

# Perfil de liberación de biomarcadores miocárdicos en pacientes con enfermedades hemato-oncológicas que reciben trasplante de progenitores hematopoyéticos

Dres. Soledad Murguía<sup>1,2</sup>, Federico Pagnussat<sup>3</sup>, Andrea Simeone<sup>2</sup>, Mariela Lujambio<sup>2</sup>, Mónica Delorenzi<sup>2</sup>, Federico Acquistapace<sup>1,2</sup>, Lucía Florio<sup>1</sup>, Federico Ferrando Castagnetto<sup>1</sup>

## Resumen

**Introducción:** las enfermedades cardiovasculares (CV) son la primera causa de muerte en quienes sobreviven al cáncer. Aunque el trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) se asocia con grados variables de cardiotoxicidad, estas complicaciones han sido escasamente caracterizadas.

**Objetivo:** analizar el perfil de liberación de biomarcadores miocárdicos como potenciales indicadores subclínicos de cardiotoxicidad en pacientes sometidos a TPH.

**Material y método:** estudio descriptivo, analítico, prospectivo transversal y unicéntrico, reclutando pacientes derivados a la policlínica de cardio-oncología, con indicación de TPH en octubre de 2018-marzo de 2020. Se realizaron controles clínicos, ECG, bioquímicos (TnI y BNP) e imagenológicos según algoritmo de seguimiento. Las variables discretas se presentan como n (%) y las continuas mediante media  $\pm$  DE o mediana [RIQ]. Los valores evolutivos de biomarcadores séricos se compararon mediante test de Friedman. La FEVI basal se comparó con la de los 3 meses del TPH mediante test de Wilcoxon.

**Resultados:** se incluyeron 19 pacientes, 37% mujeres, de  $43,8 \pm 15,7$  años. No se detectaron modificaciones significativas de la FEVI en los controles evolutivos. En ningún caso se observó aumento de la TnI. Los valores de BNP aumentaron en 6 pacientes (32%), con diferencias significativas al mes postrasplante (basal: 13,6 [6,1-30,9] vs. primer mes: 38,9 [16,3-120,0] pg/ml,  $p = 0,036$ ); con una mayor elevación en aquellos pacientes que recibieron antimetabolitos vs. otros fármacos (basal: 13,6 [6,1-30,9] vs. al primer mes: 67,0 [21,3-174,9] pg/ml,  $p = 0,039$ ). El aumento de BNP no se asoció con el riesgo CV.

**Conclusión:** la liberación de BNP posterior al TPH es un fenómeno frecuente (32% de los pacientes), alcanza un máximo al mes, independientemente de la FEVI. El subgrupo de pacientes que recibió antimetabolitos presentó una mayor liberación precoz de BNP.

**Palabras clave:** CARDIOTOXICIDAD  
TRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS  
BIOMARCADORES

1. Departamento de Cardiología, Centro Cardiovascular Universitario, Hospital de Clínicas. Facultad de Medicina, Universidad de la República.

2. Policlínica de Cardio-oncología, Servicio de Cardiología del Hospital Maciel. ASSE, Ministerio de Salud Pública.

3. Servicio de Hematología del Hospital Maciel. ASSE, Ministerio de Salud Pública.

Correspondencia: Dra. Soledad Murguía. Correo electrónico: solmurguia@gmail.com.

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

El presente estudio no tiene fuentes de financiamiento.

Recibido Ago 20, 2022; aceptado Oct 10, 2022

## Profile of myocardial biomarkers release in patients with hemato-oncological diseases who receive hematopoietic stem cell transplantation

### Summary

**Introduction:** cardiovascular (CV) diseases are the leading cause of death in those who survive cancer. Although hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) is associated with diverse grades of cardiotoxicity, these complications have been poorly characterized.

**Objective:** to analyze the release profile of myocardial biomarkers as a potential subclinical marker of cardiotoxicity in patients undergoing HSCT.

**Material and method:** descriptive, analytical, prospective, cross-sectional, single-center study, recruiting patients referred to the cardio-oncology polyclinic, with indication for HSCT in October 2018-March 2020. Clinical, ECG, biochemical and imaging controls were performed according to the algorithm of follow-up. The evolutionary values of serum biomarkers were compared using the Friedman test. Baseline LVEF was compared with that of 3 months after HSCT using the Wilcoxon test.

**Results:** 19 patients were included, 37% women, aged  $43.8 \pm 15.7$  years. No changes in LVEF were detected. In no case was an increase in TnI observed. BNP values increased in 6 patients (32% pg/ml), with significant differences one month after transplantation (baseline: 13.6 pg/ml [6.1-30.9] vs. first month: 38.9 pg/ml [16.3-120.0],  $p = 0.036$ ), detecting a greater elevation in those patients who received antimetabolites vs. other drugs (baseline: 13.6 [6.1-30.9] vs. at the first month: 67.0 pg/ml [21.3-174.0],  $p = 0.039$ ). The increase in BNP was not associated with CV risk.

**Conclusion:** BNP release after HSCT is frequent (32% of our patients), reaching a maximum at one month, regardless of LVEF. The subgroup of patients who received antimetabolites had a greater early release of BNP.

**Key words:** CARDIOTOXICITY  
HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION  
BIOMARKERS

## Perfil de liberação de biomarcadores miocárdicos em pacientes com doenças hemato-oncológicas que recebem transplante de células-tronco hematopoéticas

### Resumo

**Introdução:** as doenças cardiovasculares (CV) são a principal causa de morte em pessoas que sobrevivem ao câncer. Embora o transplante de células-tronco hematopoéticas (TCTH) esteja associado a diversos graus de cardiotoxicidade, essas complicações têm sido mal caracterizadas.

**Objetivo:** analisar o perfil de liberação de biomarcadores miocárdicos como potenciais marcadores subclínicos de cardiotoxicidade em pacientes submetidos ao TCTH.

**Material e método:** estudo descritivo, analítico, prospectivo, transversal, unicêntrico, com recrutamento de pacientes encaminhados à policlínica de cardio-oncologia, com indicação de TCTH de outubro de 2018 a março de 2020. Foram realizados controles clínicos, eletrocardiográficos, bioquímicos e de imagem de acordo com o algoritmo de acompanhamento. Os valores evolutivos dos biomarcadores séricos foram comparados pelo teste de Friedman. A FEVE basal foi comparada com a de 3 meses após o TCTH usando o teste de Wilcoxon.

**Resultados:** foram incluídos 19 pacientes, 37% mulheres, com idade de  $43,8 \pm 15,7$  anos. Nenhuma mudança na LVEF foi detectada. Em nenhum caso foi observado um aumento de TnI. Os valores de BNP aumentaram um mês após o transplante (linha de base: 13,6 pg/ml [6,1-30,9] vs. primeiro mês: 38,9 pg/ml [16,3-120,0],  $p = 0,036$ ), se detectou uma maior elevação nos pacientes que receberam antimetabólitos vs. outros medicamentos (linha de base: 13,6 [6,1-30,9] vs. no primeiro mês: 67,0 [21,3-174,0],  $p = 0,039$ ). O aumento do BNP não foi associado ao risco CV.

**Conclusão:** a liberação do BNP após o TCTH é frequente (32% de nossos pacientes), podendo chegar a no máximo um mês, independente da FEVE. O subgrupo de pacientes que recebeu antimetabólitos apresentou maior liberação precoce de BNP.

**Palavras-chave:** CARDIOTOXICIDADE  
TRASPLANTE DE CÉLULAS-TRONCO HEMATOPOÉTICAS  
BIOMARCADORES

### ¿Qué aporta este estudio al conocimiento actual?

- Es el primer estudio de nuestro centro que analiza el perfil de cardiotoxicidad subclínica en pacientes sometidos a TPH.
- Los hallazgos bioquímicos son comparables a los reportados a nivel nacional e internacional.
- Podrían existir diferencias en la cardiotoxicidad subclínica asociada a diferentes regímenes quimioterápicos curativos o de acondicionamiento.

### Introducción

Los avances en la detección precoz y las modalidades de tratamiento específico han prolongado la supervivencia de los pacientes hemato-oncológicos, aunque a expensas de un incremento en las complicaciones cardiovasculares (CV). En efecto, la enfermedad CV es la primera causa de muerte entre las personas que sobreviven al cáncer<sup>(1-3)</sup>, de modo que los que reciben tratamiento quimioterápico (QMT) tienen 5 veces más riesgo de desarrollar enfermedad CV.

La cardiotoxicidad se define como el desarrollo de enfermedad CV posterior a las terapias oncológicas<sup>(4)</sup>. Se produce por efecto directo del tratamiento oncológico o como consecuencia de un desarrollo acelerado de la enfermedad CV. Su espectro clínico, estructural y fisiológico es muy amplio e incluye el desarrollo de disfunción biventricular con o sin insuficiencia cardíaca (IC) clínica, enfermedad tromboembólica, patología pericárdica, isquemia miocárdica, hipertensión arterial (HTA), arritmias y valvulopatías, entre otros<sup>(5,6)</sup>. Aunque no existe una definición universal debidamente consensuada, se considera que existe cardiotoxicidad demostrada cuando ocurre un descenso relativo de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) > 10% con respecto al valor basal y alcanzando un valor por debajo del límite inferior de la normalidad (53%)<sup>(7)</sup>.

Es indudable que se requiere avanzar hacia un cambio en el paradigma diagnóstico de la cardiotoxicidad, pasando de una definición clínico-funcional a una detección de las alteraciones subclínicas tempranas, en un intento por prevenir y detectar de manera precoz el proceso de daño cardíaco y actuar antes de establecida la disfunción sistólica<sup>(8-10)</sup>. En esta perspectiva, actualmente se aplican algoritmos de detección y seguimiento que utilizan controles clínicos, dosificación de biomarcadores (troponina y péptido natriurético) y técnicas de imagen, en particular el ecocardiograma Doppler<sup>(9,11)</sup>. Varios parámetros ultrasonográficos se utilizan para la detec-

ción de cardiotoxicidad, la FEVI es el más utilizado. La evaluación de la deformación o strain longitudinal global (SLG) busca anomalías tempranas en la funcionalidad miocárdica<sup>(13,14)</sup>. Así, las alteraciones del SLG ajustadas según edad, sexo y condiciones de carga predicen la caída de la FEVI posterior a la QMT<sup>(15-17)</sup>. Además, la disponibilidad del SLG puede tener un valor especial en los sujetos con FEVI limítrofe, en conjunto con la evaluación clínica y bioquímica<sup>(18,19)</sup>. Las troponinas son biomarcadores capaces de detectar cardiotoxicidad previa a la disfunción sistólica, independientemente del mecanismo<sup>(19)</sup>. Diferentes estudios evidencian que el inicio de tratamiento farmacológico cardioprotector en pacientes con elevación temprana de las troponinas puede prevenir la disfunción sistólica<sup>(10)</sup>. Estos resultados han llevado a recomendar la monitorización con troponinas; los protocolos internacionales proponen contar con valores basales y previos a cada ciclo de QMT<sup>(5,8,11)</sup>. El péptido natriurético B (BNP), en cambio, es una molécula liberada al torrente circulatorio en respuesta a la sobrecarga de volumen o al aumento de la tensión parietal, lo que sucede de forma temprana en el curso de la disfunción ventricular. Aunque este parámetro bioquímico ha sido ampliamente validado como marcador de IC, son pocos los datos disponibles sobre su utilidad clínica práctica para predecir el desarrollo de cardiotoxicidad<sup>(20,21)</sup>.

El TPH es una modalidad terapéutica potencialmente curativa en múltiples enfermedades hemato-lógicas. El uso progresivo de los regímenes de acondicionamiento con toxicidad reducida y los mejores tratamientos de soporte disponibles han optimizado los resultados de esta modalidad en las leucemias agudas y los síndromes linfoproliferativos<sup>(22)</sup>. Sin embargo, el TPH se asocia con toxicidades vinculadas al tratamiento como la cardiotoxicidad, tanto en la etapa aguda postrasplante como a largo plazo<sup>(22-24)</sup>. A su vez, quienes sobreviven al cáncer presentan un riesgo de enfermedad CV muy superior a la población general. Se ha confirmado el desarrollo de algún tipo de cardiotoxicidad en hasta un 9% de los pacientes sometidos a TPH, y que esta incidencia es mayor en los que presentan antecedentes de disfunción miocárdica previa<sup>(22,23)</sup>. Por desgracia, el enfoque analítico de la cardiotoxicidad bioquímica ha sido escasamente aplicado en los pacientes hemato-oncológicos que reciben TPH tras diversos planes de QMT.

### Objetivo

Analizar el perfil evolutivo de liberación de biomarcadores como potencial indicador subclínico

**Tabla 1.** Protocolo de evaluación y seguimiento aplicado en la población de estudio.

Oportunidad	Control clínico	ECG	Biomarcadores	ECO/SLG
Basal	x	x	x	x
1 mes	x	x	x	
3 meses	x	x	x	x
6 meses	x	x	x	

de cardiotoxicidad en pacientes sometidos a TPH. Secundariamente se analiza la influencia de diversas variables clínico-oncológicas sobre este perfil bioquímico.

## Metodología

### Población

Se incluyeron pacientes sucesivos, mayores de 18 años, portadores de enfermedades hemato-oncológicas en recidiva total o parcial con indicación de TPH, en todas las modalidades de condicionamiento. Todos ellos son asistidos en una policlínica especializada en cardio-oncología, con seguimiento por 6 meses luego del trasplante, en el período comprendido entre octubre de 2018 y marzo de 2020. Se realizaron controles seriados clínicos, electrocardiográficos (ECG), bioquímicos (TnI, BNP) e imagenológicos (ecocardiográficos) según algoritmo elaborado para este subgrupo de pacientes que incluye medidas seriadas en condiciones basales, primer, tercer y sexto meses posttrasplante<sup>(25)</sup>. Se excluyeron aquellos portadores de cardiopatía isquémica, miocardiopatía dilatada no isquémica y cualquier cardiopatía estructural con disfunción sistólica severa del VI (FEVI < 30%).

### Diseño

Descriptivo, analítico, prospectivo y unicéntrico.

### Seguimiento clínico y bioquímico

Se obtuvo información de la base de datos de la policlínica en variables patronímicas, antecedentes personales, oncológicas (tipo de patología, planes de QMT, tipo de TPH al que se va a someter y plan de acondicionamiento), así como parámetros seriados clínicos, ECG, bioquímicos y ecocardiográficos. Se realizó una valoración del estado clínico inicial con estratificación de riesgo CV basal mediante score de Tichelli<sup>(26)</sup> y controles integrales previos al procedimiento, al mes, 3 y 6 meses de este (tabla 1). Se aplicaron los lineamientos generales de los protocolos de valoración, diagnóstico, prevención y tratamiento de la cardiotoxicidad

descritos por guías de referencia internacional<sup>(6)</sup>.

- Paraclínica basal: TnI, BNP, hemoglobina (Hb).
- ECG de 12 derivaciones en cada control.
- Ecocardiograma Doppler transtorácico (ETT) y SLG, si se dispone.

El diagnóstico de IC se realizó como un síndrome clínico que constaba de síntomas de IC (disnea, fatiga) y signos clínicos (pulmonares o periféricos) apoyados por radiografías de tórax o FEVI reducida a < 50% o una respuesta beneficiosa al tratamiento médico de la IC. El diagnóstico clínico de IC se realizó a ciegas de los resultados del BNP.

En consonancia con las guías de práctica clínicas actuales, se definió el desarrollo de cardiotoxicidad como un descenso absoluto de 10 puntos porcentuales en la fracción de eyección del VI con un valor final < 53% (límite inferior de la normalidad), asociado o no a la presencia de síntomas de IC<sup>(7)</sup>. Sin desmedro de esto, se tuvieron en cuenta también los siguientes criterios complementarios: reducción relativa del SLG > 15% con respecto al basal o ascenso anormal en los biomarcadores (valores alcanzados de TnI  $\geq 0,04$  ng/ml, y de BNP  $\geq 100$  pg/ml).

De acuerdo con las pautas del laboratorio clínico de referencia, se definieron valores normales de TnI como aquellos comprendidos entre 0,00 y 0,04 ng/ml y de BNP entre 0 y 100 pg/ml. Cuando el valor de TnI fue menor a 0,05 ng/ml se computó un valor sérico de 0. Se establecieron los siguientes factores de riesgo para el desarrollo de cardiotoxicidad: edad menor a 15 o mayor a 60 años, sexo femenino, cardiopatía previa (FEVI menor a 53%, coronariopatía, valvulopatías moderadas a severas, miocardiopatía hipertrófica), antecedentes de cardiotoxicidad, tratamiento QMT previo, antraciclinas a dosis altas (doxorubicina  $\geq 250$  mg/m<sup>2</sup>), radioterapia mediastinal a dosis altas ( $\geq 30$  Gy) y biomarcadores elevados antes del inicio de tratamiento<sup>(25,26)</sup>. Se realizó seguimiento clínico en todos los casos, monitorizando presión arterial (PA) y frecuencia cardíaca (FC), electrocardiograma y evaluando el desarrollo de síntomas y signos de IC y seguimiento paraclínico y bioquímico en los tiempos establecidos. Ante el desarrollo de

síntomas y signos de IC se indicaron evaluaciones complementarias, según criterio clínico del cardiólogo tratante. En cuanto a la intervención terapéutica, se fomentaron estrategias de estilo de vida saludable, control de FRCV, modificación y tratamiento de estos, ejercicio físico, abandono del hábito tabáquico, inicio de fármacos cardioprotectores (IECA y betabloqueantes) en pacientes con alto riesgo de cardiotoxicidad, FEVI descendida y cuando correspondiera, según el desarrollo de cardiotoxicidad durante el seguimiento.

### Estudios de imagen

En todos los pacientes se realizó un ecocardiograma completo utilizando un equipo de ultrasonido (Vivid S6 General Electric) con monitoreo electrocardiográfico simultáneo en caso de realización de SLG, utilizando un transductor de 3,5 MHz, de acuerdo con las recomendaciones de la Sociedad Americana de Ecocardiografía<sup>(17)</sup>. Se midieron diámetros, volúmenes y FEVI mediante método de Simpson biplano en proyecciones apical de 4 y 2 cámaras, con 3 ciclos cardíacos consecutivos, la función diastólica se estimó mediante Doppler pulsado a nivel de la válvula mitral en el plano A4C y mediante la onda diastólica precoz del anillo mitral septal y lateral con Doppler tisular. El volumen de la AI se calculó mediante el método biplano área-longitud. Se evaluaron la anatomía y función valvulares y presencia de derrame pericárdico de acuerdo con las guías de práctica clínica. La obtención de SLG se hizo mediante técnica de Speckle Tracking, se obtuvo un loop de 4, 2 cámaras y 3 cámaras y determinando los valores de SL en cada uno de los 17 segmentos del VI, representados en un mapa polar (ojo de buey). El valor del SLG se calculó como el promedio de los SL pico obtenidos en todos los segmentos. Los valores de SLG varían según la edad, el sexo, las condiciones de carga y el software utilizado para su medida. Se define como normal un valor de -17% para hombres y -18% para mujeres, es significativo un cambio relativo de 15% en medidas sucesivas<sup>(17)</sup>. Los datos estructurales se obtuvieron a partir del ecocardiograma Doppler, incluyendo los valores de SLG, cuando estuvieran disponibles. Se realizó ecocardiograma previo al TPH y a los 3 meses de este, y en el momento que se requiriera, según evolución clínica.

### Aspectos éticos

Se respetaron los principios de la declaración de Helsinki para experimentación en humanos. El proyecto fue aprobado por el Comité de Ética institucional e inscrito en la base de datos de in-

vestigaciones en humanos del Ministerio de Salud Pública. Esta investigación forma parte de un proyecto de tesis de maestría del Pro.In.Bio de naturaleza retrospectiva, que obtuvo los consentimientos informados de todos los pacientes en distintos momentos.

### Estadística

La distribución normal de los datos se verificó mediante el test de Anderson-Darling. Los datos de las variables categóricas se presentan como frecuencias absolutas y relativas (%), mientras que las variables continuas se presentan por como medias  $\pm$  desviaciones estándar o medianas  $\pm$  rangos intercuartílicos (RIQ) 25-75%, según corresponda. Las variables categóricas se compararon mediante test exacto de Fisher con corrección de Yates. Las variables continuas medidas en toda la muestra durante los controles seriados se compararon con los valores basales obtenidos antes del TPH mediante ANOVA de medidas repetidas o test de Friedman, según corresponda. Las medidas de FEVI basal se compararon con las obtenidas a los 3 meses del TPH mediante prueba t pareada o test de Wilcoxon, cuando corresponda. Posteriormente, este se aplicó para diferentes subpoblaciones de pacientes con diferente perfil de riesgo CV: score de Tichelli, alteraciones del SLG basal, tipo de patología oncológica de base (leucemias vs. no leucemias) y diferentes regímenes de terapia QMT recibida previa al TPH. Se consideró como significativo un valor de  $p < 0,05$  (dos colas). Para los análisis y construcciones gráficas se utilizó el software GraphPad Prism (versión 9.0).

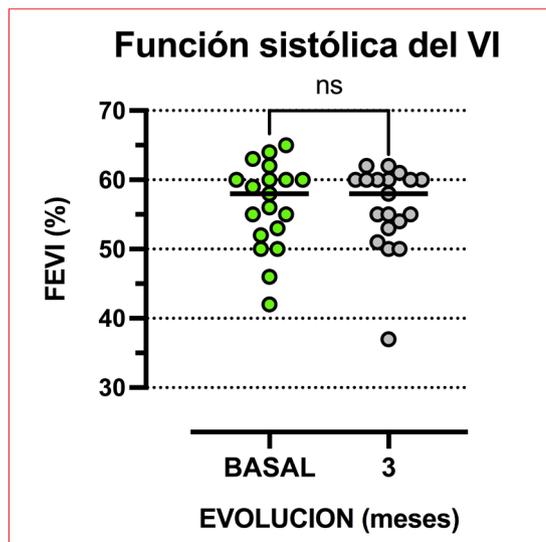
### Resultados

Las características basales clínicas y oncológicas de toda la población de estudio se resumen en la tabla 2. Se incluyeron 19 pacientes de 18 a 66 años, 37% mujeres, . Cuatro pacientes (21%) presentaron un score de Tichelli de 1, equivalente a un riesgo CV elevado. Un total de 4 pacientes eran portadores de cardiopatía estructural; 3 de ellos presentaban cardiopatía hipertensiva definida por parámetros estructurales en el ecocardiograma, y un paciente presentaba valvulopatía crónica, era portador de prótesis mecánica mitral. Los sujetos incluidos recibieron diversos regímenes de QMT según indicación oncológica, las antraciclina fueron las más utilizadas (89%). Previo al TPH, todos recibieron tratamiento de acondicionamiento de intensidad reducida con drogas QMT, el cual estuvo dirigido a lograr inmunosupresión para evitar el rechazo del injerto.

**Tabla 2.** Características basales de la población de estudio (n=19).

	n (%)
Género femenino	7 (37)
Edad (años, media ± DE)	43,8 ± 15,7
<b>FRCV</b>	
HTA	5 (26)
DM	1 (5)
Extabaquismo	2 (11)
Dislipemia	6 (32)
Obesidad	4 (21)
<b>Cardiopatía estructural</b>	
Hipertensiva	3 (16)
Valvulopatía	1 (5)
Hemoglobina (g/dl)	10,5 ± 1,6
<b>Enfermedad hemato-oncológica</b>	
Linfomas	6 (32)
LH	4 (21)
LNH	2 (11)
Leucemias	11 (58)
Mieloma múltiple	2 (11)
<b>Quimioterapia</b>	
Antraciclina	17 (89)
Alquilantes	10 (53)
Inhibidores de proteosomas	2 (11)
Alcaloides	8 (42)
Antimetabolitos	11 (58)
Anticuerpos monoclonales	2 (11)
<b>Radioterapia</b>	2 (11)
<b>Consolidación</b>	
Antraciclina	2 (11)
Agentes alquilantes	13 (68)
Inhibidores de proteosomas	2 (11)
Alcaloides	0
Antimetabolitos	17 (89)
Anticuerpos monoclonales	2 (11)
<b>Tipo TPH</b>	
Alotrasplante	14 (74)
Autotrasplante	5 (26)

FRCV: factores de riesgo cardiovascular; HTA: hipertensión arterial; DM: diabetes mellitus; LH: linfoma de Hodgkin; LNH: linfoma no Hodgkin; Inhib: inhibidores; TPH: trasplante de precursores hematopoyéticos.



**Figura 1.** Valores evolutivos de la FEVI obtenidos por ecocardiograma Doppler luego del TPH. Test de Wilcoxon, valores expresados en medianas.

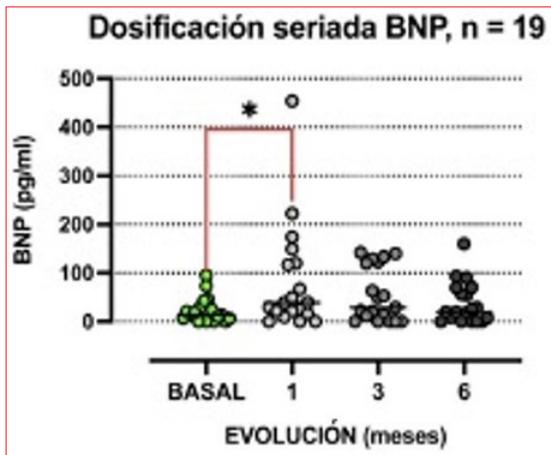
El 89% recibió terapia de acondicionamiento con antimetabolitos y el 53% con agentes alquilantes (tabla 2).

En condiciones basales pretrasplante, la FEVI fue de 58,0 [52,0-60,0]% y el SLG del VI fue de  $-16,9 \pm 4,6$ . No se detectaron cambios significativos de la FEVI a los 3 meses, 58,0 [52,0-60,0] vs. 58,0 [53,0-60,0]%,  $p = 0,82$  (figura 1). Según criterios estructurales, un solo paciente presentó cardiotoxicidad, definida por un descenso de la FEVI > 10% y alcanzando un valor por debajo del límite inferior de la normalidad (53%). En cuanto al SLG, en dos casos se observó una reducción relativa mayor al 15% con respecto al SLG previo.

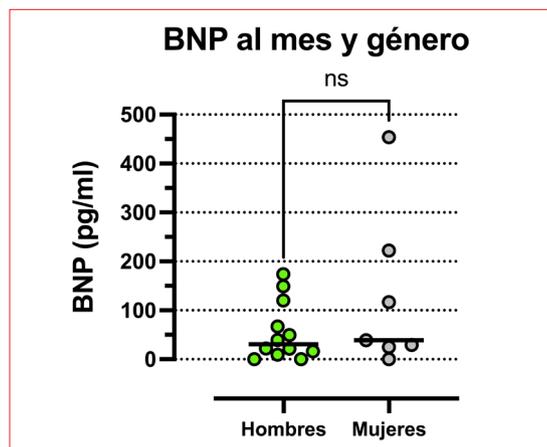
No se observó aumento de la TnI en ningún caso. La concentración sérica de BNP, en cambio, se elevó desde valores basales de 13,6 [6,1-30,9] pg/ml a 38,9 [16,3-120,0] pg/ml al primer mes y 28,9 [0,04-123,2] pg/ml a los 3 meses ( $p = 0,036$  basal vs. 1 mes,  $p = 0,39$  basal vs. 3 meses) (figura 2).

No se observó una asociación consistente entre el aumento del BNP al mes en relación con el género (figura 3). La edad tampoco se asoció con los niveles séricos de BNP:  $23,2 \pm 57,5$  pg/ml en sujetos de 40 años o menos y  $49,4 \pm 127,0$  pg/ml en mayores a 40 años ( $p = 0,17$ ).

La elevación de BNP no se asoció con el riesgo CV estimado por el score de Tichelli (score de 0:  $0,29 \pm 110,6$  pg/ml vs. score de 1:  $44,5 \pm 101,9$  pg/ml,  $p = 0,73$ ). Se detectaron diferencias significativas en la liberación de BNP al primer mes post-TPH en la subpoblación de pacientes portadores de leucemia ( $p = 0,039$ , panel A de la figura 4), probablemente relacionado con el tratamiento, tipo y dosis de planes recibidos. Por último, se analizó



**Figura 2.** Cambios evolutivos de los valores de BNP séricos en los controles seriados de toda la muestra. Test de Friedman, valores expresados en medianas. \*  $p < 0,05$ .



**Figura 3.** Valores séricos de BNP al mes en sujetos de distinto género. Test de Mann-Whitney, valores expresados en medianas.

la liberación de BNP en relación con los distintos regímenes QMT y acondicionamiento recibido. Se detectó una mayor elevación de dicho marcador al mes en aquellos que recibieron antimetabolitos como tratamiento QMT previo (BNP basal:  $13,6 \pm 24,8$  pg/ml vs. BNP al mes:  $67,0 \pm 152,7$  pg/ml,  $p = 0,039$ ). No encontramos diferencias en la liberación de BNP precoz (al mes) en relación con los QMT utilizados, esto es, en los subgrupos de pacientes que recibieron antraciclinas, alquilantes o alcaloides (figura 4).

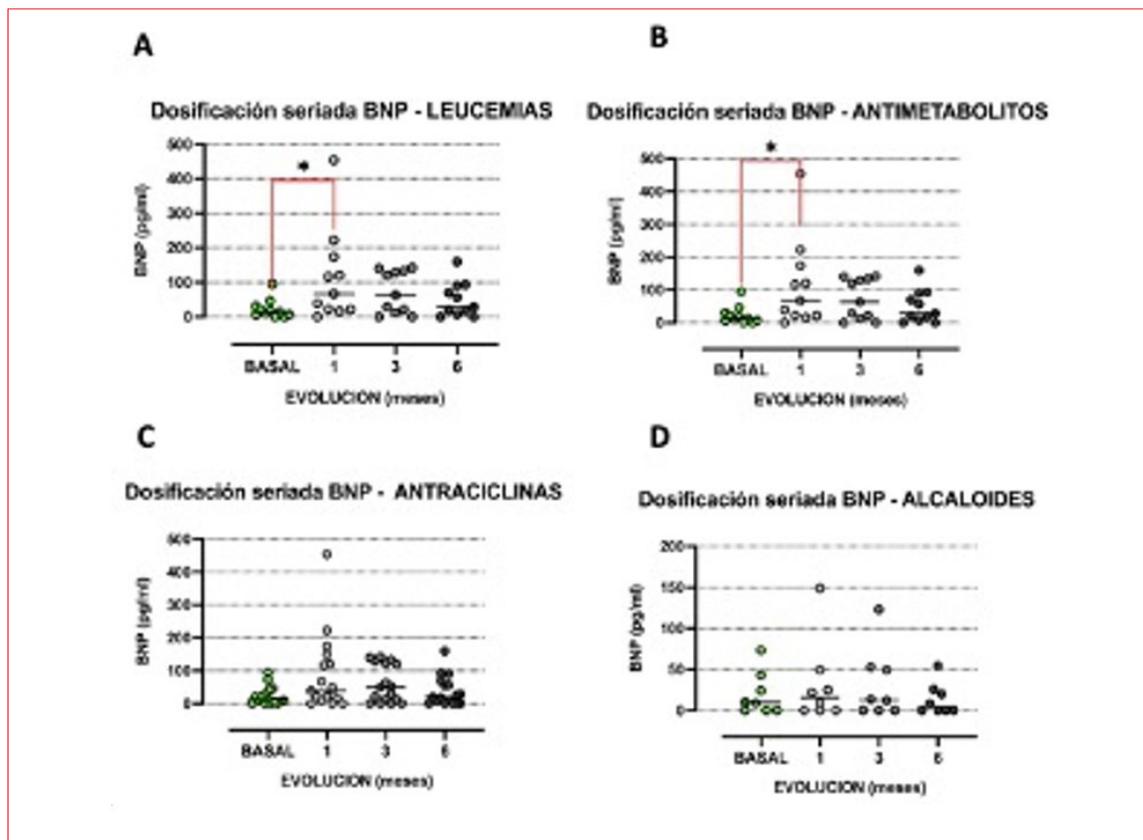
En la figura 5 se ilustran dos ejemplos de pacientes del estudio con diferente perfil de liberación de biomarcadores.

### Discusión

El aumento significativo del BNP tras el TPH en nuestra población de estudio es consistente y confirma el desarrollo de cardiotoxicidad subclínica en un porcentaje considerable de pacientes sometidos a TPH (32%), alcanzando un pico máximo de liberación al mes postrasplante. Los reportes que han caracterizado esta cardiotoxicidad subclínica bioquímica en los pacientes que reciben TPH son muy escasos. Varios estudios observacionales han detectado la presencia de cardiotoxicidad por criterios funcionales habituales (descenso de la FEVI), con una incidencia que se acerca al 10% en algunas series. Esta cifra es aún mayor en sujetos con disfunción sistólica previa, lo que conlleva un mayor riesgo de mortalidad en el primer año posprocedimiento, principalmente en aquellos que presentaron algún evento CV<sup>(28,29)</sup>. La cardiotoxicidad subaguda ha sido inesperadamente común en algunas series, ocurre principalmente

en el primer mes luego del trasplante, y es generalmente reversible<sup>(29-33)</sup>. Varias investigaciones longitudinales apoyan la importancia del control regular de la FEVI para predecir el riesgo CV y la cardiotoxicidad. Sin embargo, los pacientes con FEVI moderadamente disminuida pueden someterse a TPH y, a su vez, un valor alterado aislado de FEVI no suele correlacionarse estrechamente con el desarrollo de cardiotoxicidad<sup>(27,29,30)</sup>.

Si bien el SLG podría ser considerado como un parámetro subclínico de cardiotoxicidad que ha demostrado un mejor valor predictivo para mortalidad que la FEVI, este parámetro funcional no se obtuvo en todos los ecocardiogramas de nuestros pacientes. Se requiere ampliar la experiencia para definir el valor adicional de este parámetro como marcador de toxicidad subclínica en aquellos que reciben TPH. Aunque el papel de los biomarcadores BNP y TnI para predecir el riesgo CV está bien definido en algunas subpoblaciones de pacientes oncológicos, su valor como marcadores de cardiotoxicidad subclínica tras el TPH es aún controversial. Algunas experiencias han demostrado que los niveles de BNP aumentan en respuesta al incremento en la tensión parietal ventricular luego del TPH y predicen el desarrollo de cardiotoxicidad, por lo que podrían ser útiles durante el seguimiento<sup>(31,32)</sup>. T. Chung y col. estudió prospectivamente 32 pacientes sometidos a TPH, con seguimiento por 6 semanas. Los autores encontraron una mayor elevación precoz del BNP, esto es, en las 2-4 semanas posteriores al trasplante, siendo predictivo de toxicidad cardíaca inducida por QMT. El BNP aumenta en respuesta al estiramiento de la pared del VI secundario a diversas condiciones fisiológicas, se observa un aumento



**Figura 4.** Análisis de subgrupos. Dosificación de BNP en controles sucesivos correspondientes a los subgrupos con leucemias (A) y terapias con antimetabolitos (B), antraciclinas (C) y alcaloides (D). Test de Friedman, valores expresados en medianas \* $p < 0,05$ .

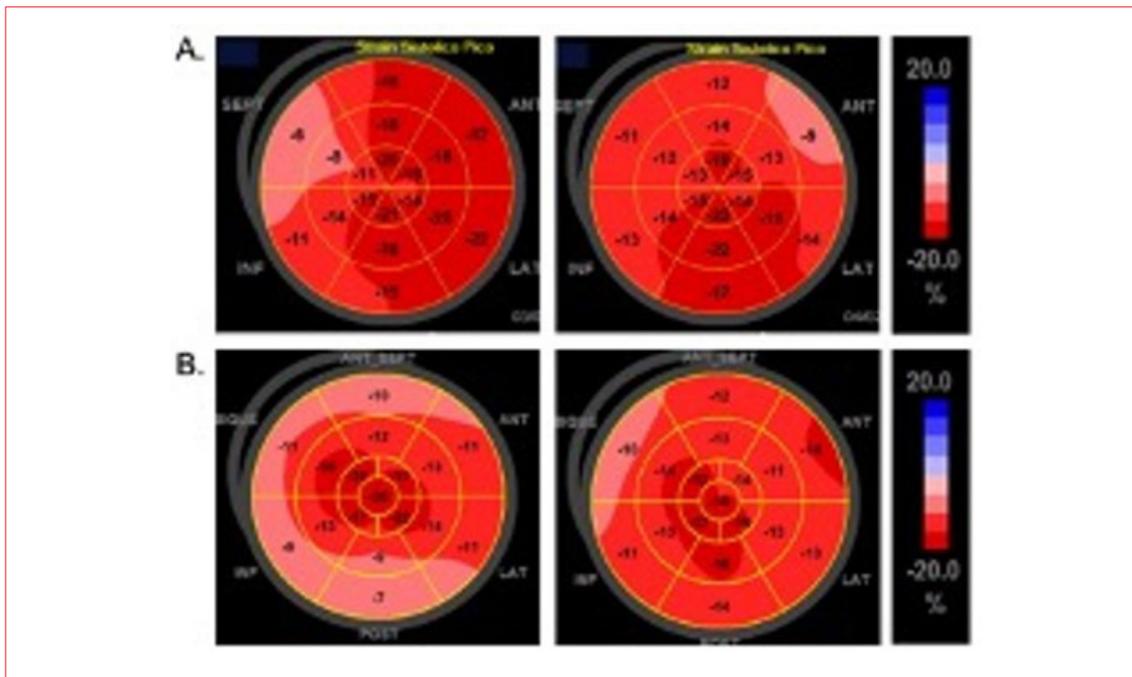
adaptativo normal en respuesta al incremento de las demandas miocárdicas. Sin embargo, en esta experiencia, la elevación del BNP también estuvo asociada con el desarrollo de IC clínica. En dicho estudio se observó un hallazgo inesperado: la elevación de BNP precoz como potencial factor “protector” para cardiotoxicidad, en contraposición con una elevación más tardía del BNP en los pacientes que desarrollaron cardiotoxicidad<sup>(28)</sup>. Las bases fisiopatológicas de este hallazgo se desconocen. La liberación máxima de BNP precoz tras el TPH podría ser secundaria a un aumento de la tensión parietal relacionada con la sobrecarga de volumen más que a la propia cardiotoxicidad relacionada con el tratamiento. Incluso, no está claro si el aumento sostenido de BNP es un predictor fiel para el desarrollo de una futura cardiotoxicidad definida por criterios de imagen. En efecto, se ha encontrado una escasa correlación entre el BNP y los cambios de la FEVI tras la QMT, con un escaso descenso a las 6 semanas<sup>(31,33-35)</sup>. Dado que no contamos con ETT hasta los 3 meses postrasplante, no podemos contrastar nuestros hallazgos con los obtenidos en dicho estudio.

En el plano local, Oliver y col. realizaron un

análisis prospectivo de los cambios bioquímicos y ecocardiográficos durante el TPH, encontraron que los valores de pro-BNP aumentan durante el trasplante, y se mantienen elevados al día 30 en el 53% de los casos. En relación con el SLG, se observó una reducción significativa en el 12,5% de los pacientes. Los autores concluyen que estos cambios podrían ser predictivos de cardiotoxicidad clínica<sup>(36)</sup>.

No detectamos elevación sérica de TnI en ninguno de nuestros pacientes durante los controles sucesivos. Las experiencias previas han demostrado que las troponinas son marcadores específicos, pero poco sensibles de toxicidad cardíaca, con mayores niveles en los controles al primer mes o posteriores, mayor tras la QMT en dosis altas. Estos cambios suelen mostrar una correlación estrecha con el deterioro de la FEVI. Dado que no contamos con seguimiento imagenológico al mes en todos los pacientes de nuestra serie, esto es, durante el pico máximo de elevación de los biomarcadores, no disponemos de datos empíricos para contrastar con lo descrito en la literatura<sup>(33,35)</sup>.

Aún con las limitaciones inherentes al pequeño tamaño muestral, los resultados de nuestro



**Figura 5.** Ejemplos de toxicidad subclínica post-TPH en dos pacientes de nuestra serie. Se ilustran los resultados del SLG en dos pacientes, previo al TPH y al mes de este. Panel A: mujer de 29 años, sin factores de riesgo CV previos, portadora de leucemia aguda mieloblástica (LAM) que recibió QMT con antraciclinas y antimetabolitos. Se somete a TPH con plan de consolidación con antimetabolitos. En control inicial BNP: 95 pg/ml, FEVI: 50% y SLG: -16,1. A los 3 meses: dosificación de BNP: 133 pg/ml, FEVI: 45% y SLG: -14,8. Panel B: mujer de 45 años, obesa y dislipémica, portadora de LAM que recibió antraciclinas y antimetabolitos, seguida de una nueva serie de antimetabolitos en la consolidación. De la valoración inicial destacaba BNP: 13,6 pg/ml, que llega a valores máximos de 454 pg/ml al mes postrasplante. Los valores de FEVI y SLG se mantuvieron sin cambios en el control evolutivo a los 3 meses (FEVI: 50% y 53%, SLG: -15,7 y -13,0, respectivamente).

análisis de subpoblaciones sugieren que el daño miocárdico podría depender de los regímenes de QMT previa y acondicionamiento (figura 4). Clásicamente, el fenómeno de la cardiotoxicidad es dependiente de las dosis de QMT, más comúnmente de las antraciclinas. Sin embargo, en el estudio de E. Cardinale y col. no se observó esta correlación, por lo que la ausencia de antraciclinas como agentes QMT previos al TPH no excluye el desarrollo de disfunción sistólica significativa tras la terapia de acondicionamiento<sup>(29)</sup>. Debido a la conocida cardiotoxicidad relacionada con estos agentes, analizamos especialmente la relación entre su administración y el perfil de biomarcadores en nuestra población. Destacamos que la mayoría de los pacientes incluidos con leucemia o linfoma recibieron antraciclinas. Sin embargo, el análisis de subgrupos no demostró una correlación independiente entre la exposición a las antraciclinas y la liberación de BNP. En contraposición, los sujetos sometidos a terapia previa con antimetabolitos presentaron una mayor elevación de BNP.

La influencia de la QMT acondicionadora sobre la estructura y función miocárdicas es multifactorial y compleja. Además, no debe perderse

de vista que el TPH está precedido por regímenes de acondicionamiento que, por su nivel de intensidad, se pueden clasificar en mieloablativos, donde se compromete totalmente la médula ósea, y no mieloablativos, que, aunque acarrear una toxicidad reducida, suelen utilizar esquemas de acondicionamiento con agentes alquilantes en dosis elevadas<sup>(30)</sup>.

Existe amplio consenso sobre que la detección temprana de la cardiotoxicidad es la mejor práctica para prevenir el desarrollo de disfunción sistólica posterior a la terapia onco-específica. Un nuevo enfoque que haga hincapié en la detección precoz del daño subclínico, con base en la medición de diversos biomarcadores séricos y parámetros funcionales y estructurales obtenidos por técnicas de imagen puede proveer una batería de herramientas útiles, de bajo coste y fácil interpretación, a la hora de identificar los pacientes más susceptibles para el desarrollo de cardiotoxicidad post-TPH. Para esto se requiere cuantificar la relación de la liberación de los biomarcadores miocárdicos con determinados planes de acondicionamiento y definir la capacidad de los nuevos parámetros para predecir la toxicidad cardiovascular postrasplante antes de que sobrevenga

la temida disfunción sistólica. Además de su valor como casuística local, creemos que nuestros hallazgos preliminares generan hipótesis interesantes a la hora de afrontar estos desafíos clínicos.

Asumimos que nuestro estudio presenta ciertas limitaciones. La principal limitante radica en el número reducido de pacientes derivados a un solo centro de referencia, lo que representa una pequeña proporción de los pacientes oncológicos que reciben QMT. Además, los pacientes fueron seguidos a corto plazo. Se requiere ampliar nuestra serie para agregar mayor potencia estadística a los resultados obtenidos, e incluso avanzar con un enfoque multivariado que permita definir potenciales confusores. Subrayamos aquí que los individuos con enfermedades hemato-oncológicas con indicación de TPH integran un subgrupo particular, con especificidades terapéuticas y riesgo CV diferente a otras subpoblaciones. Debido al bajo número de pacientes que desarrollaron cardiotoxicidad por criterios clásicos, no pudo evaluarse la correlación entre los valores de biomarcadores y el desarrollo de disfunción sistólica. Se incluyeron pacientes con diferentes enfermedades y regímenes QMT, que pueden reducir el poder del estudio para identificar toxicidad relacionada al tratamiento. Tampoco se analizaron otros parámetros de importancia en el desarrollo de cardiotoxicidad (función renal, dosis de los regímenes QMT, índices de sobrecarga de hierro y perfil lipídico, entre otros) ni se obtuvieron medidas sucesivas estructurales completas en todos los casos. Finalmente, no puede excluirse la influencia de un sesgo de referencia asociado a la exclusión de pacientes portadores de cardiopatías estructurales avanzadas y riesgo CV pretrasplante elevado.

### Conclusiones y perspectivas

En nuestro centro, la liberación de BNP posterior al TPH es un evento frecuente (32% de los pacientes), alcanzando un máximo precoz al mes postrasplante, independientemente del valor de la FEVI basal. Este perfil bioquímico no difiere mayormente en relación con diversas variables clínicas y estructurales. Los pacientes que recibieron antimetabolitos exhiben una mayor liberación precoz de BNP. Se requiere ampliar la serie y prolongar el seguimiento para definir la utilidad clínica independiente de los controles bioquímicos seriados asociados a otros hallazgos estructurales en los candidatos a TPH que son sometidos a diferentes regímenes de QMT previa y acondicionadora.

Soledad Murguía, ORCID 0000-0001-8135-7316  
Federico Pagnussat, ORCID 0000-0001-5769-5278  
Andrea Simeone, ORCID 0000-0002-8391-091X  
Mariela Lujambio, ORCID 0000-0003-1165-175X  
Mónica Delorenzi, ORCID 0000-0001-9457-7692  
Federico Acquistapace, ORCID 0000-0003-0879-9227  
Lucía Florio, ORCID 0000-0002-9608-2666  
Federico Ferrando Castagnetto, ORCID 0000-0001-7873-9452

Editor responsable: Dr. Jorge Estigarribia

### Bibliografía

1. Haddy N, Diallo S, El-Fayech C, Schwartz B, Pein F, Hawkins M, et al. Cardiac Diseases Following Childhood Cancer Treatment: Cohort Study. *Circulation* 2016; 133(1):31-8. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.115.016686.
2. Miller K, Siegel R, Lin C, Mariotto A, Kramer J, Rowland J, et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2016. *CA Cancer J Clin* 2016; 66(4):271-89. doi: 10.3322/caac.21349.
3. Ewer M, Ewer S. Cardiotoxicity of anticancer treatments. *Nat Rev Cardiol* 2015; 12(9):547-58. doi: 10.1038/nrcardio.2015.65.
4. Barac A, Murtagh G, Carver J, Chen M, Freeman A, Herrmann J, et al. Cardiovascular health of patients with cancer and cancer survivors: a roadmap to the next level. *J Am Coll Cardiol* 2015; 65(25):2739-46. doi: 10.1016/j.jacc.2015.04.059.
5. Zamorano J, Lancellotti P, Rodriguez Muñoz D, Abo-yan V, Asteggiano R, Galderisi M; Authors/Task Force Members; ESC Committee for Practice Guidelines (CPG); Document Reviewers. 2016 ESC Position Paper on cancer treatments and cardiovascular toxicity developed under the auspices of the ESC Committee for Practice Guidelines: The Task Force for cancer treatments and cardiovascular toxicity of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur J Heart Fail* 2017; 19(1):9-42. doi: 10.1002/ejhf.654.
6. Lipshultz S. Exposure to anthracyclines during childhood causes cardiac injury. *Semin Oncol* 2006; 33(3 Suppl 8):S8-14. doi: 10.1053/j.seminoncol.2006.04.019.
7. Plana J, Galderisi M, Barac A, Ewer M, Ky B, Scherrer-Crosbie M, et al. Expert consensus for multimodality imaging evaluation of adult patients during and after cancer therapy: a report from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *J Am Soc Echocardiogr* 2014; 27(9):911-39. doi: 10.1016/j.echo.2014.07.012.
8. Curigliano G, Cardinale D, Dent S, Criscitiello C, Aseyev O, Lenihan D, et al. Cardiotoxicity of anticancer treatments: Epidemiology, detection, and management. *CA Cancer J Clin* 2016; 66(4):309-25. doi: 10.3322/caac.21341.
9. Grenier M, Lipshultz S. Epidemiology of anthracycline cardiotoxicity in children and adults. *Semin Oncol* 1998; 25(4 Suppl 10):72-85.

10. Cardinale D, Biasillo G, Cipolla C. Curing cancer, saving the heart: a challenge that Cardioncology should not miss. *Curr Cardiol Rep* 2016; 18(6):51. doi: 10.1007/s11886-016-0731-z.
11. Cardinale D, Sandri M, Martinoni A, Tricca A, Civelli M, Lamantia G, et al. Left ventricular dysfunction predicted by early troponin I release after high-dose chemotherapy. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36(2):517-22. doi: 10.1016/s0735-1097(00)00748-8.
12. Lenneman C, Sawyer D. Cardio-Oncology: an update on cardiotoxicity of cancer-related treatment. *Circ Res* 2016; 118(6):1008-20. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.115.303633.
13. López-Fernández T, Martín García A, Santaballa Beltrán A, Montero Luis Á, García Sanz R, Mazón Ramos P, et al. Cardio-Onco-Hematology in clinical practice: position paper and recommendations. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)* 2017; 70(6):474-86. doi: 10.1016/j.rec.2016.12.041.
14. Ewer M, Lippman S. Type II chemotherapy-related cardiac dysfunction: time to recognize a new entity. *J Clin Oncol* 2005; 23(13):2900-2. doi: 10.1200/JCO.2005.05.827.
15. Kertmen N, Aksoy S, Uner A, Sargon M, Ozkayar O, Keskin O, et al. Which sequence best protects the heart against trastuzumab and anthracycline toxicity? An electron microscopy study in rats. *Anticancer Res* 2015; 35(2):857-64.
16. Shelburne N, Adhikari B, Brell J, Davis M, Desvigne-Nickens P, Freedman A, et al. Cancer treatment-related cardiotoxicity: current state of knowledge and future research priorities. *J Natl Cancer Inst* 2014; 106(9):dju232. doi: 10.1093/jnci/dju232.
17. Lang R, Badano L, Mor-Avi V, Afilalo J, Armstrong A, Ernande L, et al. Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: an update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *J Am Soc Echocardiogr* 2015; 28(1):1-39.e14. doi: 10.1016/j.echo.2014.10.003.
18. López-Fernández T, Thavendiranathan P. Emerging cardiac imaging modalities for the early detection of cardiotoxicity due to anticancer therapies. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)* 2017; 70(6):487-95. doi: 10.1016/j.rec.2017.01.004.
19. Cardinale D, Salvatici M, Sandri M. Role of biomarkers in cardioncology. *Clin Chem Lab Med* 2011; 49(12):1937-48. doi: 10.1515/CCLM.2011.692.
20. Castiglione V, Aimo A, Vergaro G, Saccaro L, Passino C, Emdin M. Biomarkers for the diagnosis and management of heart failure. *Heart Fail Rev* 2022; 27(2):625-643. doi: 10.1007/s10741-021-10105-w.
21. Dolci A, Dominici R, Cardinale D, Sandri M, Panteghini M. Biochemical markers for prediction of chemotherapy-induced cardiotoxicity: systematic review of the literature and recommendations for use. *Am J Clin Pathol* 2008; 130(5):688-95. doi: 10.1309/AJCPB66LRIIVMQDR.
22. Xu Z, Xu L, Zhang Y, Cheng Y, Mo X, Wang F, et al. Incidence and predictors of severe cardiotoxicity in patients with severe aplastic anaemia after haplo-identical haematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2019; 54(10):1694-700. doi: 10.1038/s41409-019-0509-1.
23. Tuzovic M, Mead M, Young P, Schiller G, Yang E. Cardiac Complications in the Adult Bone Marrow Transplant Patient. *Curr Oncol Rep* 2019; 21(3):28. doi: 10.1007/s11912-019-0774-6.
24. Christenson E, James T, Agrawal V, Park B. Use of biomarkers for the assessment of chemotherapy-induced cardiac toxicity. *Clin Biochem* 2015; 48(4-5):223-35. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2014.10.013.
25. Barros-Gomes S, Herrmann J, Mulvagh S, Lerman A, Lin G, Villarraga H. Rationale for setting up a cardio-oncology unit: our experience at Mayo Clinic. *Cardiooncology* 2016; 2(1):5. doi: 10.1186/s40959-016-0014-2.
26. Tichelli A, Bhatia S, Socié G. Cardiac and cardiovascular consequences after haematopoietic stem cell transplantation. *Br J Haematol* 2008; 142(1):11-26. doi: 10.1111/j.1365-2141.2008.07165.x.
27. Dobson R, Ghosh A, Ky B, Marwick T, Stout M, Harkness A, et al. British Society for Echocardiography and British Cardio-Oncology Society guideline for transthoracic echocardiographic assessment of adult cancer patients receiving anthracyclines and/or trastuzumab. *Echo Res Pract* 2021; 8(1):G1-G18. doi: 10.1530/ERP-21-0001.
28. Baker J, Shank-Coviello J, Zhou B, Dixon J, McCorkle R, Sarpong D, et al. Cardiotoxicity in hematopoietic stem cell transplant: keeping the beat. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2020; 20(4):244-251.e4. doi: 10.1016/j.clml.2019.12.027.
29. Qazilbash M, Amjad A, Qureshi S, Qureshi S, Saliba R, Khan Z, et al. Outcome of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with low left ventricular ejection fraction. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009; 15(10):1265-70. doi: 10.1016/j.bbmt.2009.06.001.
30. Chung T, Lim W, Sy R, Cunningham I, Trotman J, Kritharides L. Subacute cardiac toxicity following autologous haematopoietic stem cell transplantation in patients with normal cardiac function. *Heart* 2008; 94(7):911-8. doi: 10.1136/hrt.2007.123299.
31. Peres E, Levine J, Khaled Y, Ibrahim R, Braun T, Krijanovski O, et al. Cardiac complications in patients undergoing a reduced-intensity conditioning hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2010; 45(1):149-52. doi: 10.1038/bmt.2009.97.
32. Snowden J, Hill G, Hunt P, Carnoutsos S, Spearing R, Espiner E, et al. Assessment of cardiotoxicity during haemopoietic stem cell transplantation with plasma brain natriuretic peptide. *Bone Marrow Transplant* 2000; 26(3):309-13. doi: 10.1038/sj.bmt.1702507.
33. Roziakova L, Bojtarova E, Mistrík M, Dubrava J, Gergel J, Lenkova N, et al. Serial measurements of cardiac biomarkers in patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *J Exp Clin*

- Cancer Res 2012; 31(1):13. doi: 10.1186/1756-9966-31-13.
34. Cardinale D, Sandri M, Colombo A, Colombo N, Boeri M, Lamantia G, et al. Prognostic value of troponin I in cardiac risk stratification of cancer patients undergoing high-dose chemotherapy. *Circulation* 2004; 109(22):2749-54. doi: 10.1161/01.CIR.0000130926.51766.CC.
35. Kuittinen T, Husso-Saastamoinen M, Sipola P, Vuolteenaho O, Ala-Kopsala M, Nousiainen T, et al. Very acute cardiac toxicity during BEAC chemotherapy in non-Hodgkin's lymphoma patients undergoing autologous stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2005; 36(12):1077-82. doi: 10.1038/sj.bmt.1705175.
36. Oliver A, Superchi R, Superchi F, Canabal M, Jubin S, Errecarte C, et al. Role of echocardiography and cardiac biomarkers in early detection of hematopoietic stem cell transplantation associated cardiotoxicity. *Blood* 2019; 134(Suppl 1):5688. doi: 10.1182/blood-2019-127680.

#### Contribución de los autores

Soledad Murguía: idea original, participación principal en ejecución, análisis, interpretación de resultados y redacción del manuscrito.

Federico Pagnussat: participación en ejecución, análisis y redacción.

Andrea Simeone: recolección de datos, ejecución y redacción.

Mariela Lujambio: recolección de datos, ejecución y redacción.

Mónica Delorenzi: recolección de datos, ejecución y redacción.

Federico Acquistapace: diseño, análisis estadístico, redacción.

Lucía Florio: ejecución, análisis estadístico y redacción.

Federico Ferrando Castagnetto: diseño, análisis estadístico, interpretación de resultados y supervisión general del trabajo.