy P., Stinson E.B., Billingham ME, Popp RL.

Sensitivity and specificity of diastolic indexes for rejection surveillance: temporal correlation with endomyocardial biopsy. 1991 *J Heart Lung Transplant.* 1991 10(5): 757-65.

18. Sera F., Kato T.S., Farr M.J., Russo C., Jin Z., Marboe C.C., et al.
Left Ventricular Longitudinal Strain by Speckle-Tracking Echocardiography is Associated With Treatment-Requiring Cardiac Allograft Rejection. 2014 *Journal of Cardiac Failure* 20: 5.

19. Dandel M., Hummel M., Muller J. Wellnhofer E. , Meyer R. , Solowjowa N., et al.

Reliability of tissue Doppler wall motion after heart transplantation for replacement of invasive routine screenings by optimal timed cardiac biopsies and catheterization. 2001 *Circulation.* 18:183-191.

20. Stengel S.M., Alleman Y., Zimmerli E., Lipp E., Kucher N., Mohacsi P., et al.

Doppler tissue imaging for assessing left ventricular diastolic dysfunction in heart transplant rejection. 2001 *Heart* ,86 : 432-437.

21. Sun J.P., Abdalla I.A., Asher C.R., Greenberg N.L., Popović Z.B., Taylor D.O, et al.

Non-invasive evaluation of orthotopic heart transplant rejection by echocardiography. 2005 *J Heart Lung Transplant.*24(2):160-5.

22. Eroglu E., D'Hooge J., Sutherland G.R., Marciniak A., Thijs D., Droogne W et al.

Quantitative dobutamine stress echocardiography for the early detection of cardiac allograft vasculopathy in heart transplant recipients. 2008 *Heart* 94:e3.

23. Kato T.S., Oda N., Hashimura K., Hashimoto S., Nakatani T., Ueda H.I. et al.

Strain rate imaging would predict sub-clinical acute rejection in heart transplant recipients. 2010 *Eur J Cardiothorac Surg* 37:1104–10.

24. Marciniak A., Eroglu E., Marciniak M., Sirbu C., Herbots L., Droogne W. et al.

The potential clinical role of ultrasonic strain and strain rate imaging in diagnosing acute rejection after heart transplantation. 2007 Eur J Echocardiogr 8:213–21.

25. Amil M.S.; Scott D. S.,

Myocardial Deformation Imaging Current Status and Future Directions. 2012 Circulation 125:e244-8

26. Sato T., Kato T.S., Kamamura K., Hashimoto S., Shishido T., Mano A., et al.

Utility of left ventricular systolic torsion derived from 2- dimensional speckle-tracking echocardiography in monitoring acute cellular rejection in heart transplant recipients. 2011 The Journal of Heart and Lung Transplantation, 30 (5) : 536-43.

27. Almeida A.L.C., Gjesdal O., Mewton N., Choi E.Y.,Tura G.T., Yoneyama K., et al.

Speckle Tracking Echocardiografy – Clinical Applications. 2013 Revista brasileira de ecocardiografia e imagem cardiovascular. 26 (1) : 38-49.

28. Dandel M., Lehmkuhl H., Knosalla C., Suramelashvili N. and Hetzer R.

Strain and Strain Rate Imaging by Echocardiography – Basic Concepts and Clinical Applicability. 2009 Current Cardiology Reviews 5 (2)

29. Mor-Avi V., Lang R.M., Badano, L.P., Belohlavek M., Cardim N.M, Derumeaux G.,et al.

Current and Evolving Echocardiographic Techniques for the Quantitative Evaluation of Cardiac Mechanics: ASE/EAE Consensus Statement on Methodology and Indications Endorsed by the Japanese Society of Echocardiography. 2011 J Am Soc Echocardiogr 24 (3)

30. Longobardo L.,Suma V.,Jain R.,Carerj S., Zito C., Zwicke D.L., el al.

Role of Two-Dimensional Speckle-Tracking Echocardiography Strain in the Assessment of Right Ventricular Systolic Function and Comparison with Conventional Parameters. 2017 J Am Soc Echocardiogr.

31. Favot M., Courage C., Ehrman R., Khait L., Levy P.
Strain Echocardiography in Acute Cardiovascular Diseases. 2016
Western J Emerge Medicin 17 (1).
32. Eleid M.F., Caracciolo G., Cho E.J., Scott R.L., Steidley D.E., Wilansky S.
et al.
Natural history of left ventricular mechanics in transplanted hearts:
relationships with clinical variables and genetic expression profiles of allograft
rejection. 2010 JACC Cardiovasc Imaging 3:989–1000.
33. Sarvari S.I., Gjesdal O., Gude E., Arora S., Andreassen A.K., Gullestad L.
et al.
Early postoperative left ventricular function by echocardiographic strain
is a predictor of 1-year mortality in heart transplant recipients. 2012 J Am
Soc Echocardiogr 25: 1007–14. 127.

ABBREVIATIONS

HTx	Heart Transplant
GLS	Global Longitudinal Strain
LV	Left Ventricle
RV	Right Ventricle
LVEF	Left Ventricular Ejection Fraction
2D	Two Dimension
STE	Speckle-tracking
TAPSE	Tricuspid Annular Plane Systolic Excursion
ASE	American Society of Echocardiography
ACR	Acute Cell Rejection
FAC	Fractional Area Change
TDI	Tissue Doppler
ISHLT	International Society of Heart and Lung Transplantation
IVS	Interventricular Septum
PW	Posterior Wall

Impaired Right Ventricular Function in Heart Transplant Rejection

Authors

Luciana J. B. M. Carrion⁽¹⁾, Alice G. Sperotto⁽²⁾, Raffaella Nazario^(1,2), Livia A Goldraich⁽²⁾, Nadine Clausell^(1,2), Luis E. P. Rohde^(1,2), Angela B. S. Santos^(1,2).

(1) Postgraduate Studies Program in Cardiology, School of Medicine,
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

(2) Cardiology Division, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brazil

Corresponding author:

Angela B. S. Santos
Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Cardiology Division
Rua Ramiro Barcelos, 2350, Sala 2061 – Porto Alegre, RS 90035-903 – Brazil
Fax: +55 51 33111230
abssantos@hcpa.edu.br

Highlights:

- Moderate rejection was associated with worse RV function;
- LV function was similar between groups with no- or mild-rejection and moderate rejection;
- Greater LV hypertrophy and worse LV diastolic function were seen in moderate rejection.

Abstract

Background: The practice of screening for complications has provided high survival rates among heart transplantation (HTx) recipients. The aim of the study was to assess whether changes in left ventricular (LV) and right ventricular (RV) global longitudinal strain (GLS), are associated with cellular rejection.

Methods: Patients who underwent HTx in a single center between 2015-2016 (n = 19) were included in this retrospective analysis. A total of 170 biopsies and corresponding echocardiograms were evaluated. Comparisons were made among biopsy/echocardiogram pairs with no or mild (1R) evidence rejection (n=130 and n=25, respectively), and with moderate (2R) rejection episodes (n=15).

Results: Most patients in the sample were women (58%), with a mean age of 48 (± 12.4) years. Compared with echocardiograms from patients with no biopsy evidence or 1R rejection, those of patients with 2R biopsies showed greater LV posterior wall thickness, higher E/E' ratio and E/A ratio compared to the other groups (all $p < 0.05$). LV contractility, whether measured by ejection fraction or by GLS, did not differ between groups. On the other hand, RV contractility was reduced in the 2R group compared to the other groups when evaluated by TAPSE, S wave and RV fractional area change (all $p < 0.05$). Also, RV GLS ($-23.0 \pm 4.4\%$ in group 0R/1R vs. $-20.6 \pm 4.9\%$ in group 2R, $p = 0.038$) was reduced in group 2R compared to the others.

Conclusion: In HTx recipients, moderate acute cellular rejection is associated with RV contractile dysfunction as evaluated by RV strain, but also by conventional echocardiographic parameters. Several echocardiographic parameters can be used to screen for cellular rejection.

Keywords: heart transplantation, acute rejection, strain, speckle tracking echocardiography, endomyocardial biopsy

Introduction

Over the last five decades, heart transplantation (HTx) has become an established therapeutic option for patients with end-stage heart failure.^(1,2) Improvement in surgical techniques, patient selection, immunosuppressive drugs, and post-HTx protocols has contributed to the success of this therapy and increased patient survival.⁽²⁻⁵⁾

Post-HTx follow-up is focused on active screening for complications. Periodic endomyocardial biopsies can diagnose most cases of acute cellular rejection, in which patients are mostly asymptomatic and left ventricular ejection fraction (LVEF) remains normal.^(2,6) However, endomyocardial biopsy is an invasive, costly procedure with potentially serious complications and susceptible to operator error.^(2, 7-9) The search for other methods that can screen for rejection is thus becoming increasingly important. A few studies on novel echocardiographic techniques, such as two-dimensional speckle-tracking echocardiography (2D-STE), have shown that reduction of left ventricular (LV) global longitudinal strain (GLS) is associated with graft rejection, and can be used to detect early subclinical myocardial dysfunction. However, there is no consensus in the literature as to these findings.^(2-6, 10) Furthermore, little is known about right ventricular (RV) GLS and its potential role in rejection, highlighting the research gaps in this area.⁽¹⁰⁻¹²⁾

Seeking to expand current knowledge about early myocardial dysfunction and graft rejection, the present study was designed to evaluate whether changes in myocardial strain by speckle tracking are associated with acute cellular rejection. Specifically, we aimed to evaluate whether reduced LV GLS and RV GLS are associated with cardiac graft rejection.

Methods

Study Population

All adult patients (age >18 years) who underwent HTx at Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil, between 2015 and 2016 were included in this retrospective analysis. During this period, patients received routine monitoring per hospital protocol and their data were analyzed during the first 18 months of follow-up after HTx. Of the 20 patients who received transplants (all via the bicaval technique), 19 were included in this analysis (one patient that died before the first endomyocardial biopsy due to hyperacute graft rejection was excluded). The standard institutional follow-up protocol, which served as a guide for this study, consisted of weekly biopsies in the first month post-HTx; biopsies every other week during the second and third months post-HTx; monthly biopsies from the fourth to the sixth month post-HTx; and subsequent biopsies every three to four months until 18 months of follow-up had been completed. Each biopsy was followed by echocardiography, seeking to detect post-biopsy complications.

Of the 257 biopsies performed up to July 2017, 170 had corresponding echocardiograms with images suitable for strain analysis by the speckle-tracking method, and were thus included in this study (**Figure 1**). Comparisons were made among patients with no biopsy evidence or mild (1R) rejection (n=130 and n=25, respectively), and patients with moderate (2R) biopsies (n=15). This study was conducted in accordance with the standards set out in the Declaration of Helsinki, and its protocol was approved by the institutional Research Ethics Committee.

Echocardiographic Analysis

All echocardiograms were recorded and analyzed offline on a TOMTEC workstation (TomTec Imaging Systems, Unterschleißheim, Germany) by an experienced echocardiographer blinded to clinical data and to the corresponding biopsies. Measurements were obtained according to American Society of Echocardiography (ASE) standards, and included left ventricular diameters, septal and posterior wall thicknesses, diameters of the aorta, left atrium, and right ventricle, transmitral flow, mitral and tricuspid annular relaxation velocities, and tricuspid annular excursion.

Analysis of myocardial deformation (global longitudinal strain) was performed using specific software for the left ventricle (LV) and right ventricle (RV) (2D CPA

TTA2.20.01, TomTec). At end-systole, three landmarks were established at the endocardial edge (two basal and one apical), with automatic detection of speckles along the endocardial edge of the specified cavity (LV or RV). Manual adjustments were made when necessary. In the LV, peak GLS for each 2D apical view (two-, three-, and four-chamber) was automatically obtained from the mean of the 6 traced segments, while the mean peak GLS was obtained by averaging the peak GLS of apical views. In the RV, peak GLS was obtained (**Figure 2**). All patients were in sinus rhythm, and a single cardiac cycle was analyzed. Images in which poor quality precluded speckle analysis in two or more consecutive segments, images covering less than one complete cardiac cycle, or excessively tangential views were excluded. LV and RV end-systolic and end-diastolic volumes were used to derive other measures of myocardial function, such as LV ejection fraction (by the modified Simpson method) and RV fractional area change.

Intraobserver variability for LV GLS and RV GLS was assessed in a sample of 20 randomly selected echocardiograms patients. Coefficient of variation was 3.8% and 6.7% for LV GLS and RV GLS, respectively. Intraclass correlation coefficients were 0.96 for LV-GLS (95%Confidence Interval: 0.91-1.0) and 0.80 for RV GLS (95%Confidence Interval: 0.59-1.0).

Endomyocardial Biopsy

Endomyocardial biopsies were scheduled as required by the standard institutional protocol. All were performed through an internal jugular vein access, at the catheterization laboratory. During the procedure, a sheath was advanced to the interventricular septum through the tricuspid valve, and 3-6 small fragments were retrieved with a cardiac bioptome for histological analysis. Tissue samples were evaluated by a single experienced pathologist who was blinded to the results of echocardiographic studies. Biopsies were examined for acute cellular rejection (ACR), graded on a scale from 0R to 3R, according to the International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT) classification.⁽¹³⁾ All patients with biopsies classified as $\geq 2R$ were treated with a standard regimen for rejection, while those with biopsies classified as 1R were only monitored closely and remained on maintenance immunosuppression therapy, following institutional protocols.

Statistical Analysis

Normally distributed continuous data were expressed as means and standard deviations, while categorical data were shown as absolute and relative frequencies. Echocardiography variables were compared using ANOVA adjusted for HTx patients. All statistical analyses were performed in the SPSS software package. All tests were two-sided, and p-values <0.05 were considered statistically significant.

Results

Most HTx recipients (n = 19) followed in this study were women (n = 11; 58%), with a mean age of 48 years. In general, few had other comorbidities, and the main etiology of heart failure was of non-ischemic origin. Donors were mostly young men, with a mean age of 29 years (**Table 1**).

Of the 257 biopsies performed in this period, 66% (n = 170) had their results correlated with echocardiography. Overall, 49 biopsies showed 1R rejection, 17 showed 2R rejection, and one showed 3R rejection. Of the biopsies ultimately excluded from analysis (87 without corresponding echocardiograms), 24 showed 1R rejection, two showed 2R rejection, and one showed 3R rejection. Thus, among the 170 biopsies analyzed in this study, 15 showed 2R rejection; any rejection ($\geq 1R$) was observed in 89% of the 19 patients at some point during follow-up. Of these patients, 31% exhibited only 1R rejection; 42% exhibited 1R and 2R rejection; and 16% had only 2R rejection. Three patients had only one episode of rejection throughout the follow-up period, while 14 patients experienced more than one episode.

Heart Structure and Function

Compared to exams from patients without rejection or 1R rejection, echocardiograms from corresponding biopsies with 2R rejection episodes revealed greater LV posterior wall thickness, which did not reflect in an increase in LV mass or relative wall thickness. Measures of diastolic function showed an increase in the medial and lateral E/E' ratio even an E/A ratio in exams from patients with 2R rejection (**Table 2**).

LV contractility did not differ between the groups when evaluated by the traditional method (LV ejection fraction) or by LV GLS ($-20.2 \pm 3.3\%$ in the 0R/1R group vs. $-19.5 \pm 3.3\%$ in the 2R group, $p = 0.351$). On the other hand, RV contractility was reduced in the 2R group compared to the other groups when evaluated by TAPSE (13.8 ± 3.4 mm in group 0R/1R vs. 10.9 ± 2.2 mm in group 2R, $p = 0.009$), S wave ($10.0 \pm$

2.1cm/s in group 0R/1R vs. 8.3 ± 1.8 cm/s in group 2R, $p = 0.035$) and RV fractional area change (FAC) (46.2 ± 8.6 cm/s in the 0R/1R group vs. 40.8 ± 10.2 cm/s in the 2R group, $p = 0.016$). Additionally, RV GLS ($-22.97 \pm 4.4\%$ in group 0R/1R vs. $-20.6 \pm 4.9\%$ in group 2R, $p = 0.038$) was reduced in group 2R compared to group 0R/1R (Figure 3).

Discussion

Our main finding was that moderate (2R) cellular rejection was associated with RV contractile dysfunction when assessed by RV GLS, but also by conventional echocardiographic parameters such as TAPSE, S wave and FAC. Conversely, LV contractility was unchanged in this group. In addition, moderate rejection was associated with increased LV posterior wall thickness, increased E/E' ratio and E/A ratio.

In the search for noninvasive methods to aid in the screening of cellular rejection, a few studies evaluated strain and strain rate by tissue Doppler imaging (TDI) in this context. Marciniak *et al.*, studying a group of 31 patients with 106 biopsy/echocardiogram pairs, demonstrated a decrease in strain and strain rate by TDI in basal and apical segments of the RV free wall and in basal and middle segments of the LV lateral wall in the group with $\geq 1B$ rejection, suggesting that these findings could be an additional tool in the detection of acute rejection. The same authors also observed that, when histopathological involvement was mild ($<2B$), these alterations took on a pattern of segmental involvement, with little or no impact on GLS, revealing a low sensitivity of the latter for low-grade rejection.⁽¹⁰⁾ More recently, the advent of evaluation of contractility by speckle-tracking provided a more robust technique for the detection of subclinical contractile dysfunction, overcoming the limitations of TDI-measured strain, especially the dependence on prospective acquisition and the angle of acquisition.^(10,11) At least three studies, published almost concomitantly, showed a rejection-related decrease in LV GLS,⁽¹⁴⁻¹⁶⁾ while another group, as in our study, found no such differences in LV GLS when comparing exams from patients without rejection or mild rejection and with moderate rejection.⁽¹⁷⁾ It bears stressing that, even in the 0R group of our study, LV GLS values exceeded the range reported in the literature as normal after HTx.⁽¹⁸⁾

Evaluation of RV parameters as potential markers of subclinical rejection was relatively less explored in previous studies. Clemmensen *et al.* studied a group of 36 HTx recipients and found that TAPSE was reduced in the group with cellular rejection.⁽¹⁶⁾ Another group, which studied a similar number of patients ($n = 34$), found a reduction in RV free wall strain associated with $\geq 2R$ rejection.⁽¹⁵⁾ These findings were seen as a similar trend in our study, where the decrease in RV function was shown by TAPSE, S wave, FAC, and RV peak GLS in moderate rejection. Eleid *et al.* demonstrated a decline in LV GLS in the early post-HTx period and the association of

non-improvement in GLS throughout the follow-up as an independent predictor of worse prognosis for these patients, regardless of the histopathological results of endomyocardial biopsies.⁽¹⁹⁾ In addition, the early post-HTx period is a time of structural alterations inherent to the postoperative phase; when these abnormalities improve, they usually do so gradually, within the first 6 months after transplant.

Furthermore, in agreement with the findings of our study, LV hypertrophy and changes in diastolic function – especially in LV filling pressure – have been associated with cellular rejection, despite the lower sensitivity of these findings, which may be confused with usual post-HTx alterations.^(15, 18)

Some limitations of this analysis should be noted. As most echocardiographies for which corresponding biopsies were available had been performed to detect complications of endomyocardial biopsy, such as pericardial effusion and tricuspid valve injury, many failed to include a detailed evaluation of cardiac contractility and dynamics. As a consequence, we had to exclude 34% of biopsies. The single-center design of this study is also a limitation, especially because it was performed at a facility that is still expanding its HTx program, which accounts for the relatively small sample size.

Conclusions

In conclusion, we found greater RV contractile dysfunction in post-HTx patients with moderate rejection by 2D-STE assessment of strain, but also by conventional echocardiographic methods. LV contractility remained unchanged, suggesting that even subclinical LV dysfunction may arise later than RV dysfunction. Moreover, patients with biopsy evidence of moderate rejection had greater LV hypertrophy and worse LV diastolic function and filling pressure on echo. The role of these findings in screening for and diagnosing rejection, perhaps even leading to practice-changing updates in endomyocardial biopsy protocols, has yet to be explored.

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

REFERENCES

1. Lund L.H., Khush K. K., Cherikh W.S., Goldfarb S., Kucheryavaya A.Y., Levvey B.J. et al. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirty-fourth Adult Heart Transplantation Report-2017; Focus Theme: Allograft ischemic time. *2017*; 36(10):1037-46
2. Badano L.P, Miglioranza M.H. , Edvardsen T., Colafranceschi A.S., Muraru D. Bacal F. et al. European Association of Cardiovascular Imaging/ Cardiovascular Imaging Department of the Brazilian Society of Cardiology recommendations for the use of cardiac imaging to assess and follow patients after heart transplantation. *European Heart Journal – Cardiovascular Imaging* 2015; 16: 919–948
3. Costanzo M.R., Dipchand A., Starling R., Anderson A., Chan M., Desai S. et al. The International Society of Heart and Lung Transplantation Guidelines for the care of heart transplant recipients. *J Heart Lung Transplant* 2010; 29:914–56
4. Clemmensen T.S., Munk K., Tram E.M., Ilkjaer L.B., Severinsen I.K., Eiskjaer H. Twenty years' experience at the Heart Transplant Center. *Scand Cardiovasc J.* 2013; 47:322-8.
5. Stehlik J., Edwards L.B., Kucheryavaya A.Y., et al. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: 29th Official Adult Heart Transplant Report. *J Heart Lung Transplant* 2012; 31:1052-64.
6. Streeter R.P, Nichols K., Bergmann S.R. Stability of Right and Left Ventricular Ejection Fractions and Volumes after Heart Transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2005; 24 (7): 815-818.
7. Baraldi-Jenkins C, Levin HR, Kasper EK, et al Complications of endomyocardial biopsy in heart transplant patients. *J Heart Lung Transplant* 1993; 12:63–67.
8. Cooper L.T., Baughman K.L., Feldman A.M., Frustaci A., Jessup M., Kuhl U. et al. The role of endomyocardial biopsy in the management of cardiovascular disease: a scientific statement from the American Heart Association, the American College of Cardiology, and the European Society of Cardiology. *Circulation* 2007; 116: 2216–33.
9. Yilmaz A., Kindermann I., Kindermann M., Mahfoud F., Ukena C., Athanasiadis A. et al. Comparative evaluation of left and right ventricular endomyocardial biopsy: differences in complication rate and diagnostic performance. *Circulation* 2010 ; 122: 900–9. 8.
10. Marciniak A., Eroglu E., Marciniak M., Sirbu C., Herbots L., Droogne W. et al. The potential clinical role of ultrasonic strain and strain rate imaging in diagnosing acute rejection after heart transplantation. *Eur J Echocardiogr* 2007; 8:213–21.
11. Kato T.S., Oda N., Hashimura K., Hashimoto S., Nakatani T., Ueda H.I. et al. Strain rate imaging would predict sub-clinical acute rejection in heart transplant recipients. *Eur J Cardiothorac Surg* 2010; 37:1104–10.
12. Sato T., Kato T.S., Kamamura K., Hashimoto S., Shishido T., Mano A. et al. Utility of leftventricular systolic torsion derived from 2-dimensional speckle-tracking echocardiography in

monitoring acute cellular rejection in heart transplant recipients. *J Heart Lung Transplant* 2011; 30: 536–43.

13. Stewart S, Winters GL, Fishbein MC, Tazelaar HD, Kobashigawa J, Abrams J, et al. Revision of the 1990 Working Formulation for the Standardization of Nomenclature in the Diagnosis of Heart Rejection. *J Heart Lung Transplant* 2005;24(11):1710 –20. (JÁ MUDEI)

14. Clemmensen T.S., Løgstrup B.B., Eiskjær H., Poulsen S.H. Changes in Longitudinal Myocardial Deformation during Acute Cardiac Rejection: The Clinical Role of Two-Dimensional Speckle-Tracking Echocardiography. *Journal of the American Society of Echocardiography* 2015; 28(3): 330-339

15. Mingo S.S., Moñivas V.P., Lunar I.G., Mitroi, C.D., Goirigolzarri J.A., Rivero B., et al. Usefulness of Two-Dimensional Strain Parameters to Diagnose Acute Rejection after Heart Transplantation. *Journal of the American Society of Echocardiography* 2015; 28(10): 1149-1156

16. Clemmensen T.S., Løgstrup B.B., Eiskjær H., Poulsen S.H. Serial changes in longitudinal graft function and implications of acute cellular graft rejections during the first year after heart transplantation. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging* 2016; 17(2):184–193

17. Ortiz M.R., Peña M.L., Mesa D., Delgado M., Romo E., Santisteban M., et al. Impact of Asymptomatic Acute Cellular Rejection on Left Ventricle Myocardial Function Evaluated by Means of Two-Dimensional Speckle Tracking Echocardiography in Heart Transplant Recipients. *Echocardiography* 2015; 32:229–237

18. Ingvarsson A., Werther Evaldsson A., Waktare J., Nilsson J., Smith G.J., Stagmo M. et al. Normal Reference Ranges for Transthoracic Echocardiography Following Heart Transplantation. *Journal of the American Society of Echocardiography* 2018; 31(3): 349-360

19. Eleid M.F., Caracciolo G., Cho E.J., Scott R.L., Steidley D.E., Wilansky S. et al. Natural history of left ventricular mechanics in transplanted hearts: relationships with clinical variables and genetic expression profiles of allograft rejection. *JACC Cardiovasc Imaging* 2010; 3:989–1000.

Tables

Table 1: Baseline characteristics of the study population

Variable(n = 19)	Value
HTx recipients	
Men, n (%)	8 (42%)
Age (years)	47.7 ± 12.4
Comorbidities	
Diabetes, n (%)	5 (25%)
Hypertension, n (%)	4 (20%)
Obesity, n (%)	4 (20%)
Stroke, n (%)	5 (25%)
Dyslipidemia, n (%)	1 (5%)
Peripheral vascular disease, n (%)	3 (15%)
Current smoker, n (%)	7 (35%)
Time to HTx (days)	80 ± 105
Ischemic time before HTx (min)	55
Heart failure etiology	
Ischemic heart disease, n (%)	2 (10%)
Non-ischemic cardiomyopathy, n (%)	17 (89%)
Donor	
Men, n (%)	13 (65%)
Age (years)	29 ± 7.6
Body surface area (m²)	1.78 ± 1.4
Current smoker, n (%)	0 (0%)

Data shown as mean ± SD or n (%).

Number of patients = 19.

Table 2: Cardiovascular structure and function

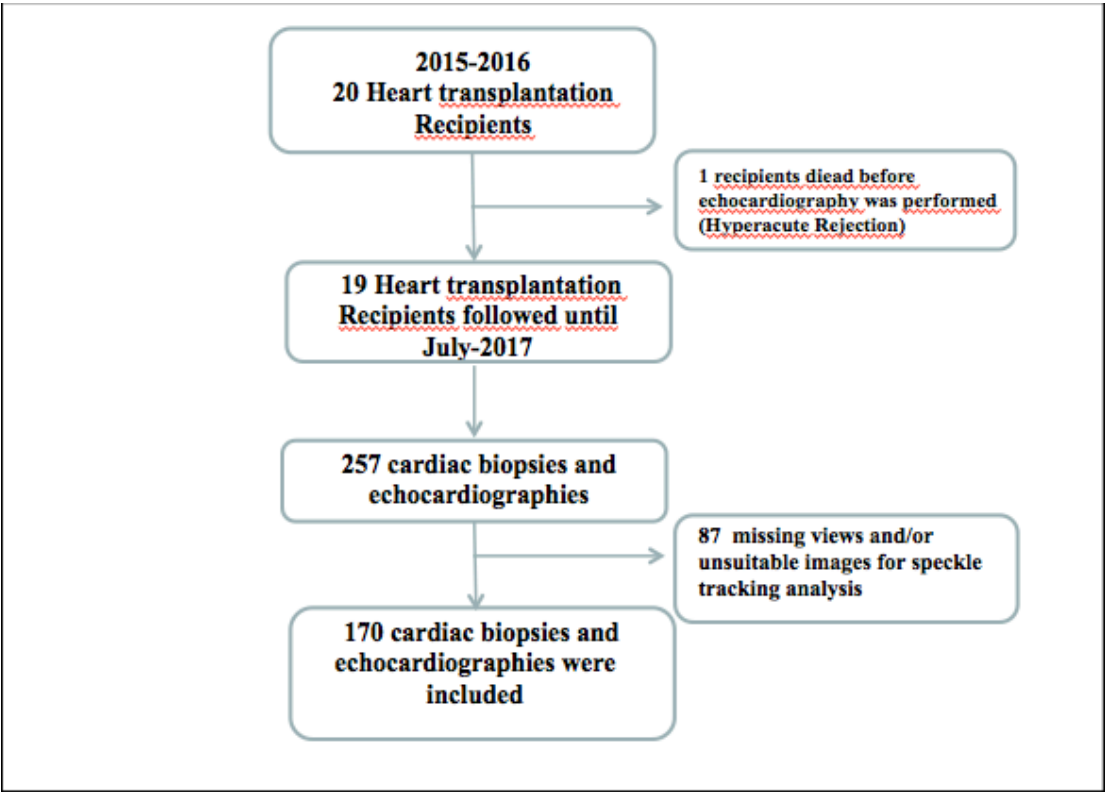
Variables	0R/1R N=155	2R N=15	P-value
Aortic diameter (mm)	33.0 ± 4.1	32.4 ± 5.7	0.575
Left atrial diameter (mm)	40.8 ± 5.6	42.5 ± 7.7	0.372
IVS thickness (mm)	11.2 ± 1.4	11.5 ± 1.6	0.439
PW thickness (mm)	10.4 ± 1.4	11.3 ± 1.5	0.013
Relative wall thickness	0.49 ± 0.08	0.53 ± 0.08	0.115
LV end-diastolic diameter (mm)	42.4 ± 4.1	43.0 ± 2.7	0.550
LV end-systolic diameter (mm)	28.2 ± 4.4	28.3 ± 3.7	0.936
LV end-diastolic volume (mL)	88.2 ± 24.3	84.6 ± 18.0	0.593
LV end-systolic volume (mL)	35.7 ± 12.9	37.2 ± 12.9	0.618
RV basal diameter (mm)	40.2 ± 4.4	40.9 ± 2.9	0.550
RV end-diastolic area (cm²)	20.2 ± 4.3	21.4 ± 3.8	0.302
RV end-systolic area (cm²)	10.9 ± 3.1	12.8 ± 3.8	0.024
LV mass (g)	157.2 ± 33.9	173.9 ± 33.7	0.057
LVEF, Teichholz (%)	62.3 ± 7.9	63.2 ± 8.4	0.714
LVEF, Simpson (%)	59.6 ± 7.9	56.5 ± 8.6	0.122
TAPSE (mm)	13.8 ± 3.4	10.9 ± 2.2	0.009
RV fractional area change (cm/s)	46.2 ± 8.6	40.8 ± 10.2	0.016
E/A ratio	1.56 ± 0.55	2.07 ± 0.82	0.017
Deceleration time (ms)	183.0 ± 41.8	158.2 ± 20.8	0.157
E' medial (cm/s)	7 ± 2	7 ± 2	0.653
E' lateral (cm/s)	12 ± 3	9 ± 2	0.100
E/E' medial	11.9 ± 4.4	20.6 ± 4.4	0.001
E/E' lateral	7.6 ± 3.5	13.3 ± 5.2	0.006
S wave (cm/s)	10.0 ± 2.1	8.3 ± 1.8	0.035
LV global longitudinal strain (%)	-20.2 ± 3.3	-19.5 ± 3.3	0.351

Data are shown as mean ± SD.

P-value calculated by ANOVA adjusted for HTx patients .

IVS, interventricular septal wall; PW, posterior wall; LVEF, left ventricular ejection fraction; RV, right ventricular; TAPSE, tricuspid annular plane systolic excursion.

Figure 1: Feasibility of strain evaluation by speckle-tracking analysis



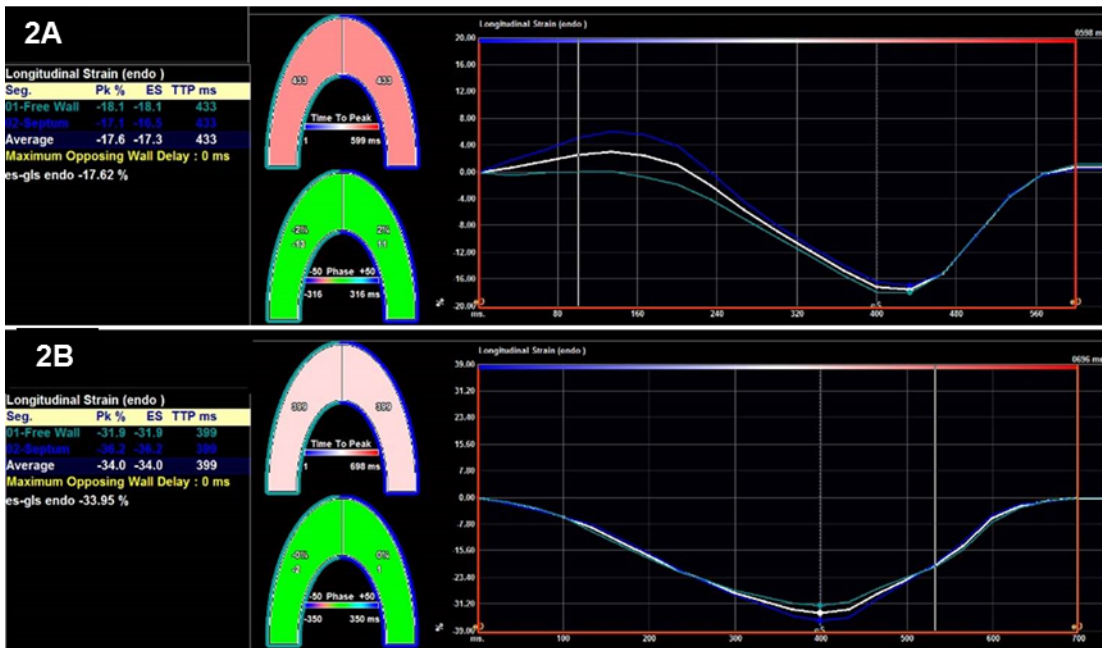


Figure 2 Two-dimensional speckle tracking imaging for right ventricular analysis in a heart transplant recipient at the time of biopsy-proven 2R rejection (Panel 2A) and the same patient at the time of biopsy without rejection (Panel 2B). Curves represent longitudinal strain curves, which were used to measure right ventricular contractile function.

Figure 3 Distribution of rejection on cardiac biopsies over RV GLS strain results after heart transplantation.