

**MÔNICA SAMUEL AVILA GRINBERG**

Efeito do carvedilol na prevenção da  
cardiotoxicidade por antraciclinas:  
estudo randomizado, duplo-cego,  
placebo controlado (*CECCY Trial*)

Tese apresentada à Faculdade de Medicina  
da Universidade de São Paulo para obtenção  
do título de Doutora em Ciências

Programa de Cardiologia

Orientadora: Profa. Dra. Silvia Moreira Ayub  
Ferreira

**São Paulo**  
**2018**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

Preparada pela Biblioteca da  
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Grinberg, Mônica Samuel Avila  
Efeito do carvedilol na prevenção da  
cardiotoxicidade por antraciclina : estudo  
randomizado, duplo-cego, placebo controlado (CECCY  
Trial) / Mônica Samuel Avila Grinberg. -- São Paulo,  
2018.  
Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da  
Universidade de São Paulo.  
Programa de Cardiologia.  
Orientadora: Silvia Moreira Ayub Ferreira.

Descritores: 1.Insuficiência cardíaca  
2.Cardiotoxicidade 3.Prevenção de doenças  
4.Antagonistas adrenérgicos beta 5.Troponina  
6.Antraciclina

USP/FM/DBD-367/18

Responsável: Eidi Raquel Franco Abdalla - CRB-8/4901

**Dedicatória**

---

Aos meus pais **Vicente** e **Walkiria**, meus exemplos de vida, amor, caráter, perseverança e bondade. Essa admiração direcionou minha escolha profissional e o convívio me ajuda a crescer cada dia mais nessa jornada.

Ao meu marido, **Henrique**, que eu admiro e respeito, com todo meu amor, por compartilhar cada momento comigo.

Às minhas filhas **Júlia** e **Elisa**, que me motivam a querer ser melhor a cada dia.

Ao meu irmão **Fábio** (*in memoriam*) que, apesar de tão pouco tempo de vida, foi meu companheiro e grande amigo.

Aos meus sogros **Eva** e **Max** pela cumplicidade e carinho.

## **Agradecimentos**

---

À minha orientadora, Dra. Silvia Moreira Ayub Ferreira, pela oportunidade de realização desta tese, por sua dedicação, paciência e presença, por ter confiado em mim. Mais importante do que seus ensinamentos é a sua amizade.

Ao Prof. Dr. Edimar Alcides Bocchi, com quem aprendi a ser pesquisadora. Seu profissionalismo e incansável busca pelo refinamento científico são inspiradores.

Ao Prof. Dr. Fernando Bacal, pela acolhida no Núcleo de Transplantes. Seu exemplo de atuação clínica e científica me inspirou desde a residência em cardiologia.

Aos professores de minha banca de qualificação, Prof. Dr. Fernando Bacal, Dra. Maria Del Pilar e Dr. Marco Stephan Lofrano Alves, pelas sugestões valiosas que contribuíram para a finalização desta tese.

Às enfermeiras Fátima das Dores Cruz e Sara Michelly Gonçalves Brandão pelo suporte técnico no protocolo que, sem vocês, não teria acontecido.

Às funcionárias da Unidade de Insuficiência Cardíaca, Maria de Lourdes Ribeiro e Maria Cecília Alves Lima, pela presteza e atenção que sempre demonstraram. Vocês foram fundamentais para nosso projeto.

Aos amigos e companheiros de trabalho Bruno Biselli, Fabiana Goulart Marcondes Braga, Sandrigo Mangini, Luís Fernando Bernal da Costa Seguro, Iscara Wosniak de Campos e Fernanda Fatureto Borges pela troca de experiências e sugestões.

Aos médicos e pesquisadores da Unidade de Insuficiência Cardíaca, Dr. Paulo Roberto Chizzola, Dr. Victor Sarli Issa, Dr. Germano Emílio Conceição, Dra. Vera Salemi e Dr. Guilherme Veiga Guimarães, pelo acolhimento e aprendizado que me proporcionaram.

Aos amigos Dr. Marco Stephan Lofrano Alves, Dra. Cecilia Beatriz Bittencourt Viana Cruz e Dr. Márcio Sommer Bittencourt pela paciência e ensinamentos durante a execução deste projeto.

Aos companheiros do projeto, Mauro Rogério de Barros Wanderley Júnior e Vagner Oliveira Carvalho Rigaud pela dedicação voltada à realização desta tese.

À Comissão de Pós-Graduação e às Sras. Neusa R. Dini, Juliana L. Sobrinho, Mônica Souto e Valdecira Ferreira pelo auxílio e gentileza.

A todos os oncologistas que entenderam a importância dessa nova disciplina que emerge e que nos encaminharam as pacientes, tornando possível a realização do protocolo.

Aos médicos residentes e estagiários do Núcleo de Insuficiência Cardíaca e Transplante Cardíaco pela ajuda e incentivo durante todo o período.

À Profa. Dra. Ludhmila Abrahão Hajjar e ao Prof. Dr. Roberto Kalil Filho pela oportunidade de realizar a pesquisa no ICESP.

A todas as pacientes que participaram deste estudo.

Aos amigos e familiares pelo apoio, companheirismo e torcida.

À Dra. Maéve de Barros Correia, revisora da tese.

Aos funcionários da Comissão Científica do InCor.

À Fundação do Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão do auxílio à pesquisa e apoio financeiro a este projeto.

A Deus, pela saúde e pelo dom da vida.

**De tudo, fica a certeza de que é preciso continuar,  
fazendo de cada obstáculo um caminho,  
do sonho uma ponte,  
da procura um encontro,  
para que valha a pena existir.**

Autor Desconhecido

**Normatização adotada**

---

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento de sua publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3ª ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviatura dos títulos e periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

## Sumário

---

## SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

LISTA DE SÍMBOLOS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

RESUMO

ABSTRACT

1	INTRODUÇÃO.....	1
	1.1 Monitorização da cardiotoxicidade.....	7
	1.2 Métodos de imagem.....	9
	1.3 Prevenção primária da cardiotoxicidade.....	10
2	OBJETIVO.....	14
3	DESFECHOS E HIPÓTESE.....	16
	3.1 Desfecho primário.....	17
	3.2 Desfechos secundários.....	17
	3.3 Hipótese.....	18
4	MÉTODOS.....	19
	4.1 Desenho do estudo.....	20
	4.2 População do estudo.....	23
	4.3 Critérios de inclusão.....	24
	4.4 Critérios de exclusão.....	24
	4.5 Randomização, alocação e intervenção.....	25
	4.6 Procedimentos do estudo.....	25
	4.7 Análise estatística.....	28
5	RESULTADOS.....	30
	5.1 Dados gerais.....	31
	5.2 Desfecho primário.....	35
	5.3 Medidas do ecocardiograma.....	39
	5.4 Desfechos secundários.....	43
	5.5 Desfechos clínicos.....	46
	5.6 Eventos adversos.....	49
6	DISCUSSÃO.....	51
7	CONCLUSÃO.....	61
8	CONSIDERAÇÃO DA EMPRESA PRIVADA.....	63
9	ANEXOS.....	65
10	REFERÊNCIAS.....	99

**Listas**

---

## ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>ANT</b>	Antraciclina
<b>β-bloqueador</b>	Betabloqueador
<b>BNP</b>	Peptídeo Natriurético Cerebral
<b>BRA</b>	Bloqueador do Receptor de Angiotensina
<b>CECCY</b>	<i><u>C</u>arvedilol <u>E</u>ffect in <u>P</u>reventing <u>C</u>hemotherapy <u>I</u>nduced <u>C</u>ardiotoxicit<u>Y</u></i>
<b>CMQT</b>	Cardiomiopatia Dilatada Secundária a Quimioterápicos
<b>DCV</b>	Doenças cardiovasculares
<b>DDVE</b>	Diâmetro Diastólico do Ventrículo Esquerdo
<b>DLP</b>	Dislipidemia
<b>DM</b>	Diabetes Mellitus
<b>DNA</b>	Ácido Desoxirribonucleico
<b>DOX</b>	Doxorrubicina
<b>DP</b>	Desvio Padrão
<b>DSVE</b>	Diâmetro Sistólico do Ventrículo Esquerdo
<b>FAPESP</b>	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
<b>FEVE</b>	Fração de Ejeção do Ventrículo Esquerdo
<b>HAS</b>	Hipertensão Arterial Sistêmica
<b>HER2</b>	Receptor tipo 2 do fator de crescimento epidérmico humano
<b>IC</b>	Insuficiência Cardíaca
<b>ICESP</b>	Instituto do Câncer do Estado de São Paulo
<b>IECA</b>	Inibidor da Enzima Conversora da Angiotensina
<b>IMC</b>	Índice de Massa Corpórea
<b>InCor</b>	Instituto do Coração da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
<b>JACC</b>	Journal of the American College of Cardiology
<b>Ln</b>	log natural
<b>NT-ProBNP</b>	N-terminal do pró-hormônio do peptídeo natriurético do tipo B
<b>PA</b>	Pressão Arterial
<b>TCLE</b>	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

<b>TnC</b>	Troponina C
<b>TnI</b>	Troponina I
<b>TnT</b>	Troponina T
<b>USP</b>	Universidade de São Paulo
<b>VE</b>	Ventrículo Esquerdo

## **SÍMBOLOS**

<b>%</b>	porcentagem
<b>&lt;</b>	menor que
<b>&gt;</b>	maior que
<b>≥</b>	maior ou igual a
<b>bpm</b>	batimentos por minuto
<b>mg</b>	miligrama
<b>mg/mL</b>	miligrama por mililitro
<b>min</b>	minuto
<b>mL</b>	mililitro
<b>mm</b>	milímetro
<b>mmHg</b>	milímetros de mercúrio
<b>ng/mL</b>	nanograma por mililitro
<b>pg/mL</b>	picograma por mililitro

## FIGURAS

<b>Figura 1 -</b>	Fisiopatologia da cardiotoxicidade .....	5
<b>Figura 2 -</b>	Desenho do estudo .....	22
<b>Figura 3 -</b>	Critérios de seleção e randomização .....	32
<b>Figura 4 -</b>	Incidência de cardiotoxicidade entre os grupos .....	36
<b>Figura 5 -</b>	Comparação da FEVE dos grupos carvedilol e placebo durante o tratamento quimioterápico .....	38
<b>Figura 6 -</b>	Medidas do diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo durante o tratamento quimioterápico .....	39
<b>Figura 7 -</b>	Medidas de troponina I durante o tratamento quimioterápico.....	44
<b>Figura 8 -</b>	Medidas do BNP durante o tratamento quimioterápico.....	44
<b>Figura 9 -</b>	Incidência de disfunção diastólica durante o tratamento quimioterápico.....	45
<b>Figura 10 -</b>	Medidas da pressão arterial sistólica durante o estudo .....	47
<b>Figura 11 -</b>	Medidas da pressão arterial diastólica durante o estudo .....	48
<b>Figura 12 -</b>	Medidas da frequência cardíaca durante o estudo .....	48

## TABELAS

<b>Tabela 1 -</b>	Definições de cardiotoxicidade .....	3
<b>Tabela 2 -</b>	Métodos para detecção da cardiotoxicidade .....	10
<b>Tabela 3 -</b>	Protocolo padrão de quimioterapia no ICESP .....	23
<b>Tabela 4 -</b>	Parâmetros obtidos por ecocardiografia .....	27
<b>Tabela 5 -</b>	Porcentagem de pacientes com as diferentes doses do carvedilol e placebo .....	33
<b>Tabela 6 -</b>	Características de base das pacientes .....	34
<b>Tabela 7 -</b>	Desfecho primário e desfechos secundários .....	37
<b>Tabela 8 -</b>	Medidas do diâmetro diastólico de ventrículo esquerdo.....	40
<b>Tabela 9 -</b>	Medidas do átrio esquerdo .....	40
<b>Tabela 10 -</b>	Medidas do septo interventricular .....	41
<b>Tabela 11 -</b>	Medidas da parede posterior .....	41
<b>Tabela 12 -</b>	Medidas do diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo .....	42
<b>Tabela 13 -</b>	Desfechos clínicos.....	47
<b>Tabela 14 -</b>	Efeitos adversos durante o tratamento .....	50

**Resumo**

---

Grinberg MSA. *Efeito do carvedilol na prevenção da cardiotoxicidade por antraciclinas: estudo randomizado, duplo-cego, placebo controlado (CECCY Trial)* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2018.

**Introdução:** O tratamento quimioterápico com antraciclina está associado à cardiotoxicidade. Sua prevenção primária com o uso de  $\beta$ -bloqueadores permanece controversa. O objetivo do presente estudo é avaliar o papel do carvedilol na prevenção da cardiotoxicidade relacionada ao tratamento com antraciclina. **Métodos:** estudo randomizado, duplo-cego, placebo controlado que incluiu 200 pacientes com câncer de mama, fração de ejeção ventricular esquerda (FEVE) preservada e uso de doxorubicina ( $240 \text{ mg/m}^2$ ) para receber carvedilol ou placebo até a conclusão da quimioterapia em proporção 1:1. O desfecho primário foi a redução  $>10\%$  da FEVE em seis meses. Os desfechos secundários foram o efeito do carvedilol nos marcadores de injúria miocárdica, troponina I (TnI) e peptídeo natriurético cerebral (BNP), e na disfunção diastólica. **Resultados:** O desfecho primário ocorreu em 14 (14,5%) pacientes do grupo carvedilol e em 13 (13,5%) do grupo placebo ( $p=1,0$ ). Não houve diferença nos valores da FEVE durante o tratamento quimioterápico ou nos valores de BNP entre os grupos. Houve diferença significativa entre os grupos na distribuição dos níveis de TnI ao longo do tempo, com menor pico de TnI no grupo carvedilol ( $p=0,003$ ). Além disso, houve menor incidência de disfunção diastólica no grupo carvedilol ( $p=0,039$ ). Foi observada tendência para menor aumento do diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo do início do tratamento até o final da quimioterapia no grupo carvedilol em relação ao placebo, respectivamente,  $44,1 \pm 3,64$  a  $45,2 \pm 3,2$  vs  $44,9 \pm 3,6$  a  $46,4 \pm 4,0$  mm ( $p=0,057$ ). **Conclusão:** A incidência de cardiotoxicidade com o uso de doses contemporâneas de ANT foi menor do que relatado previamente com doses mais elevadas. Neste cenário, a administração de carvedilol resultou em redução significativa da injúria miocárdica avaliada pelos níveis de troponina I e pelo aparecimento da disfunção diastólica. No entanto, essa redução não teve impacto na disfunção sistólica relacionada à cardiotoxicidade (NCT01724450).

**Descritores:** insuficiência cardíaca; cardiotoxicidade; prevenção de doenças; antagonistas adrenérgicos beta; troponina; antraciclinas

## **Abstract**

---

Grinberg MSA. *Effect of carvedilol in the prevention of chemotherapy-induced cardiotoxicity: results of a randomized, double blind, placebo-controlled trial (CECCY Trial)* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2018.

**Background:** Anthracycline (ANT) chemotherapy is associated with cardiotoxicity. Its prevention with  $\beta$ -blockers remains controversial. The aim of this prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled study was to evaluate the role of carvedilol in the prevention of early onset ANT cardiotoxicity. **Methods:** We randomized 200 patients with breast cancer and normal left ventricular ejection fraction (LVEF) referred for doxorubicin (240 mg/m<sup>2</sup>) to receive carvedilol or placebo until completion of chemotherapy. The primary end-point was a reduction >10% in LVEF at six months. Secondary outcomes were the effects of carvedilol on troponin I (TnI), BNP and diastolic dysfunction. **Results:** Primary end-point occurred in 14 (14.5%) patients in the carvedilol and in 13 (13.5%) in the placebo (p=1.0). No difference in changes of LVEF or BNP was noted between groups. There was a significant difference between groups on the TnI levels over time, with lower TnI levels in carvedilol group (p=0.003). Additionally, a lower incidence of diastolic dysfunction was seen in carvedilol group (p=0.039). A trend towards less pronounced increase in LV end-diastolic diameter during follow up was noted in the carvedilol group, respectively 44.1 $\pm$ 3.64 to 45.2 $\pm$ 3.2 vs 44.9 $\pm$ 3.6 to 46.4 $\pm$ 4.0 mm (p=0.057). **Conclusion:** In this largest clinical trial of  $\beta$ -blockers for prevention of early onset cardiotoxicity under contemporary doses of ANT, we noted a lower incidence of cardiotoxicity than higher doses. In this scenario, the use of carvedilol resulted in a significant reduction in troponin levels and diastolic dysfunction. However, this reduction had no impact on the incidence of cardiotoxicity-related myocardial systolic dysfunction (NCT01724450).

**Descriptors:** heart failure; cardiotoxicity; disease prevention; adrenergic beta-antagonists; troponin; anthracyclines.

# 1 Introdução

---

## 1 INTRODUÇÃO

As doenças cardíacas e as neoplasias são as principais causas de óbito geral nas populações brasileira <sup>(1)</sup> e americana <sup>(2)</sup>. Dentre as doenças cardíacas destaca-se a insuficiência cardíaca (IC), com altos índices de mortalidade a despeito dos avanços do tratamento farmacológico <sup>(1)</sup>. Aproximadamente 80% dos homens e 70% das mulheres com menos de 65 anos morrem dentro de oito anos após o diagnóstico de IC <sup>(3)</sup>.

Quanto às neoplasias em geral, a mortalidade tem decrescido ano a ano. A sobrevida em longo prazo de pacientes com câncer tem a perspectiva de se elevar em aproximadamente 30% na próxima década, com um número estimado de 18 milhões em 2022 somente nos Estados Unidos da América <sup>(4)</sup>. Esta melhora na sobrevida pode ser atribuída a diversas causas, entre eles: a detecção precoce das neoplasias, o controle dos fatores de risco e a melhora do tratamento quimioterápico.

Entretanto, os benefícios da quimioterapia podem ser ofuscados pelos efeitos colaterais dos medicamentos usados, destacando-se a cardiotoxicidade <sup>(5, 6)</sup>. Sua apresentação mais típica é a cardiomiopatia dilatada que se manifesta no curso do tratamento quimioterápico ou mais tardiamente, e essa doença habitualmente é refratária ao tratamento clínico <sup>(7-9)</sup>. A cardiomiopatia dilatada secundária a quimioterápicos (CMQT) responde por aproximadamente 1% de todas as cardiomiopatias dilatadas <sup>(10)</sup>.

A definição de cardiotoxicidade ainda não é universal e diversas explicações são descritas nos ensaios clínicos. Contudo, no geral, a cardiotoxicidade abrange um declínio da fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE). A Tabela 1 demonstra as diferentes definições de cardiotoxicidade utilizadas nos últimos anos.

**Tabela 1 -** Definições de cardiotoxicidade

Autor	Definição
<b>Alexander <i>et al.</i></b> <sup>(11, 12)</sup>	Leve: declínio na FEVE >10% Moderada: declínio na FEVE >15% para um valor absoluto de FEVE <45% Severa: insuficiência cardíaca (IC) sintomática
<b>Schwartz <i>et al.</i></b> <sup>(11, 13)</sup>	Declínio na FEVE >10% para um valor absoluto de FEVE <50%
<b>Cardiac Review and Evaluation Committee</b> <sup>(14)</sup>	Declínio da FEVE global ou mais severa no septo; Sinais e sintomas de IC; Declínio na FEVE ≥5% para um valor absoluto de FEVE <55% com sintomas de IC; declínio na FEVE ≥10% para um valor absoluto de FEVE <55%
<b>American Society of Echocardiography and European Association of Cardiovascular Imaging</b> <sup>(15)</sup>	Declínio na FEVE ≥10% para um valor absoluto de FEVE < 53%
<b>European Society of Cardiology</b> <sup>(16)</sup>	Declínio na FEVE ≥10% para um valor absoluto de FEVE <50%

De acordo com o tempo de aparecimento, a cardiotoxicidade pode ser classificada em três tipos: aguda, ocorrendo após uma dose ou um ciclo de antraciclina com início de tratamento; precoce, na qual ocorre em até um ano do tratamento quimioterápico; e, crônica, que aparece anos após o fim

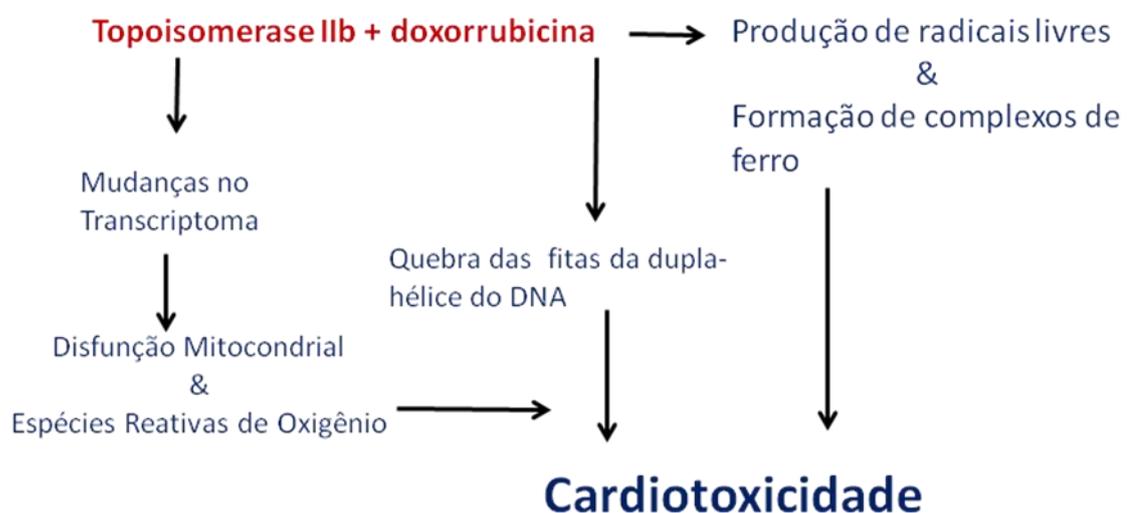
do tratamento quimioterápico. A maioria dos eventos cardíacos acontece no primeiro ano do tratamento quimioterápico, sendo uma forma clinicamente relevante de cardiotoxicidade, geralmente apresentando um quadro de cardiomiopatia dilatada, podendo gerar insuficiência cardíaca <sup>(17)</sup>.

Diversos tratamentos quimioterápicos estão associados à cardiotoxicidade, sendo os principais as antraciclinas (ANT) <sup>(18, 19)</sup>.

Representadas principalmente pela doxorubicina e epirrubicina, as antraciclinas são utilizadas em larga escala em tumores sólidos, como câncer de mama e osteossarcoma e nas neoplasias hematológicas <sup>(20)</sup>. São responsáveis pela cardiotoxicidade precoce e tardia, particularmente a insuficiência cardíaca, e são relacionadas à dose cumulativa (IC) <sup>(7-9)</sup>.

A ação quimioterápica das antraciclinas é derivada da indução de apoptose em células cancerígenas, podendo também induzir apoptose em células normais. Sua lesão cardíaca envolve a geração de radicais livres por mecanismos enzimáticos da cadeia respiratória mitocondrial assim como uma via não enzimática que incorpora ferro. Os radicais livres e o ferro podem lesar a membrana celular ou macromoléculas, aumentando a permeabilidade da membrana celular. Os miócitos são mais suscetíveis à lesão por radicais livres devido ao seu alto metabolismo oxidativo e às poucas defesas antioxidantes <sup>(21)</sup>. Esses efeitos cardiotóxicos causados pelas ANT são diretamente proporcionais às doses cumulativas dos quimioterápicos <sup>(22)</sup>.

Além disso, é descrita a ligação da doxorrubicina (DOX) com a enzima topoisomerase IIb, uma enzima regulatória do DNA. A ligação DOX-topoisomerase IIb pode levar à quebra das fitas duplas do DNA, à disfunção mitocondrial e à liberação de espécies reativas de oxigênio, culminando na lesão miocárdica aguda e crônica, gerando a disfunção do ventrículo esquerdo (Figura 1) <sup>(23, 24)</sup>.



**Figura 1 -** Fisiopatologia da cardiotoxicidade

Observa-se algum grau de disfunção ventricular em metade dos pacientes cerca de 10 a 20 anos após o tratamento <sup>(25)</sup>, e a IC sintomática desenvolve-se em 5% dos pacientes, especialmente quando recebem doses superiores a 550 mg/m<sup>2</sup> de doxorrubicina <sup>(26)</sup>.

No tratamento para o câncer primário de mama <sup>(6)</sup>, no qual a ANT é a base do tratamento quimioterápico, o uso desse fármaco provocou redução acima de 10% na fração ejeção do ventrículo esquerdo em 10 a 50% das

pacientes tratadas, mesmo com uso de doses consideradas seguras <sup>(27)</sup>. A incidência de IC reportadas são de 3%, 7% e 18% em pacientes que receberam uma dose cumulativa de 400, 500 ou 700mg/m<sup>2</sup>, respectivamente <sup>(28)</sup>.

Os principais fatores de risco para cardiotoxicidade em pacientes que recebem ANT são: dose cumulativa <sup>(29)</sup>, sexo feminino, extremos de idade (<18 anos ou >65 anos), insuficiência renal, radioterapia concomitante ou prévia, associação com outros tratamentos quimioterápicos principalmente o trastuzumab <sup>(30)</sup>, e antecedentes mórbidos como hipertensão arterial, doença cardiovascular pré-existente e fatores genéticos <sup>(31)</sup>.

Outro agente quimioterápico com alto potencial de cardiotoxicidade é o trastuzumab. Essa medicação é um anticorpo monoclonal que age em pacientes com carcinoma de mama metastático que expressam a proteína HER2. A cardiotoxicidade causada pelo trastuzumab é reversível, ou seja, ao se interromper o tratamento com a droga existe uma tendência a elevação e normalização da função cardíaca.

Acompanhando, nos últimos anos, a crescente necessidade da interação entre oncologista e cardiologista, ocorreu a emergente e rápida adoção da cardio-oncologia, uma ciência multidisciplinar, com práticas clínicas que têm como objetivo aumentar o conhecimento sobre a cardiotoxicidade causada pela terapia do tratamento do câncer e possibilitar sua monitorização, tratamento e prevenção <sup>(31)</sup>.

## 1.1 MONITORIZAÇÃO DA CARDIOTOXICIDADE

O desenvolvimento de estratégias para monitorar a lesão cardíaca induzida por antraciclinas tem sido um desafio. A biópsia endomiocárdica é o padrão ouro e existe um sistema de graduação da toxicidade, demonstrando que o dano miocárdico já ocorre com doses de 180 g/m<sup>2</sup> <sup>(32)</sup>. Esse procedimento, muito sensível para detecção de injúria miocárdica, é invasivo, necessita de um médico treinado, e o achado histológico pode não estar correlacionado com o quadro clínico. Por isso, outras formas de monitorização da IC têm sido aceitas.

Biomarcadores são utilizados para rastrear a cardiomiopatia induzida por antraciclinas com o fim de identificar precocemente, avaliar e acompanhar a cardiotoxicidade.

A troponina I é uma proteína exclusiva das células miocárdicas e está muito bem estabelecida como marcador de injúria miocárdica <sup>(33)</sup>. Já foi demonstrado que o aumento da TnI após o tratamento quimioterápico é um indicador de risco para eventos cardíacos <sup>(34)</sup>. Possui alto valor preditivo negativo, permitindo o excesso de monitorização em longo prazo com métodos de maior custo e/ou invasivos, como o ecocardiograma, a ressonância nuclear magnética e a angiocardiografia <sup>(35)</sup>. A elevação da TnI após um mês do tratamento quimioterápico foi relacionada à maior incidência de eventos cardíacos quando comparada a um aumento mais

agudo e transitório <sup>(34)</sup>, podendo sugerir uma lesão miocárdica mais persistente e significativa.

A troponina ultrasensível, disponibilizada recentemente, tem maior acurácia para evidenciar a injúria miocárdica e é um preditor prognóstico independente em pacientes com IC. Poucos estudos relacionam a troponina ultrasensível com a cardiotoxicidade induzida por quimioterápicos <sup>(36, 37)</sup>.

Outro marcador cardíaco a ser considerado, o Peptídeo Natriurético Cerebral (BNP), é um hormônio secretado predominantemente nos ventrículos cardíacos que se apresenta em altos níveis em pacientes com IC. É sintetizado em resposta à distensão da parede ventricular e à ativação neuro-hormonal. O BNP não é somente um bom marcador de diagnóstico de IC, mas também seu indicador de gravidade e prognóstico <sup>(38)</sup>. Existem diversos estudos que tentaram relacionar o aumento de BNP com a cardiotoxicidade após quimioterápicos, porém a maioria deles incluiu pequena amostra de doentes com diferentes tipos de câncer, em diferentes estágios e tratados com múltiplos agentes quimioterápicos, não sendo ainda possível definir as indicações de BNP para avaliação da cardiotoxicidade por quimioterápicos de modo geral <sup>(39)</sup>.

## 1.2 MÉTODOS DE IMAGEM

A avaliação da função ventricular por métodos de imagem antes do início da quimioterapia é aconselhável <sup>(40)</sup>.

Quando encontrados valores da FEVE <50% recomenda-se não iniciar drogas com alto potencial de cardiotoxicidade, sendo essencial discutir com o oncologista os riscos e os benefícios do tratamento quimioterápico e possibilidade de indicar esquema quimioterápico com menor risco cardiovascular.

Para seguimento de pacientes em vigência de quimioterapia e avaliação da função ventricular são aceitos: a ecodopplercardiografia bidimensional, a ressonância nuclear magnética e a ventriculografia radioisotópica. Esses métodos são capazes de detectar alterações basais da função cardíaca. O monitoramento periódico da cardiotoxicidade durante os ciclos de infusão é estratégia fundamental para prevenir lesões miocárdicas graves e irreversíveis, embora não exista uma padronização de rotina para a constatação da cardiotoxicidade durante o tratamento quimioterápico. A Tabela 2 demonstra os principais métodos para a detecção da cardiotoxicidade, suas vantagens e limitações. É importante seguir o mesmo método de avaliação da cardiotoxicidade durante todo seguimento do paciente.

**Tabela 2 - Métodos para detecção da cardiotoxicidade**

<b>Método</b>	<b>Critério diagnóstico atual</b>	<b>Vantagens</b>	<b>Limitações</b>
Ecocardiograma; - Medida da FEVE em 3D - Medida da FEVE em 2D com método Simpson - <i>Strain</i> longitudinal global	- FEVE: queda de 10 pontos percentuais para um valor abaixo do limite inferior da normalidade - <i>Strain</i> longitudinal Global: redução >15% do valor basal	- Elevada disponibilidade - Não utilização de radiação - Avaliação hemodinâmica e de outras estruturas cardíacas	- Variabilidade entre observadores - Qualidade de imagem - <i>Strain</i> : variabilidade entre observadores e necessidade técnica
Ventriculografia radioisotópica	Queda >10 pontos percentuais na FEVE para um valor <50%	- Reprodutibilidade	- Exposição cumulativa de radiação - Limitada informação estrutural e funcional em outras estruturas cardíacas
Ressonância Nuclear Magnética	Sem uma definição universal. Utilizada para avaliar queda da FEVE principalmente como confirmatória dos outros métodos	- Acurácia e reprodutibilidade - Detecção de fibrose miocárdica utilizando o MAPA T1 e avaliação da fração de volume extracelular	- Disponibilidade limitada - Adaptação do paciente
Biomarcadores cardíacos: - Troponina T - Troponina I Ultrassensível - BNP - NT-próBNP	Elevação dos marcadores	- Acurácia e reprodutibilidade - Elevada disponibilidade - Alta sensibilidade	- Evidência insuficiente para estabelecer significância nas elevações - Variações de diferentes kits - Papel da monitorização de rotina ainda não está bem estabelecido

Fonte: Adaptado de Zamorano *et al.* <sup>(15)</sup>.

FEVE – fração de ejeção do ventrículo esquerdo; 3D – tridimensional; 2D – bidimensional; BNP – peptídeo natriurético cerebral; NT-proBNP - N-terminal do pró-hormônio do peptídeo natriurético do tipo B.

### 1.3 PREVENÇÃO PRIMÁRIA DA CARDIOTOXICIDADE

Duas abordagens são realizadas na prevenção primária da cardiotoxicidade secundária às antraciclina. A primeira é a redução do potencial cardiotoxíco do quimioterápico através da limitação da dose

cumulativa da medicação, administração com infusão contínua, utilização da forma lipossomal ou emprego de um derivado menos cardiotoxico da droga (epirrubicina ou idarrubicina) <sup>(21)</sup>. A segunda abordagem é o uso de fármacos cardioprotetores como dexrazoxane (agente quelante de ferro) e as medicações cardiovasculares como os  $\beta$ -bloqueadores, os inibidores da enzima conversora da angiotensina (IECA), os bloqueadores do receptor da angiotensina (BRA) e as estatinas <sup>(41)</sup>.

O momento e a seleção do uso dos fármacos cardiovasculares para prevenção primária da cardiotoxicidade secundária às antraciclina dependem de inúmeras variáveis, como: doença cardiovascular pré-existente, antecedente de quimioterapia ou radioterapia e presença de fatores de risco para doenças cardiovasculares (DCV). O controle dos fatores de risco clássicos para as DCV é mandatório e a introdução das medicações cardioprotetoras deve ser individualizada conforme as variáveis citadas <sup>(15, 28)</sup>.

As terapêuticas para IC orientadas pelas diretrizes das Sociedades de Cardiologia são, muitas vezes, extrapoladas para os pacientes com cardiomiopatia induzida por quimioterapia, mesmo que os dados de ensaios clínicos randomizados não estejam disponíveis. Isto inclui o uso de  $\beta$ -bloqueadores, que é o tratamento principal de IC com base em seus efeitos benéficos sobre a ativação neuro-humoral, os sintomas e o prognóstico <sup>(42, 43)</sup>.

O carvedilol é um  $\beta$ -bloqueador não seletivo com propriedades  $\alpha$ -bloqueadoras. Age na função mitocondrial das células cardíacas e possui

propriedades antioxidantes, o que pode melhorar a função cardíaca e a resistência à agressão.

A tentativa de estudar o carvedilol para prevenir a cardiotoxicidade secundária à doxorubicina surgiu de sua atividade antioxidante intrínseca associada a seu efeito de bloqueio beta-adrenérgico <sup>(44)</sup>. Os primeiros estudos nesse cenário aconteceram em modelos animais, em que se demonstrou que a influência protetora do carvedilol foi atribuída aos efeitos antioxidantes e às propriedades de diminuição dos lipídios <sup>(45)</sup>. O poder benéfico do carvedilol sobre a função mitocondrial foi avaliada posteriormente, sendo comprovado que ele diminui a extensão da vacuolização celular nos cardiomiócitos e previne o efeito inibitório da doxorubicina na respiração mitocondrial no coração. A doxorubicina diminui a capacidade do carregamento de cálcio na mitocôndria cardíaca e o carvedilol poderia evitar esse mecanismo <sup>(46)</sup>.

Apesar da lógica fisiopatológica, o emprego de  $\beta$ -bloqueadores para prevenção primária da cardiotoxicidade continua controverso. Os dados que sustentam seu uso nesse contexto são derivados de: estudo prospectivo observacional <sup>(47)</sup>, outro estudo não cego que testou agentes combinados (com enalapril e carvedilol) <sup>(48)</sup>, um trabalho único cego <sup>(49)</sup> e uma pesquisa prospectiva duplo-cego com número limitado de pacientes <sup>(50)</sup>. Por outro lado, o ensaio clínico randomizado PRADA (*Prevention of cardiac dysfunction during adjuvant breast cancer therapy: a 2x2 factorial, randomized, placebo-controlled, double blind clinical trial of candesartan and metoprolol*) demonstrou que o uso de succinato de metoprolol não foi

associado à redução da incidência de cardiotoxicidade <sup>(51)</sup>. Esse estudo, porém, levantou uma nova questão sobre o ‘efeito de classe’ visto que metoprolol e carvedilol apresentam propriedades farmacológicas distintas <sup>(52, 53)</sup>. Além disso, uma meta-análise sugeriu que o benefício do  $\beta$ -bloqueador pode ser mais pronunciado em quem o recebeu estando sob maiores doses cumulativas de antraciclinas <sup>(54)</sup>.

Em estudos não randomizados de prevenção secundária de cardiotoxicidade com enalapril e carvedilol, a recuperação da fração de ejeção do ventrículo esquerdo foi reportada naqueles pacientes submetidos a tratamento precoce, logo após a apresentação clínica inicial de cardiotoxicidade <sup>(17, 55)</sup>.

Em face da falta de evidência que apoie o uso de  $\beta$ -bloqueadores para a prevenção primária da cardiotoxicidade induzida por antraciclina <sup>(9, 47, 56)</sup>, realizamos o estudo CECCY (Carvedilol Effect in Preventing Chemotherapy Induced Cardiotoxicity).

## **2 Objetivo**

---

## 2 OBJETIVO

O objetivo do *CECCY Trial* foi avaliar o efeito do carvedilol na prevenção primária da cardiotoxicidade induzida por antraciclina (doxorubicina) em pacientes com câncer de mama.

## **3 Desfechos e Hipótese**

---

### **3 DESFECHOS E HIPÓTESE**

#### **3.1 DESFECHO PRIMÁRIO**

- O desfecho primário do estudo foi a ocorrência de cardiotoxicidade, definida como queda na fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE) de pelo menos 10% do início da quimioterapia até seis meses após o início do tratamento <sup>(12)</sup>.

#### **3.2 DESFECHOS SECUNDÁRIOS**

Os desfechos secundários incluíram:

- Avaliação da lesão miocárdica, definida por alterações dos níveis de troponina I ultrasensível (TnI >0,04 ng/mL) e de BNP do início da quimioterapia até seis meses após o início do tratamento.
- Ocorrência de disfunção diastólica do início da quimioterapia até seis meses após o início do tratamento <sup>(57)</sup>.

### **3.3 HIPÓTESE**

Partiu-se da hipótese de que o carvedilol diminuiria a incidência de cardiotoxicidade caracterizada pela queda  $\geq 10\%$  na FEVE e preveniria o aparecimento de injúria miocárdica, avaliada através da troponina I, do BNP e do aparecimento da disfunção diastólica em seis meses do início do tratamento quimioterápico.

## **4 Métodos**

---

## 4 MÉTODOS

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética do Instituto do Coração (InCor) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo como subestudo do projeto "**Estudo duplo-cego randomizado e controlado sobre o efeito do betabloqueador na prevenção do desenvolvimento de cardiomiopatia secundária a quimioterápicos**" (CAAE 35903412.9.1001.0068). Todos os participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). O estudo também foi aprovado pela comissão Científica e Coordenação de Pós-Graduação em Cardiologia (SDC 3571/10/160) e recebeu apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP – 2010/18078-8). Também foi registrado na base de estudos *CinicalTrials* (NCT01724450).

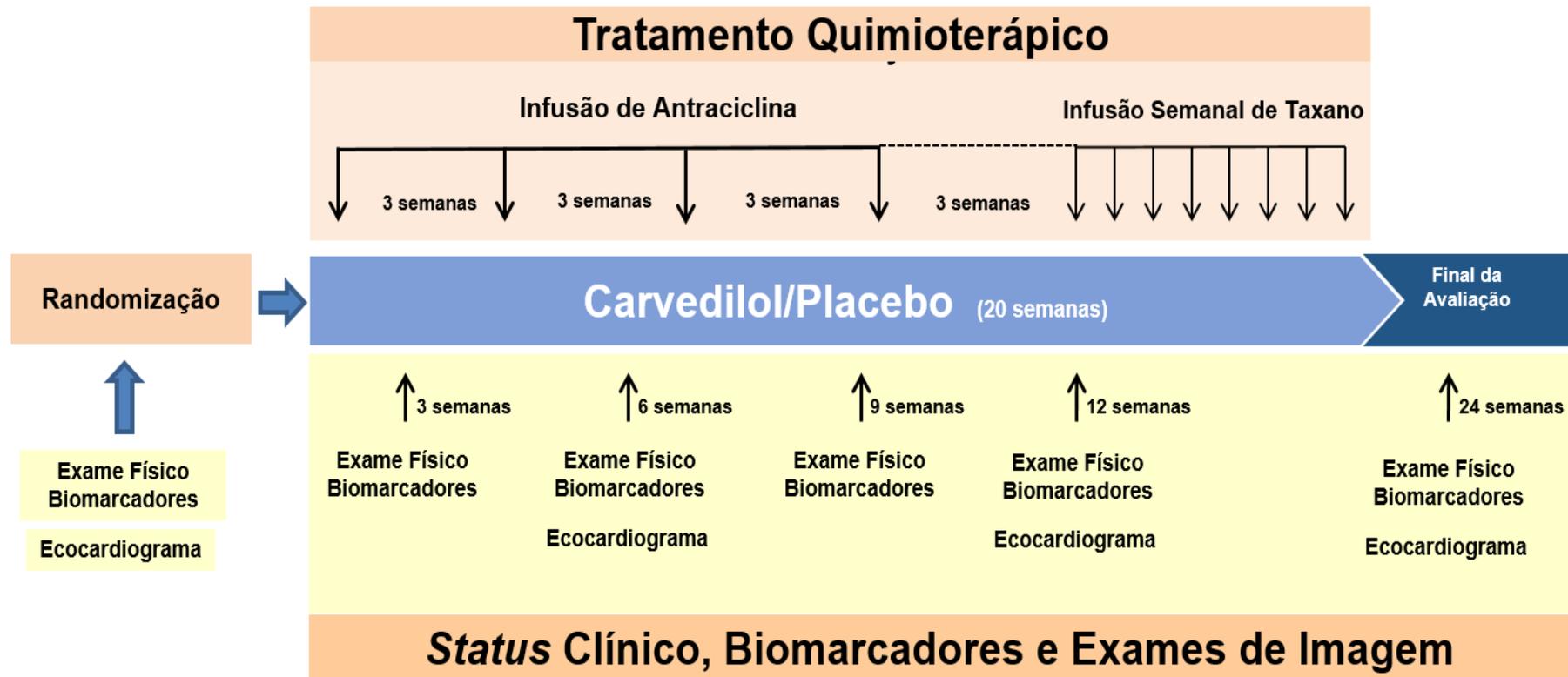
### 4.1 DESENHO DO ESTUDO

O Carvedilol Effect in Preventing Chemotherapy Induced Cardiotoxicity (CECCY) é um estudo prospectivo, duplo-cego, randomizado, controlado por placebo, realizado na Unidade de Insuficiência Cardíaca do Instituto do Coração (InCor) da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (São Paulo, Brasil) e no Instituto do Câncer do Estado de São Paulo (ICESP). As pacientes foram encaminhadas através do ICESP e

avaliadas pela Equipe de Insuficiência Cardíaca do Instituto do Coração, responsável pela alocação, randomização, otimização da dose de carvedilol / placebo e seguimento das pacientes. Os dados foram coletados, gerenciados e analisados pela mesma equipe ao final do trabalho.

O desenho do estudo (Figura 2) foi aprovado pela comissão científica e comissão de ética de ambas as instituições. Todas as participantes foram informadas sobre os objetivos da pesquisa, seu protocolo e as alternativas de tratamento envolvidas, e assinaram o termo de consentimento informado. O registro na base de dados ClinicalTrials.gov (NCT01724450) ocorreu antes do início do estudo.

As pacientes selecionadas para participar do estudo foram randomizadas para intervenção (carvedilol) ou placebo. Aquelas alocadas no grupo intervenção receberam carvedilol no início da quimioterapia, de maneira escalonada e progressiva a cada três semanas, iniciando-se com 3,125 mg duas vezes ao dia, que foi então aumentada para 6,25 mg duas vezes ao dia, depois para 12,5 mg duas vezes ao dia e, em seguida, para a dose máxima de 25 mg a cada 12 horas (50 mg/dia) ou até o aparecimento de sintomas ou FC <60 bpm, ou pressão arterial sistólica <110 mmHg, até completar 20 semanas de tratamento, sendo suspenso com o fim da aplicação dos quimioterápicos (20 semanas). As pacientes alocadas no grupo placebo receberam a medicação de maneira presumidamente escalonada e progressiva de modo equivalente ao grupo intervenção. O placebo também foi mantido até completar o tratamento quimioterápico (20 semanas).



**Figura 2 -** Desenho do estudo. Os biomarcadores foram coletados após os ciclos de antraciclina. Foi otimizada a dose de carvedilol/placebo a cada três semanas até o máximo de 50 mg/dia, ou aparecimento de sintomas, ou frequência cardíaca <60 batimentos por minuto, ou pressão arterial sistólica <110 mmHg. Carvedilol e placebo continuaram até o fim da quimioterapia (20 semanas). mmHg – milímetros de mercúrio.

## 4.2 POPULAÇÃO DO ESTUDO

Foram abordadas consecutivamente todas as pacientes com câncer de mama e terapia que incluiu antraciclina (doxorrubicina), ciclofosfamida e taxano, de abril de 2013 até janeiro de 2017, atendidas no ICESP.

O protocolo padrão de quimioterapia compreendeu quatro ciclos de ciclofosfamida 600 mg/m<sup>2</sup> e doxorrubicina 60 mg/m<sup>2</sup> a cada 21 dias (dose total de 240 mg/m<sup>2</sup>), seguidos de paclitaxel 80 mg/m<sup>2</sup> semanalmente por oito semanas (Tabela 3).

**Tabela 3** - Protocolo padrão de quimioterapia no ICESP

<b>Regime</b>	<b>Ciclofosfamida</b>	<b>Doxorrubicina</b>	<b>Paclitaxel/Docetaxel</b>
<b>AC→T</b>	600 mg/m <sup>2</sup> em 30 minutos a cada 21 dias	60 mg/m <sup>2</sup> em 30 minutos a cada 21 dias	Paclitaxel – 80 mg/m <sup>2</sup> em 2 horas/semana por 8 semanas

AC – antraciclina; T -taxano

### 4.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

- Idade de pelo menos 18 anos;
- Diagnóstico de adenocarcinoma de mama invasivo, com indicação de terapia adjuvante ou neoadjuvante com antraciclina (doxorubicina), ciclofosfamida e paclitaxel.

### 4.4 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

- Impossibilidade de avaliação da função ventricular esquerda;
- História prévia de quimioterapia ou radiação;
- Sintomas de insuficiência cardíaca;
- Diagnóstico prévio de cardiomiopatia, doença arterial coronariana ou doença mitral ou aórtica de grau moderado a severo;
- Uso atual de inibidor da enzima conversora da angiotensina (IECA), bloqueador dos receptores da angiotensina (BRA) ou  $\beta$ -bloqueador;
- Contraindicação para uso de  $\beta$ -bloqueador;
- Pacientes com expressão de HER2.

#### **4.5 RANDOMIZAÇÃO, ALOCAÇÃO E INTERVENÇÃO**

A randomização ocorreu na proporção de 1:1 para receber carvedilol ou placebo e incluiu uma estratificação pré-especificada de acordo com o estado da menopausa considerando as potenciais diferenças de risco cardiovascular entre pacientes pré e pós-menopausa <sup>(58)</sup>. A randomização foi realizada utilizando uma lista de randomização baseada num programa de computador. A sequência de randomização foi em blocos de quatro, incluindo duas pacientes com carvedilol e duas com placebo. A ordem de carvedilol e placebo dentro de cada bloco foi atribuída aleatoriamente. Ambas, randomização e alocação das pacientes, foram cegas para pacientes e pesquisadores. Os dados sobre randomização e alocação foram mantidos sob custódia da farmácia de pesquisa do ICESP que era independente do estudo.

#### **4.6 PROCEDIMENTOS DO ESTUDO**

Todas as pacientes elegíveis foram submetidas a um ecocardiograma transtorácico basal e testes laboratoriais de rotina que incluíram biomarcadores troponina I e BNP antes da randomização. Cumpridos os critérios de elegibilidade, a randomização era realizada e a medicação iniciada no primeiro dia de quimioterapia.

As medidas sequenciais de biomarcadores foram feitas após cada ciclo de doxorubicina (basal, três, seis, nove, 12 e 24 semanas). O ecocardiograma foi realizado na metade do tratamento com doxorubicina (seis semanas), após o término da doxorubicina (12 semanas) e na avaliação final (24 semanas). Os acompanhamentos com ecocardiografia, troponina I e BNP estão descritos na Figura 2.

A determinação quantitativa de TnI foi obtida por meio de imunoenensaio em sanduíche, em três etapas, usando tecnologia quimioluminescente direta e quantidades constantes de dois anticorpos monoclonais. Um reagente auxiliar foi incluído para reduzir a ligação não específica usando o *kit* comercial ADVIA Centaur® TnI-Ultra (Siemens Healthcare Diagnostics, Tarrytown, EUA). O nível de detecção é de 0,006 ng/mL. Os níveis abaixo de 0,006 foram relatados como 0,005 ng/mL. O percentil 99% da TnI no estudo foi abaixo de 0,04 ng/ml.

A concentração plasmática de BNP foi obtida por meio de imunoenensaio em sanduíche de dois passos utilizando tecnologia quimioluminescente direta e quantidades constantes de dois anticorpos monoclonais usando o *kit* comercial ADVIA Centaur® (Siemens Medical Solutions Diagnostic, Los Angeles, EUA). Os resultados são apresentados em pg/mL. O nível de detecção é de 2 pg/mL e os níveis abaixo foram relatados como 1 pg/mL.

O ecocardiograma transtorácico foi realizado com o sistema comercialmente disponível (Envisor Philips, Philips Healthcare, Bothell, EUA). Todas as medidas foram feitas e relatadas de acordo com as

recomendações da *American Society of Echocardiography* <sup>(59)</sup> (Tabela 4). Todos os ecocardiografistas que realizaram os exames no ICESP eram certificados e com ampla experiência na área e, além disto, eram cegos para a avaliação das pacientes. A análise ecocardiográfica incluiu: 1) medidas das dimensões, espessuras de parede e volumes intracavitários; 2) avaliação das funções sistólica e diastólica do VE; 3) avaliação das velocidades de fluxos intracavitários. A fração de ejeção do VE foi calculada pelo método de Simpson.

**Tabela 4 -** Parâmetros obtidos por ecocardiografia

Parâmetros	Descrição
Morfométricos	
DSVE, mm	Dimensão sistólica do VE
DDVE, mm	Dimensão diastólica VE
SPT, mm	Espessura septal
PP, mm	Espessura da parede posterior
AE, mm	Dimensão anteroposterior do átrio esquerdo
Doppler	
E, cm/s	Velocidade E
A, cm/s	Velocidade A
E/A	Relação E/A
TD onda E, ms	Tempo de desaceleração da onda E
e', cm/s	Velocidade e'
E/e'	Relação E/e'
Função VE	
FE, %	Fração de ejeção pelo método de Simpson

## 4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O tamanho da amostra deste estudo foi calculado com base na incidência esperada de cardiotoxicidade de 23% com o uso de antraciclina e na redução esperada para 8% com a adição de  $\beta$ -bloqueadores <sup>(49)</sup>. Estimada perda de seguimento em 5% e nível de significância estatística de 95% e 80% de poder estatístico.

As variáveis quantitativas foram expressas como média  $\pm$  desvio padrão quando distribuídas normalmente e como medianas e quartis se a hipótese de normalidade fora rejeitada. Para analisar as associações entre variáveis categóricas utilizamos o teste exato de Fisher e suas correlações. Foram considerados resultados significativos cujos níveis descritivos (valores de p) eram inferiores a 0,05.

Para troponinas e níveis de BNP realizamos uma transformação de log natural (ln). As variáveis categóricas foram comparadas utilizando o teste exato de Fisher, incluindo a comparação da prevalência de disfunção ventricular esquerda no final da quimioterapia e ocorrência de efeitos colaterais. Para os resultados clínicos, realizamos um teste log-rank para comparar a incidência de eventos entre grupos. Para a análise longitudinal dos parâmetros ecocardiográficos e ln transformado das troponinas e BNP, traçamos a média e os intervalos de confiança de 95% estratificados entre os grupos de tratamento em gráficos lineares. Em seguida, construímos modelos longitudinais de efeitos mistos lineares, incluindo e interação de

tempo e grupo de tratamento com interceptação fixa, assumindo que as medidas basais de cada preditor foram semelhantes entre os grupos, uma vez que o estudo foi randomizado. Se a interação entre grupo e tempo fosse significativa, a diferença entre os grupos seria considerada significativa.

Devido à não linearidade anteriormente conhecida da evolução da troponina ao longo do tempo neste cenário, também observada em nossos dados, pré-especificamos o modelo adicional para a avaliação do log-transformado dos níveis de troponina no decorrer do tempo. Aqui, o tempo foi incluído como função quadrática pela inclusão de variáveis de tempo de primeira e segunda ordem para acomodar o comportamento bifásico dos níveis de troponina em cada grupo. Então, avaliamos a interação do tempo e do tempo ao quadrado com o grupo de tratamento para analisar as diferenças longitudinais na distribuição do ln-troponina ao longo do tempo. Neste modelo, as diferenças nas mudanças nos níveis de ln-troponina ao longo do tempo foram consideradas significativas. Com o objetivo de fornecer um único nível geral de significância para a diferença nos níveis de TnI, construímos um modelo sem termos de interação e comparamos com um modelo incluindo ambos os termos de interação usando o teste da razão de verossimilhança. A análise estatística foi realizada utilizando Stata 14.0 (StataCorp, EUA) e o nível de significância foi definido como  $p < 0,05$ .

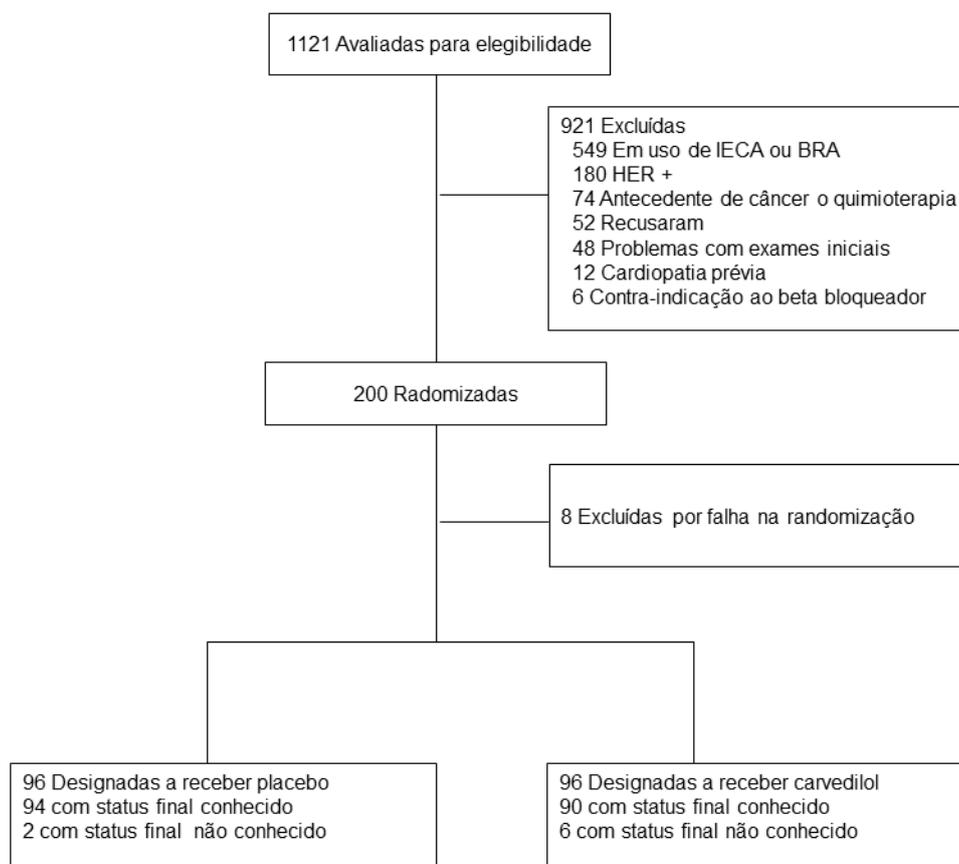
## **5 Resultados**

---

## 5 RESULTADOS

### 5.1 DADOS GERAIS

De abril de 2013 a janeiro de 2017 examinamos 1.121 pacientes consecutivas portadoras de câncer de mama e referidas à quimioterapia com ANT (doxorrubicina) no Instituto do Câncer de São Paulo. Destas, 921 foram excluídas principalmente devido ao uso prévio de IECA, BRA ou  $\beta$ -bloqueador. Das 300 pacientes elegíveis, 100 não foram randomizados devido à recusa ou a restrições de tempo relacionadas ao início da quimioterapia. Foram randomizadas 200 pacientes. Oito foram excluídas pós randomização devido a erro no nome, erro no estado de menopausa ou à mudança do tratamento quimioterápico. Consequentemente, 192 pacientes foram distribuídas aleatoriamente para receber carvedilol ou placebo para análise de intenção de tratar (Figura 3). A distribuição das doses do carvedilol e placebo entre os grupos estão descritas na Tabela 5. As características basais (Tabela 6) das pacientes bem como as doses do carvedilol e placebo foram equilibradas entre os grupos ( $p=ns$ ).



**Figura 3 -** Critérios de Seleção e Randomização. A análise por intenção de tratar incluiu todas as pacientes que preenchem os critérios de inclusão e apresentaram randomização válida. As exclusões por randomização inválida representam pacientes que tiveram mudança no esquema quimioterápico (quatro), ou apresentaram erro no estado da menopausa (quatro)

**Tabela 5** - Porcentagem de pacientes com as diferentes doses do carvedilol e placebo

<b>Dose da medicação (mg/dia)</b>	<b>Carvedilol (n=96)</b>	<b>Placebo (n=96)</b>
6,25 mg/dia – n (%)	21 (21,8)	24 (25,0)
12,5 mg/dia – n (%)	33 (34,3)	19 (19,7)
25 mg/dia – n (%)	27 (28,1)	32 (33,3)
50 mg/dia – n (%)	9 (9,3)	18 (18,7)

n= número de pacientes

**Tabela 6 -** Características de base das pacientes

<b>Características</b>	<b>Carvedilol (n=96)</b>	<b>Placebo (n=96)</b>
Idade (anos)	50,8 ± 10,10	52,9 ± 9,05
Menopausa, n (%)		
Pré-menopausa	49 (51)	48 (50)
Pós-menopausa	47 (49)	48 (50)
Terapia, n (%)		
Neoadjuvante	56 (58,3)	42 (43,7)
Adjuvante	40 (41,6)	52 (54,1)
Paliativo	-	2 (2,0)
Índice de Massa Corpórea (kg/m <sup>2</sup> )	27,28 ± 5,04	27,48 ± 5,79
Fatores de risco cardiovascular, n (%)		
Hipertensão arterial	3 (3,1)	9 (9,3)
Diabetes mellitus	4 (4,1)	5 (5,2)
Hipercolesterolemia	7 (7,2)	4 (4,1)
Tabagista atual ou passado	24 (25)	26 (27)
Pressão arterial sistólica (mmHg)	120,3 ± 16,6	124,8 ± 17,2
Pressão arterial diastólica (mmHg)	77,9 ± 11,9	78,4 ± 10,2
Frequência Cardíaca (bpm)	80 ± 14,1	82,4 ± 12,6
Troponina I Sérica (ng/mL)	<0,006	<0,006
BNP Sérico (pg/mL)	16 (8,25-25)	12 (6-21)

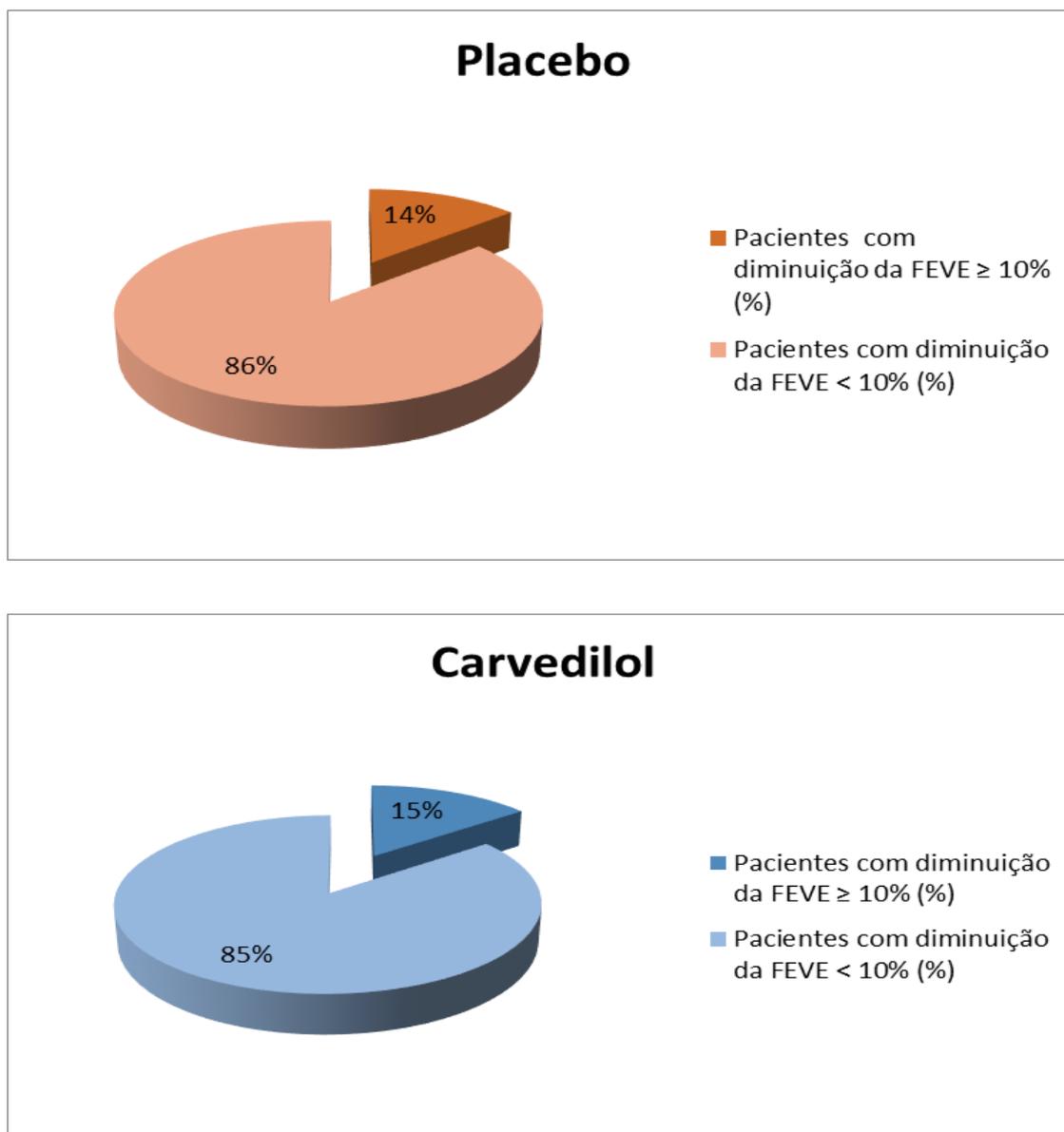
Todos os parâmetros são estatisticamente semelhantes entre os grupos. n. – número de pacientes; mmHg – milímetros de mercúrio; bpm – batimentos por minuto; BNP – Peptídeo Natriurético Cerebral

## 5.2 DESFECHO PRIMÁRIO

Durante o seguimento de seis meses, 27 (14,0%) pacientes apresentaram diminuição de pelo menos 10% na FEVE. Destas, 14 (14,5%) estavam no grupo carvedilol e 13 (13,5%) no placebo ( $p=1,0$ ) (Figura 4). Ao considerar a definição mais recente de cardiotoxicidade de 10 pontos percentuais e queda da FEVE abaixo do limite inferior de normalidade, apenas uma (1%) paciente no braço placebo (com queda da FEVE para 35%), e nenhuma no braço carvedilol, preencheu os critérios de cardiotoxicidade.

A FEVE basal média foi de  $65,2 \pm 3,6\%$  no grupo placebo e  $64,8 \pm 4,7\%$  no carvedilol. Após seis meses de quimioterapia, a FEVE foi de  $63,9 \pm 5,2\%$  no grupo placebo e  $63,9 \pm 3,8\%$  no carvedilol (Tabela 7). Houve redução absoluta da FEVE, não significativa, de 1,3% no grupo placebo e de 0,9% no grupo carvedilol em seis meses ( $p=0,84$ ) (Figura 5).

Em relação ao *status* de menopausa, nenhuma diferença foi evidenciada entre carvedilol e placebo nos subgrupos pré e pós-menopausa.



FEVE- fração de ejeção do ventrículo esquerdo

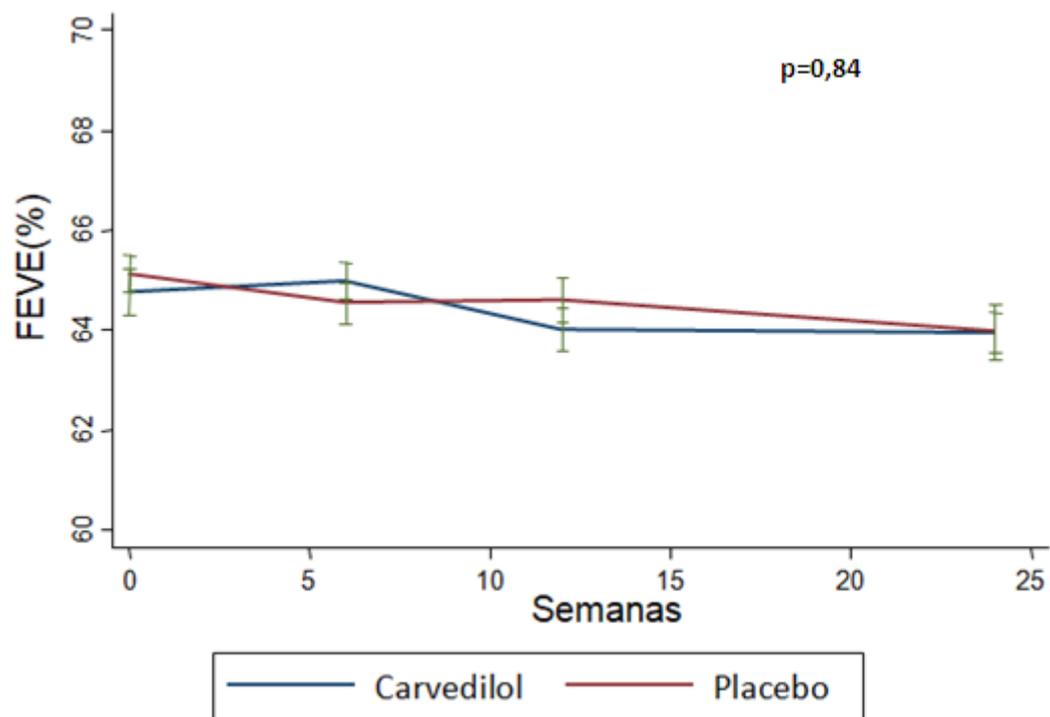
**Figura 4 -** Incidência de cardiotoxicidade entre os grupos

**Tabela 7 - Desfecho primário e desfechos secundários**

<b>Desfecho</b>	<b>Placebo (n=96)</b>	<b>Carvedilol (n=96)</b>	<b>p</b>
<b>Desfecho Primário</b>			
Pacientes com queda da FEVE >10% - n (%)	13 (13,5%)	14 (14,5%)	1,00
FEVE Sequencial (%)			0,84
Basal	65,2 ± 3,6	64,8 ± 4,7	
6 semanas	64,5 ± 3,6	64,2 ± 8,0	
12 semanas	64,6 ± 4,0	64,0 ± 3,9	
24 semanas	63,9 ± 5,2	63,9 ± 3,8	
<b>Desfechos Secundários</b>			
TnI ≥ 0,04 - n (%)	40 (41,6%)	25 (26,0%)	0,003
Troponina I sequencial (ng/mL)			0,03*
Basal	0,005 (0,005-0,005)	0,005 (0,005-0,005)	
3 semanas	0,001 (0 – 0,010)	0,006 (0 – 0,011)	
6 semanas	0,006 (0 – 0,013)	0,006 (0 – 0,11)	
9 semanas	0,015 (0,008 – 0,03)	0,014 (0,006 – 0,019)	
12 semanas	0,037 (0,022 – 0,058)	0,026 (0,017–0,044)	
24 semanas	0,010 (0 – 0,024)	0,016 (0,007– 0,028)	
BNP sequencial (pg/mL)			0,85**
Basal	12 (6 – 21)	16 (8,25 – 25,0)	
3 semanas	13 (7,5 – 22)	17 (10 – 28)	
6 semanas	12 (6 – 22)	17 (9 – 27)	
9 semanas	14(5 – 26)	18(8,75 – 33,25)	
12 semanas	11 (6 – 23)	17 (9,5 – 31,0)	
24 semanas	10(6 – 23)	13 (7 – 20)	
Disfunção diastólica - n (%) <sup>#</sup>			
Basal	14 (15,2)	22(22,9)	0,039
24 semanas	33 (39,3)	26(30,2)	

As medidas da FEVE são expressas como média ± DP. A troponina e o BNP sequenciais são expressos como mediana (p25-75).

\*Efeitos de modelo linear misto com o tempo como uma função quadrática (p=0,003) para a taxa de probabilidade entre esses modelos. \*\*Efeito de modelo linear misto. <sup>#</sup>Número total de pacientes no grupo placebo: 86. No do carvedilol: 84 (dados faltantes devido a limitações técnicas nos ecocardiogramas após mastectomia ou morte). n – número de pacientes; DP - desvio padrão; FEVE - fração de ejeção do ventrículo esquerdo; BNP - peptídeo natriurético cerebral.

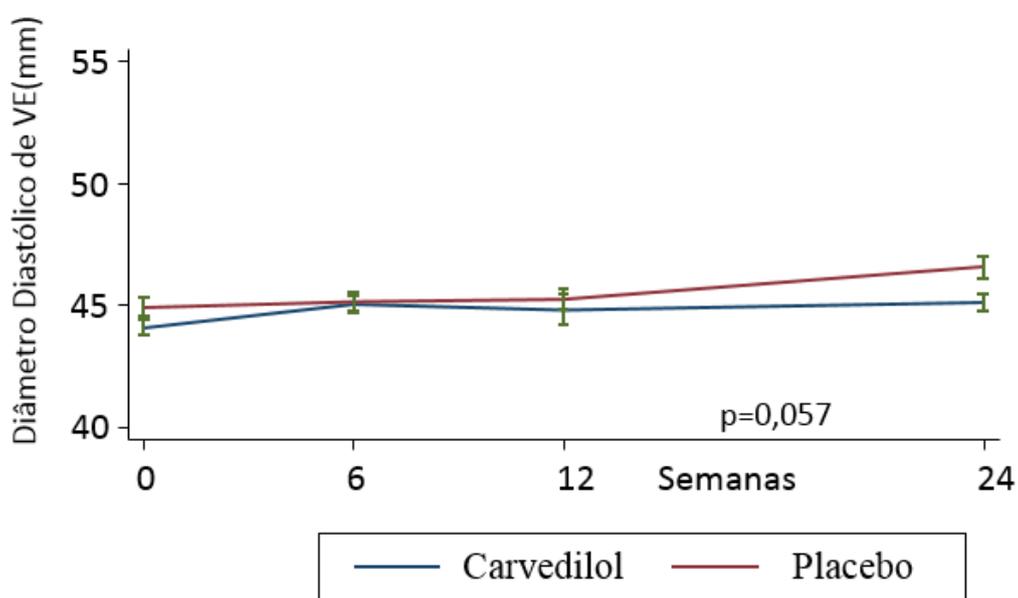


FEVE – Fração de ejeção do ventrículo esquerdo

**Figura 5** - Comparação da FEVE do grupo carvedilol e placebo durante o tratamento quimioterápico

### 5.3 MEDIDAS DO ECOCARDIOGRAMA

Durante o seguimento, observou-se tendência para menor aumento do diâmetro diastólico do VE no grupo de carvedilol quando comparado ao placebo: de  $44,1 \pm 3,3$  mm a  $45,2 \pm 3,2$  mm vs  $44,9 \pm 3,6$  mm a  $46,4 \pm 4,0$  mm, respectivamente ( $p=0,057$ ) (Figura 6, Tabela 8). Não foram observadas diferenças entre os grupos nas medidas de átrio esquerdo, septo interventricular, parede posterior e diâmetro sistólico do VE (Tabelas 9, 10, 11 e 12, respectivamente).



**Figura 6** - Medidas do diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo durante o tratamento quimioterápico

**Tabela 8 -** Medidas do diâmetro diastólico de ventrículo esquerdo

<b>DDVE (mm)</b>	<b>Placebo (n=96)</b>	<b>Carvedilol (n=96)</b>
DDVE Basal	44,9 ± 3,6	44,1 ± 3,3
DDVE após ANT ciclo 2 (6 semanas)	45,2 ± 3,5	45,1 ± 3,1
DDVE após ANT ciclo 4 (12 semanas)	45,2 ± 3,8	45,3 ± 3,1
DDVE após final de quimioterapia (24 semanas)	46,4 ± 4,0	45,2 ± 3,2

Dados são expressos em média ± desvio padrão. Tendência a aumento menos pronunciado no DDVE foi notado no grupo carvedilol (p=0,057).

DDVE - Diâmetro Diastólico do Ventrículo Esquerdo.

**Tabela 9 -** Medidas do átrio esquerdo

<b>AE (mm)</b>	<b>Placebo (n=96)</b>	<b>Carvedilol (n=96)</b>
AE Basal	33,3 ± 5,0	31,7 ± 4,1
AE após ANT ciclo 2 (6 semanas)	34,1 ± 4,8	33,4 ± 3,5
AE após ANT ciclo 4 (12 semanas)	33,9 ± 3,8	33,6 ± 3,5
AE após final de quimioterapia (24 semanas)	34,0 ± 3,8	33,6 ± 3,2

Dados são expressos em média ± desvio padrão. Não houve diferença estatística nas medidas do átrio esquerdo entre os grupos durante o seguimento (p=ns)

AE - átrio esquerdo: n – número de pacientes; ANT - antraciclina.

**Tabela 10 -** Medidas do septo interventricular

<b>Septo (mm)</b>	<b>Placebo (n=96)</b>	<b>Carvedilol (n=96)</b>
Septo Basal	8,7 ± 1,2	8,2 ± 1,0
Septo após ANT ciclo 2 (6 semanas)	8,7 ± 0,9	8,4 ± 1,0
Septo após ANT ciclo 4 (12 semanas)	8,6 ± 1,0	8,4 ± 0,9
Septo após final de quimioterapia (24 semanas)	8,5 ± 1,2	8,7 ± 0,9

Dados são expressos em média  $\pm$  desvio padrão. Não houve diferença estatística nas medidas do septo interventricular entre os grupos durante o seguimento (p=ns)

n – número de pacientes; ANT – antraciclina.

**Tabela 11 -** Medidas da parede posterior

<b>PP (mm)</b>	<b>Placebo (n=96)</b>	<b>Carvedilol (n=96)</b>
PP Basal	8,3 ± 1,1	7,9 ± 0,9
PP após ANT ciclo 2 (6 semanas)	8,4 ± 0,9	8,3 ± 0,8
PP após ANT ciclo 4 (12 semanas)	8,4 ± 1,0	8,2 ± 0,8
PP após final de quimioterapia (24 semanas)	8,4 ± 1,1	8,3 ± 0,8

Dados são expressos em média  $\pm$  desvio padrão. Não houve diferença estatística nas medidas da parede posterior do ventrículo esquerdo entre os grupos durante o seguimento (p=ns).

PP - parede posterior; n – número de pacientes; ANT - antraciclina.

**Tabela 12** - Medidas do diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo

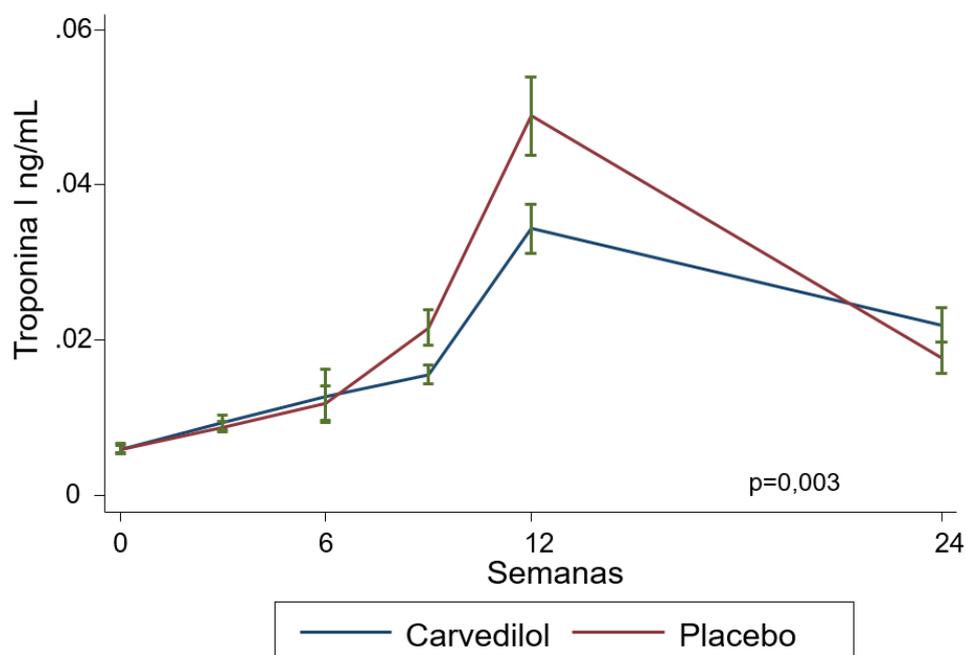
<b>DSVE (mm)</b>	<b>Placebo (n=96)</b>	<b>Carvedilol (n=96)</b>
DSVE Basal	28,2 ± 3,9	28,5 ± 2,7
DSVE ANT ciclo 2 (6 semanas)	29,4 ± 4,8	29,0 ± 2,4
DSVE após ANT ciclo 4 (12 semanas)	29,3 ± 3,5	29,5 ± 2,9
DSVE após final de quimioterapia (24 semanas)	30,1 ± 3,4	29,4 ± 2,8

Dados são expressos em média ± desvio padrão. Não houve diferença estatística nas medidas do DSVE entre os grupos durante o seguimento (p=ns)

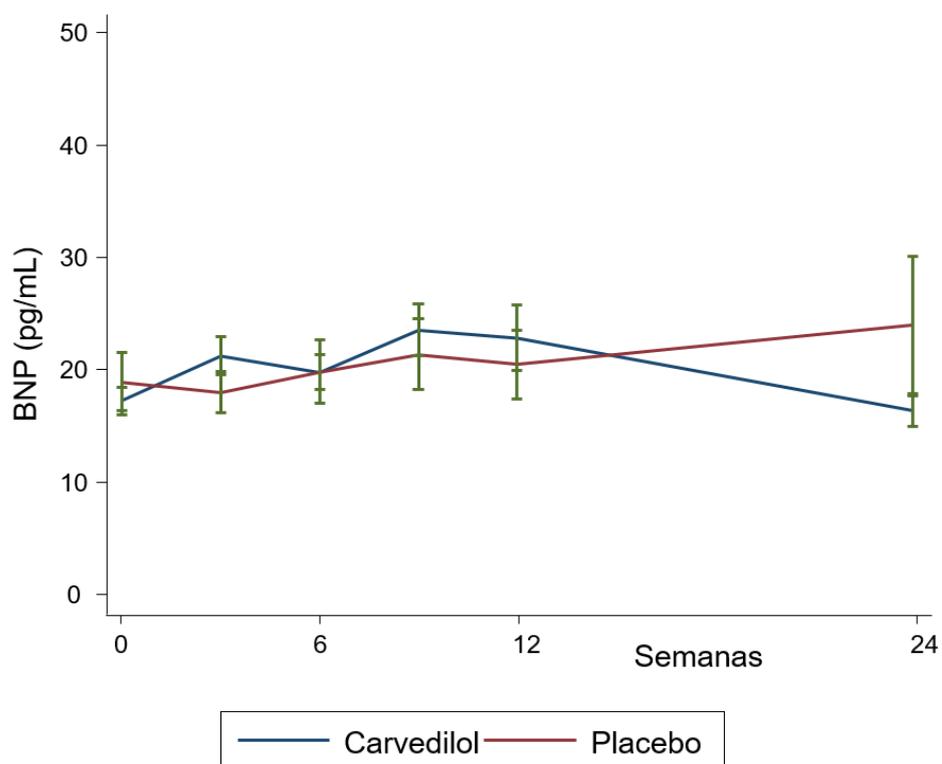
DSVE - Diâmetro Sistólico do Ventrículo Esquerdo; n – número de pacientes; ANT - antraciclina.

#### 5.4 DESFECHOS SECUNDÁRIOS

As medidas dos níveis de troponina I foram realizadas após uma mediana de 19 dias de cada ciclo de doxorubicina. Os níveis de TnI, desde o início da quimioterapia até o final do estudo, elevaram-se em ambos os grupos (Tabela 7). No entanto, esse aumento foi significativamente atenuado ( $p=0,003$ ) no braço carvedilol (Figura 7). Sessenta e cinco (33,8%) pacientes apresentaram níveis plasmáticos de TnI mais elevados do que 0,04 ng/mL. Destas, 25 (26,0%) estavam no grupo carvedilol e 40 (41,6%) no placebo ( $p=0,03$ ). Após o término dos ciclos de ANT houve queda nos níveis de TnI durante os ciclos de taxano (Figura 7). Para o BNP, no entanto, não houve diferença associada entre os grupos ( $p=0,85$ ) (Figura 8, Tabela 7).

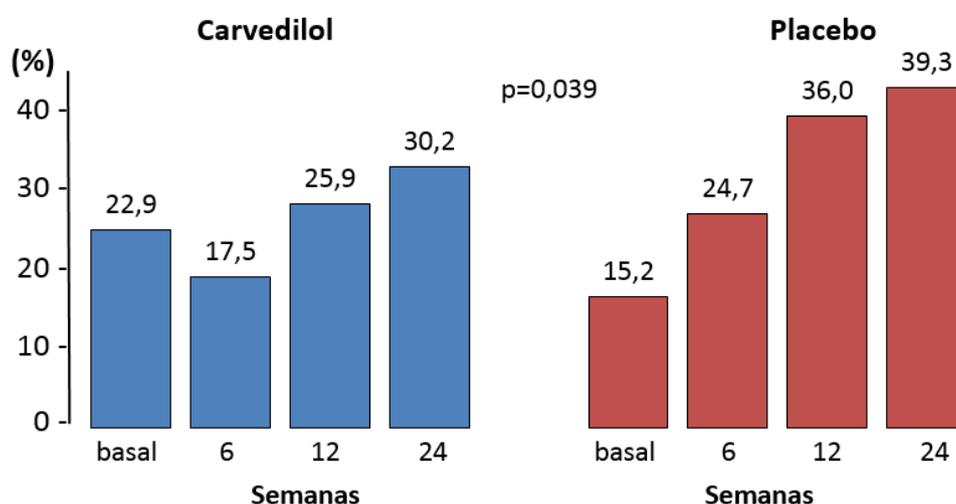


**Figura 7 -** Medidas de troponina I durante o tratamento quimioterápico. O modelo estatístico foi o modelo linear misto no tempo como função quadrática



**Figura 8 -** Medidas do BNP durante o tratamento quimioterápico

Encontramos menor incidência de disfunção diastólica no grupo carvedilol quando comparado ao placebo ( $p=0,039$ ) (Tabela 7). A incidência de disfunção diastólica no braço placebo aumentou progressivamente durante o tratamento com ANT, mas não no carvedilol (Figura 9). Na maioria (91%), o diagnóstico de disfunção diastólica apresentado foi classificado como disfunção diastólica grau I, ou seja, uma alteração de relaxamento.



**Figura 9** - Incidência de disfunção diastólica durante o tratamento quimioterápico. Houve menor incidência de disfunção diastólica no grupo carvedilol quando comparado ao placebo ( $p=0,039$ )

## 5.5 DESFECHOS CLÍNICOS

Não houve diferenças significativas na incidência de eventos clínicos entre os grupos ao longo do seguimento. Durante o período de estudo duas (2,1%) pacientes foram a óbito no grupo carvedilol e duas (2,1%) no placebo ( $p=1,0$ ). Todas as mortes foram decorrentes da progressão da doença cancerígena.

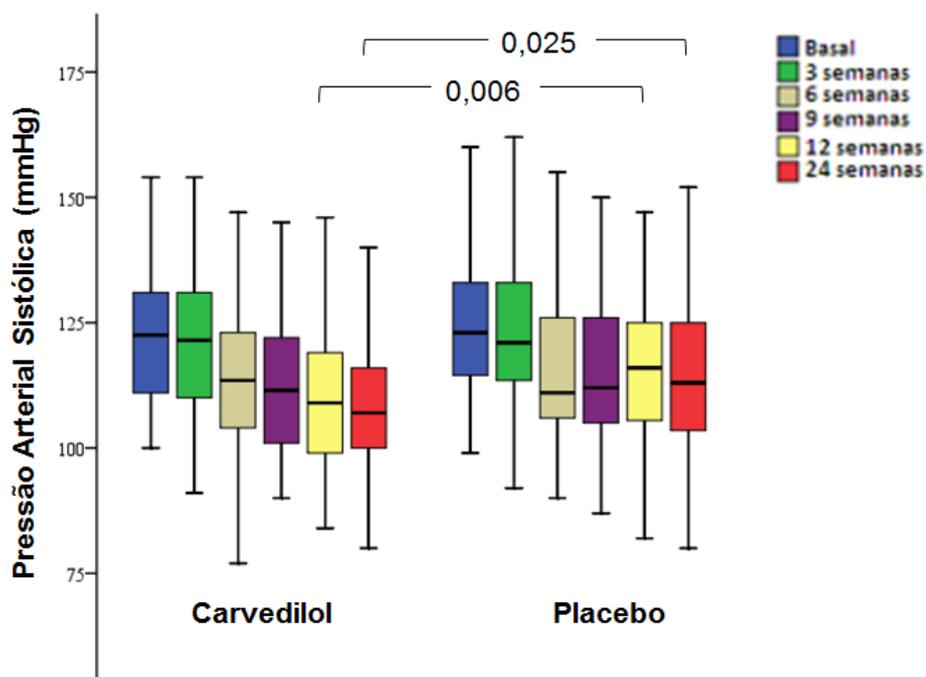
Um caso de insuficiência cardíaca *de novo* ocorreu no grupo placebo e nenhum no de carvedilol. Um caso de *flutter* atrial aconteceu no grupo placebo: a paciente estava assintomática e a arritmia foi documentada durante um ecocardiograma do protocolo de rotina devido à frequência cardíaca de 146 bpm. A FEVE de base dessa paciente era de 64% e, no final do tratamento com doxorrubicina, 61%. Uma descrição detalhada de todos os eventos clínicos está apresentada na Tabela 13.

Houve diferença significativa nos registros das pressões arteriais sistólica e diastólica no grupo carvedilol, em comparação com o placebo, às 12 e 24 semanas, com medidas mais baixas de pressão no grupo carvedilol (Figuras 10 e 11). Da mesma forma, a frequência cardíaca do braço carvedilol foi inferior ao do placebo a partir de seis semanas e mantida até 24 semanas (Figura 12).

**Tabela 13** - Desfechos clínicos. Os óbitos deveram-se à progressão do câncer de mama

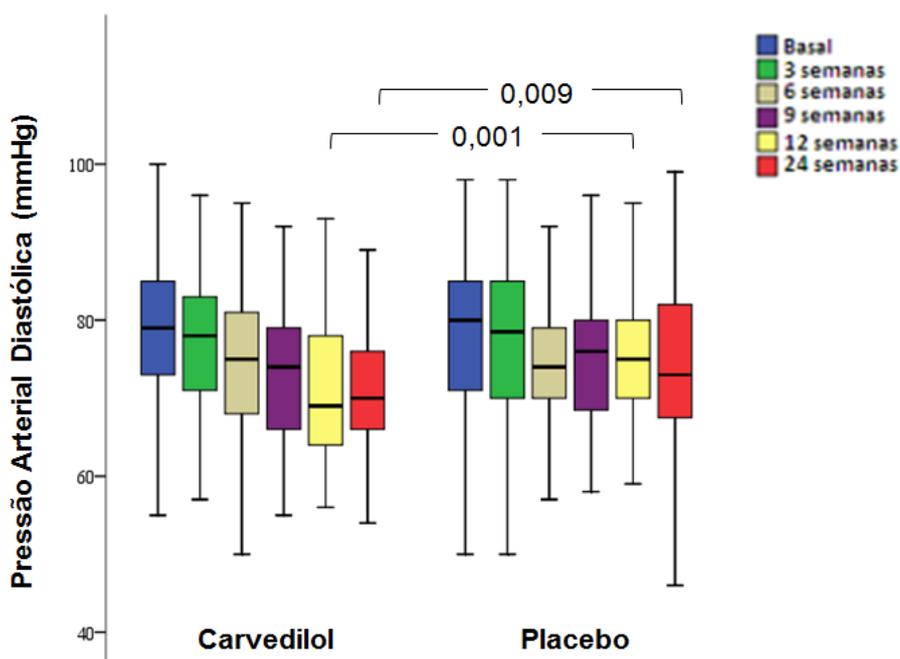
Desfechos Clínicos – n (%)	Placebo (n=96)	Carvedilol (n=96)
Óbito por Qualquer Causa	2 (2,1)	2 (2,1)
Insuficiência Cardíaca <i>de novo</i>	1 (1,0)	0 (0)
<i>Flúter</i> Atrial de início recente	1 (1,0)	0 (0)

n= número de pacientes



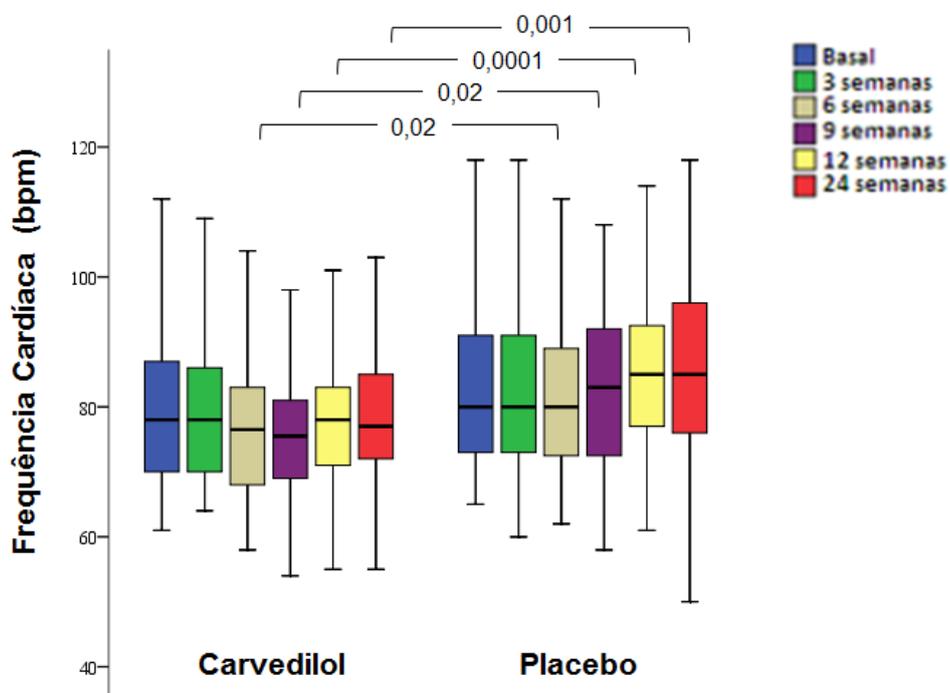
mmHg – milímetros de mercúrio.

**Figura 10** - Medidas da Pressão Arterial Sistólica durante o estudo



mmHg – milímetros de mercúrio.

**Figura 11 -** Medidas da Pressão Arterial Diastólica durante o seguimento



bpm - batimentos por minuto.

**Figura 12 -** Medidas da frequência cardíaca durante o estudo

## 5.6 EVENTOS ADVERSOS

Não houve diferenças na incidência de efeitos adversos ou descontinuação de carvedilol / placebo entre os grupos. O evento adverso mais comum no grupo placebo foi tontura e no grupo carvedilol foi hipotensão sintomática (Tabela 14). Não foram registrados eventos adversos graves e o carvedilol foi bem tolerado. Nove pacientes suspenderam o medicamento devido a efeitos colaterais, seis (6,2%) no grupo placebo e três (3,1%) no carvedilol ( $p=0,30$ ).

**Tabela 14** - Efeitos adversos durante o tratamento. O número de pacientes que descontinuaram permanentemente o medicamento do estudo foram os seguintes: hipotensão (1) no grupo carvedilol; desconforto após uso do medicamento (3) no placebo; palpitações (1) no grupo placebo; epigastralgia (2) no braço carvedilol; tonturas (1) e náuseas (1) ambas no placebo

<b>Efeito Adverso – n (%)</b>	<b>Placebo (n=96)</b>	<b>Carvedilol (n=96)</b>	<b>p</b>
Hipotensão Sintomática – n (%)	0 (0)	3 (3,1)	0,24
Boca Seca – n (%)	3 (3,1)	0 (0)	0,24
Tontura - n (%)	4 (4,1)	3 (3,1)	1,0
Sudorese em MMII - n (%)	1 (1,0)	0 (0)	1,0
Epigastralgia - n (%)	1 (1,0)	2 (2,0)	1,0
Torpor - n (%)	1 (1,0)	0 (0)	1,0
Náusea - n (%)	0 (0)	2 (2,0)	0,5
Desconforto após uso da medicação - n (%)	3 (3,1)	1 (1,0)	0,62
Palpitações - n (%)	1 (1,0)	0 (0)	1,0
Prurido - n (%)	1 (1,0)	0 (0)	1,0
Dispneia - n (%)	2 (2,0)	0 (0)	0,5
Constipação - n (%)	0 (0)	1 (1,0)	1,0

n – número de pacientes; MMII - membros inferiores.

## **6 Discussão**

---

## 6 DISCUSSÃO

O ensaio clínico CECCY é o maior estudo prospectivo, randomizado, duplo-cego e placebo controlado que testou o uso de medicamentos cardiovasculares para prevenção primária da cardiotoxicidade por ANT. Nesse estudo, na qual as pacientes receberam doses atuais de doxorubicina e apresentavam baixa prevalência de fatores de risco para doenças cardiovasculares, observou-se pequena porcentagem de pacientes que apresentaram cardiotoxicidade, caracterizada pela redução <10% na FEVE durante seis meses de seguimento, a qual não foi influenciada pelo carvedilol. No entanto, o carvedilol esteve associado a valores atenuados de TnI, registrando-se menor porcentagem de pacientes com elevação dos níveis séricos de troponina I. Além disso, o uso do carvedilol foi associado à tendência de menor aumento do diâmetro diastólico do VE e à diminuição da porcentagem de pacientes com disfunção diastólica.

A elaboração do estudo baseou-se na premissa de que o carvedilol preveniria a queda da FEVE secundária ao uso de antraciclinas por causa de suas propriedades antioxidantes e de proteção à lesão mitocondrial cardíaca.

Poucos estudos avaliaram  $\beta$ -bloqueadores para prevenção primária da cardiotoxicidade induzida por antraciclinas. Kalay *et al.* <sup>(49)</sup> publicaram o único estudo randomizado que comparou placebo *versus* carvedilol nesse contexto, e demonstraram a redução significativamente maior da FEVE no

grupo placebo (53%) em relação ao carvedilol (69%) ( $p < 0,001$ ). Nesse estudo, as doses de antraciclinas utilizadas foram elevadas: doxorubicina  $520 \text{ mg/m}^2$  e epirrubicina  $780 \text{ mg/m}^2$ . Outro estudo randomizado que avaliou o nebivolol na prevenção primária foi publicado por Kaya *et al.* <sup>(50)</sup> que avaliaram 45 mulheres com câncer de mama submetidas a regimes de antraciclinas e demonstraram que o nebivolol foi protetor em relação ao grupo placebo quanto à mudança da FEVE, aos diâmetros ventriculares e ao aumento dos valores de NT-pro-BNP.

Seicean *et al.* <sup>(47)</sup> realizaram um ensaio clínico prospectivo não randomizado que avaliou diversos  $\beta$ -bloqueadores (metoprolol, atenolol, carvedilol, propranolol, bisoprolol, labetalol e nadolol) na prevenção da cardiotoxicidade e demonstraram que os  $\beta$ -bloqueadores foram associados a uma redução significativa do risco de insuficiência cardíaca congestiva ( $p = 0,003$ ).

Ao avaliarmos esses e outros trabalhos científicos prévios em que  $\beta$ -bloqueador atenuou a queda de FEVE encontramos algumas críticas: amostra de população limitada, estudos não cegos, não randomizados, com doses mais elevadas de antraciclinas e testando diferentes  $\beta$ -bloqueadores <sup>(49, 50, 60-62)</sup>.

Nos dias de hoje, com doses contemporâneas de antraciclinas, nosso achado de baixa incidência de cardiotoxicidade cardíaca está em concordância com um estudo (PRADA *Trial*) que utilizou a mesma dose cumulativa de ANT ( $240 \text{ mg/m}^2$ ) <sup>(51)</sup>. Esse trabalho demonstrou queda numérica absoluta, porém modesta, na redução da FEVE em ambos os

grupos (no placebo: 1,8%; no metoprolol: 1,6%). Em nosso estudo, a queda da FEVE foi ainda mais baixa (1.3% no grupo placebo e 0.9% no carvedilol). No PRADA *Trial* o metoprolol não apresentou impacto na FEVE, da mesma forma que o carvedilol no CECCY *Trial*. Vale ressaltar que a técnica de mensuração da FEVE no estudo PRADA foi a ressonância nuclear magnética.

Em outro estudo randomizado, não cego, Elitok *et al.* <sup>(62)</sup> avaliaram 80 mulheres com câncer de mama submetidas a tratamento com doxorubicina (523–536 mg/m<sup>2</sup>) que recebiam carvedilol ou placebo durante o tratamento quimioterápico e não encontraram diferenças significantes na FEVE ou em outros parâmetros ecocardiográficos.

As explicações potenciais para essas discrepâncias aparentes podem incluir: pequenos tamanhos de amostra, diferentes doses de ANT, heterogeneidade das populações incluídas, diferenças nos fatores de risco, com comorbidades cardiovasculares, tipos de câncer e respectiva quimioterapia, e metodologia de estudo. Pacientes que recebem altas doses cumulativas de ANT e com maior prevalência de fatores de risco cardiovascular apresentam maior risco para cardiotoxicidade <sup>(15)</sup>. Apesar de nosso estudo não demonstrar um impacto do carvedilol na redução da FEVE, seu uso foi associado à tendência de redução do diâmetro diastólico do VE, sugerindo que o carvedilol poderia influenciar o processo de remodelamento dessa câmara cardíaca. Além disso, observou-se aumento progressivo da incidência de disfunção diastólica no grupo placebo a cada

ciclo de ANT, o que não ocorreu no do carvedilol, o que sugere um efeito protetor desse fármaco no aparecimento de disfunção diastólica.

A avaliação da disfunção diastólica no contexto da cardiotoxicidade é complexa e seus parâmetros apresentam múltiplas limitações na realização técnica do método. Mesmo assim, a Sociedade Americana de Ecocardiografia e a Academia Europeia de Ecocardiografia recomendam que os pacientes submetidos a tratamento com antraciclinas realizem a avaliação da função diastólica do VE, incluindo a graduação da função diastólica e a estimativa das pressões de enchimento de VE utilizando os parâmetros diastólicos<sup>(63)</sup>. Poucos estudos avaliaram a função diastólica nos regimes de antraciclinas. Uma metanálise<sup>(64)</sup> encontrou quatro trabalhos que avaliaram a disfunção diastólica como preditor de disfunção ventricular esquerda a longo prazo na cardiotoxicidade. Nesses estudos foram realizadas as avaliações de função ventricular e de mudança dos parâmetros da função diastólica no decorrer do tratamento quimioterápico, como, onda E, onda E/A, lateral E', lateral S. As mudanças desses parâmetros conhecidamente secundários ao efeito das antraciclinas foram associadas à deterioração da função ventricular, inclusive as variações iniciais de alteração de relaxamento. Atualmente existem muitos padrões ecocardiográficos mais modernos e sofisticados como preditores de disfunção sistólica do VE na cardiotoxicidade, como o *strain* longitudinal global, avaliação 3D e avaliação diastólica com parâmetros de *strain*. Entretanto, essas técnicas ainda apresentam limitações como a validação dos parâmetros em hospitais menores e não acadêmicos, além de ser maior

a variabilidade entre observadores. A maior incidência de disfunção diastólica no grupo placebo em nosso estudo, portanto, é relevante. A menor incidência da disfunção diastólica no braço carvedilol poderia apontar um benefício desse medicamento na prevenção da disfunção ventricular, do mesmo modo como os níveis de troponina I.

Alguns estudos analisaram a troponina e o BNP como marcadores de injúria miocárdica no contexto da cardiotoxicidade <sup>(37)</sup>. Em relação à troponina, os trabalhos avaliaram as diversas formas do biomarcador, troponina C, troponina I e troponina ultrasensível, e os resultados são variados. Na maioria deles pode-se comprovar que os níveis de troponina se correlacionaram com a dose cumulativa da doxorubicina, entretanto muitos falharam em demonstrar aumento de risco de disfunção ventricular nos pacientes com elevação de troponina. De fato, a correlação entre os níveis de TnI e a redução da FEVE foi relatada na doença arterial coronariana, mas não em lesão miocárdica difusa ou em outras causas de liberação de troponina cardíaca não associada à isquemia miocárdica <sup>(65)</sup>. A liberação cardíaca de troponina pode resultar de danos cardíacos crônicos sem necrose aguda do miocárdio. Neste cenário, existem evidências de que qualquer aumento em seus níveis séricos pode ser associado a um desfecho em vários contextos clínicos.

Devido a esses resultados mistos e inconsistentes, não existe evidência clara para adiar ou suspender a quimioterapia baseando-se na elevação da troponina <sup>(15)</sup>. O que se pode inferir é que o aumento da troponina poderia demonstrar uma lesão subclínica e poderia sinalizar,

inclusive, uma indicação de tratamento para cardiotoxicidade e apontar os pacientes de maior gravidade que necessitariam de monitorização mais rigorosa.

O momento da dosagem da troponina também é controverso. Num estudo que avaliou 703 pacientes que receberam altas doses de ANT foram realizadas medidas de TnI em 72 horas e após um mês do tratamento quimioterápico. A maior incidência de eventos cardíacos (84%) ocorreu naqueles com TnI positivas em 72 horas e após um mês. No grupo com TnI positiva somente em 72 horas a taxa de eventos cardíacos foi de 37% e no grupo com TnI negativa em ambos os momentos a taxa foi de 1% <sup>(34)</sup>. Esse artigo sugere que a troponina positiva tardiamente poderia demonstrar injúria miocárdica persistente sendo, então, um maior preditor de eventos cardíacos. A TnI do nosso estudo foi coletada após uma média de 19 dias depois de cada infusão de ANT com o objetivo de avaliar a injúria miocárdica tardia e persistente.

O efeito da diminuição dos níveis séricos de TnI proporcionado pelo carvedilol e observado em nosso estudo está em concordância com o resultado de um ensaio simples cego que demonstrou redução de TnI com carvedilol <sup>(60)</sup>. Essa atenuação dos níveis da TnI pode potencialmente afetar o prognóstico de pacientes submetidos à ANT <sup>(5, 34, 66, 67)</sup>.

O uso do BNP para a detecção de disfunção cardíaca subclínica na cardiotoxicidade ainda está sob investigação e os resultados são inconsistentes <sup>(68)</sup>. Um estudo com 333 pacientes em uso de ANT demonstrou sensibilidade de 38% e especificidade de 92% do BNP como

preditor de disfunção ventricular <sup>(69)</sup>. Entretanto, outros dois estudos não evidenciaram correlação entre o BNP para detecção de lesão subclínica ou declínio de FEVE no tratamento quimioterápico <sup>(70, 71)</sup>. Também não encontramos analogia entre BNP e elevação de níveis de troponina, aparecimento de disfunção diastólica ou disfunção ventricular em nosso estudo.

Nossa discordância do aumento da troponina sem alteração na FEVE não é bem compreendida. A elevação da troponina em nosso estudo foi discreta, ultrapassando pouco o limite superior da normalidade, demonstrando que a quimioterapia com ANT nessas doses pode lesar o músculo cardíaco, mas essa lesão pode não ser suficientemente expressiva a ponto de causar dano à função miocárdica. E o efeito do carvedilol na atenuação dos níveis de troponina poderia ser explicado por suas propriedades farmacológicas como antioxidante e de proteção contra os radicais livres.

Nossos achados podem ter implicações importantes, visto que os efeitos do carvedilol têm o potencial de reduzir a lesão cardíaca e o processo de remodelamento do VE, podendo ser uma estratégia preventiva e de tratamento para a cardiotoxicidade.

Encontramos algumas limitações neste estudo. Primeiro: o desenvolvimento do ensaio clínico em um único centro para randomização de pacientes. Entretanto, a amostra incluída foi representativa de uma população de pacientes com câncer de mama. Segundo: a incidência de cardiotoxicidade foi 13,5% a 14,5%, menor do que a esperada, o que

poderia reduzir o poder estatístico de alguns efeitos do carvedilol. Terceiro: a dose de carvedilol foi otimizada durante o tratamento quimioterápico, podendo indicar que a dose alvo foi atingida em um período mais avançado da quimioterapia. Entretanto, como descrito anteriormente, a pressão arterial e a frequência cardíaca do grupo placebo foram maiores em relação ao do carvedilol, demonstrando um efeito desejável deste fármaco mesmo durante a otimização; e esse efeito ocorreu antes de 12 semanas, que foi o momento do pico dos níveis de troponina e da dose máxima cumulativa da doxorubicina, demonstrando que o carvedilol estava otimizado no momento de maior injúria miocárdica. Quarto: a dose máxima tolerada de carvedilol e placebo foi menor do que a dose máxima esperada. Esse achado seria previsível no braço carvedilol mas não no placebo, sugerindo mecanismos desconhecidos do tratamento quimioterápico e do câncer em si que prejudicaram a titulação da droga mesmo no grupo placebo. Quinto: novos parâmetros para avaliar a disfunção diastólica foram publicados recentemente <sup>(62)</sup>, porém isso não invalida a apreciação do presente estudo, visto que todos os parâmetros foram avaliados com extrema reprodutibilidade e possuem um papel importante na consideração da disfunção diastólica e na predição da insuficiência cardíaca <sup>(72)</sup>. Sexto: a variabilidade entre observadores poderia influenciar as medidas repetidas da FEVE, entretanto é improvável que tenha afetado nossos achados visto que esse fator pode ter interferido em ambos os grupos. Sétimo: como o desfecho primário não foi atingido, todas as afirmações em relação aos desfechos secundários necessitam de interpretação cuidadosa. Contudo a

informação adicional proveniente das mudanças nos níveis de troponina e na disfunção diastólica acrescenta valor significativo e podem colaborar com o entendimento do mecanismo e da fisiopatologia da disfunção de VE nesse contexto. Oitavo: o curto período de seguimento: seis meses. Apesar disso, estudos já demonstraram que a maioria dos eventos cardiovasculares ocorre no primeiro ano do tratamento quimioterápico <sup>(17)</sup> e estamos dando continuidade ao seguimento de avaliação de um e dois anos no *CECCY Trial*.

## **7 Conclusão**

---

## 7 CONCLUSÃO

A incidência de cardiotoxicidade com doses contemporâneas de ANT foi menor que o relatado anteriormente. Neste cenário, o uso de carvedilol não resultou em alterações significativas da função ventricular esquerda em até seis meses de seguimento. No entanto, o carvedilol atenuou a elevação dos níveis de troponina I sugerindo um efeito protetor desse fármaco na lesão miocárdica, diminuiu o aparecimento da disfunção diastólica e apresentou uma tendência a menor elevação do diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo, demonstrando que poderia influenciar no remodelamento dessa câmara.

## **8 Consideração da Empresa Privada**

---

## **8 CONSIDERAÇÃO DA EMPRESA PRIVADA**

Baldacci Laboratorios S.A. doaram o carvedilol e o placebo utilizados neste estudo. Os Laboratórios Baldacci não participaram de nenhuma fase do estudo.

## **9 Anexos**

---

## Anexo 1 – TCLE

1

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA  
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP**

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

**DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL**

1. NOME: .....
- DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: ..... SEXO: M  F
- DATA NASCIMENTO: ...../...../.....
- ENDEREÇO: ..... Nº: ..... APTO: .....
- BAIRRO: ..... CIDADE: .....
- CEP: ..... TELEFONE: DDD (.....) .....
2. RESPONSÁVEL LEGAL .....
- NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.) .....
- DOCUMENTO DE IDENTIDADE: ..... SEXO: M  F
- DATA NASCIMENTO: ...../...../.....
- ENDEREÇO: ..... Nº: ..... APTO: .....
- BAIRRO: ..... CIDADE: .....
- CEP: ..... TELEFONE: DDD (.....) .....

**DADOS SOBRE A PESQUISA**

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA **Estudo Duplo-cego Randomizado e Controlado sobre o Efeito do Betabloqueador na Prevenção do Desenvolvimento de Cardiomiopatia Secundária a Quimioterápicos**
- PESQUISADOR : **Silvia Moreira Ayub Ferreira**
- CARGO/FUNÇÃO: **médico-assistente** INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº **75810**
- UNIDADE DO HCFMUSP: **Instituto do Coarção do HC-FMUSP**
3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:
- RISCO MÍNIMO  RISCO MÉDIO
- RISCO BAIXO  RISCO MAIOR
4. DURAÇÃO DA PESQUISA : 5 ANOS

Rubrica do sujeito de pesquisa ou responsável \_\_\_\_\_

Rubrica do pesquisador \_\_\_\_\_

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA  
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP**

1 –O objetivo deste estudo é verificar se o uso de uma medicação da classe dos betabloqueadores cujo nome é CARVEDILOL pode prevenir o aparecimento de disfunção no coração provocada pelo uso de medicação quimioterápica. Esta disfunção no coração recebe o nome de CARDIOPATIA SECUNDÁRIA AO USO DE QUIMIOTERÁPICOS e aparece em 23% dos pacientes que são tratados com quimioterápicos do grupo da ANTRACICLINA. Alguns estudos iniciais sugerem que o uso deste medicamento, o CARVEDILOL, ajuda a prevenir esta cardiopatia, porém estudos com um número maior de pacientes é necessário para confirmar estes resultados. Para se estudar o efeito deste medicamento temos que comparar um grupo que irá receber o CARVEDILOL com um grupo que não. Este segundo grupo irá receber um comprimido placebo (sem conter o princípio ativo do carvedilol).

2 – Durante este protocolo de pesquisa o senhor (a) será sorteado para receber o medicamento CARVEDILOL ou PLACEBO (comprimido inerte) durante 24 semanas (1 comprimido a cada 12 horas). Será submetido à coleta de exames de sangue (no início do estudo, 3, 6, 9, 12 e 24 semanas) para realização de dosagem de substâncias (troponina ultra-sensível, microRNA-208a e BNP) que nos fornecem informações sobre a possível lesão do coração pela medicação quimioterápica. O (a) senhor(a) também realizará ecocardiograma, que é um ultra-som do coração, no início do estudo, 6, 12, 24, 48 e 96 semanas. Estes exames nos fornecem informações muito importantes sobre o funcionamento do seu coração.

3 – O senhor (a) terá como desconfortos esperados pelo estudo: o uso do CARVEDILOL pode acarretar a queda da pressão arterial e o batimento lento do coração; estes efeitos serão minimizados porque o paciente será avaliado pelo médico cardiologista antes da introdução do medicamento e semanalmente até alcançarmos a dose alvo; outro desconforto esperado é a punção da sua veia para coleta de exames de sangue; na realização do ecocardiograma o senhor permanecerá por tempo prolongado (30 minutos) em posição que poderá ser desconfortável (deitado do lado esquerdo).

Rubrica do sujeito de pesquisa ou responsável\_\_\_\_\_

Rubrica do pesquisador\_\_\_\_\_

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA  
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP**

4 – Os seus benefícios de participar deste protocolo serão a avaliação detalhada da função do seu coração e a oportunidade de ter um acompanhamento contínuo com cardiologista da evolução da função do seu coração. Caso seja detectado durante o seguimento disfunção do coração o senhor será encaminhado para acompanhamento gratuito no Instituto do Coração na Unidade de Insuficiência Cardíaca e Transplante Cardíaco.

5 - Em qualquer etapa do estudo, o senhor (a) terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é a Dr Edimar Alcides Bocchi, que pode ser encontrada no endereço: Instituto do Coração (Incor), Unidade de Insuficiência Cardíaca e Transplante Cardíaco, Rua Enéas de Carvalho Aguiar, 44, Bloco II, AB Andar, Unidade de Insuficiência Cardíaca, Telefone 2661-5419 ou 99801-6432. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 2661-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, FAX: 2661-6442 ramal 26 – e-mail: [cappesq@hcnet.usp.br](mailto:cappesq@hcnet.usp.br);

6 - O senhor tem garantida a liberdade da retirada do consentimento a qualquer momento, podendo deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição;

7 – As informações a respeito do senhor (a) obtidas durante este estudo serão analisadas em conjunto com as de outros pacientes, não sendo divulgada a identificação de nenhum paciente;

8 - O Senhor (a) tem o direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas;

9 - Não há despesas pessoais para o senhor (a) em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

10 - Em caso de dano pessoal, diretamente causado pelos procedimentos ou tratamentos propostos neste estudo (nexo causal comprovado), o participante tem direito a tratamento médico na Instituição, bem como às indenizações legalmente estabelecidas

11 - O senhor (a) tem o nosso compromisso de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa

Rubrica do sujeito de pesquisa ou responsável\_\_\_\_\_

Rubrica do pesquisador\_\_\_\_\_

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA  
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP**

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo "Estudo Duplo-Cego Randomizado e Controlado sobre o efeito do Betabloqueador na Prevenção do Desenvolvimento de Cardiopatia Secundária a Quimioterápicos".

Eu discuti com o Dra. Sílvia Moreira Ayub Ferreira sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

-----  
Assinatura do paciente/representante legal Data \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

-----  
Assinatura da testemunha Data \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

*(Somente para o responsável do projeto)*

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

-----  
Assinatura do responsável pelo estudo Data \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

Rubrica do sujeito de pesquisa ou responsável\_\_\_\_\_

Rubrica do pesquisador\_\_\_\_\_

## Anexo 2 – Artigo publicado no *Journal of American College Cardiology*

JOURNAL OF THE AMERICAN COLLEGE OF CARDIOLOGY  
© 2018 BY THE AMERICAN COLLEGE OF CARDIOLOGY FOUNDATION  
PUBLISHED BY ELSEVIER

VOL. 71, NO. 20, 2018

### ORIGINAL INVESTIGATIONS

## Carvedilol for Prevention of Chemotherapy-Related Cardiotoxicity



### The CECCY Trial

Mônica Samuel Avila, MD,<sup>3,\*</sup> Sílvia Moreira Ayub-Ferreira, MD, PhD,<sup>3,\*</sup> Mauro Rogerio de Barros Wanderley, Jr, MD,<sup>3</sup> Fatima das Dores Cruz, RN,<sup>4</sup> Sara Michelly Gonçalves Brandão, RN,<sup>3</sup> Vagner Oliveira Carvalho Rigaud, PhD,<sup>4</sup> Marlíia Harumi Higuchi-dos-Santos, MD, PhD,<sup>5</sup> Ludhmila Abrahão Hajjar, MD, PhD,<sup>6,7</sup> Roberto Kalil Filho, MD, PhD,<sup>6,7</sup> Paulo Marcelo Hoff, MD, PhD,<sup>5</sup> Marina Sahade, MD,<sup>5</sup> Marcela S.M. Ferrari, MD,<sup>5</sup> Romulo Leopoldo de Paula Costa, MD,<sup>5</sup> Max Senna Mano, MD, PhD,<sup>5</sup> Cecília Beatriz Bittencourt Viana Cruz, MD,<sup>8,9</sup> Maria Cristina Abduch, VMD,<sup>8</sup> Marco Stephan Lofrano Alves, MD, PhD,<sup>8</sup> Guilherme Veiga Guimaraes, PhD,<sup>3</sup> Victor Sarli Issa, MD, PhD,<sup>3</sup> Marcio Sommer Bittencourt, MD, MPH, PhD,<sup>8,9,10</sup> Edimar Alcides Bocchi, MD, PhD<sup>3</sup>

#### ABSTRACT

**BACKGROUND** Anthracycline (ANT) chemotherapy is associated with cardiotoxicity. Prevention with  $\beta$ -blockers remains controversial.

**OBJECTIVES** This prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled study sought to evaluate the role of carvedilol in preventing ANT cardiotoxicity.

**METHODS** The authors randomized 200 patients with HER2-negative breast cancer tumor status and normal left ventricular ejection fraction (LVEF) referred for ANT (240 mg/m<sup>2</sup>) to receive carvedilol or placebo until chemotherapy completion. The primary endpoint was prevention of a  $\geq 10\%$  reduction in LVEF at 6 months. Secondary outcomes were effects of carvedilol on troponin I, B-type natriuretic peptide, and diastolic dysfunction.

**RESULTS** Primary endpoint occurred in 14 patients (14.5%) in the carvedilol group and 13 patients (13.5%) in the placebo group ( $p = 1.0$ ). No differences in changes of LVEF or B-type natriuretic peptide were noted between groups. A significant difference existed between groups in troponin I levels over time, with lower levels in the carvedilol group ( $p = 0.003$ ). Additionally, a lower incidence of diastolic dysfunction was noted in the carvedilol group ( $p = 0.039$ ). A nonsignificant trend toward a less-pronounced increase in LV end-diastolic diameter during the follow-up was noted in the carvedilol group ( $44.1 \pm 3.64$  mm to  $45.2 \pm 3.2$  mm vs.  $44.9 \pm 3.6$  mm to  $46.4 \pm 4.0$  mm;  $p = 0.057$ ).

**CONCLUSIONS** In this largest clinical trial of  $\beta$ -blockers for prevention of cardiotoxicity under contemporary ANT dosage, the authors noted a 13.5% to 14.5% incidence of cardiotoxicity. In this scenario, carvedilol had no impact on the incidence of early onset of LVEF reduction. However, the use of carvedilol resulted in a significant reduction in troponin levels and diastolic dysfunction. (Carvedilol Effect in Preventing Chemotherapy-Induced Cardiotoxicity [CECCY]; NCT01724450) (J Am Coll Cardiol 2018;71:2281-90) © 2018 by the American College of Cardiology Foundation.



Listen to this manuscript's audio summary by JACC Editor-in-Chief Dr. Valentin Fuster.



From the <sup>3</sup>Heart Failure Department, Heart Institute (InCor) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil; <sup>4</sup>Heart Institute (InCor) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil; <sup>5</sup>Instituto do Câncer do Estado de São Paulo-Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil; and the <sup>6</sup>Center for Clinical and Epidemiological Research, University Hospital, University of São Paulo, São Paulo, Brazil. \*Drs. Avila and Ayub-Ferreira contributed equally to this article and are joint first authors. This study was supported by Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP 2010/18078-8) as part of Mônica Samuel Avila's doctoral thesis under the guidance of Sílvia Moreira Ayub-Ferreira. Baldaçci Laboratories donated the carvedilol and placebo used in this study. The Baldaçci Laboratories did not participate in any phase of the study. Dr. Issa has received speaking honoraria from Novartis. Dr. M. Bittencourt has received unrestricted funding support from Sanofi; and speaking honoraria from Boston Scientific. Dr. Bocchi has received

ISSN 0735-1097/\$36.00

<https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.02.049>

**ABBREVIATIONS  
AND ACRONYMS**

**ANT** = anthracycline  
**BNP** = B-type natriuretic peptide  
**HF** = heart failure  
**ln** = natural logarithm  
**LV** = left ventricular/ventricle  
**LVEF** = left ventricular ejection fraction  
**Tnl** = troponin I

**D**espite advances in the survival of patients with cancer, their prognosis remains limited by complications that are frequently treatment related (1). Cardiovascular effects of chemotherapeutic agents are responsible for a significant proportion of severe complications, particularly among female patients with breast cancer (2). One of the most widely used agents (3,4), anthracyclines (ANT), is responsible for early and late dose-related cardiotoxicity, particularly overt heart failure (HF) (5-7).

Several primary and secondary prevention strategies have been proposed to reduce ANT-induced cardiotoxicity (8). These strategies extrapolate guideline-oriented therapies for HF to patients with chemotherapy-induced cardiomyopathy. This includes the use of  $\beta$ -blockers as a mainstay HF treatment based on their beneficial effects on neurohumoral activation, symptoms, and prognosis (9,10). In nonrandomized studies of secondary prevention of cardiotoxicity with enalapril and carvedilol, recovery of left ventricular ejection fraction (LVEF) was reported with early treatment after initial clinical presentation (11,12). Therefore, an earlier approach could determine greater success in the management of cardiotoxicity.

SEE PAGE 2291

However, the use of  $\beta$ -blockers for primary prevention of cardiotoxicity remains controversial. Previous trials supporting  $\beta$ -blocker use have many design limitations, such as being observational, open-label, single-blind, combined cardiovascular drugs, or limited number of patients (13-16). On the contrary, in the recent PRADA (Prevention of Cardiac Dysfunction During Adjuvant Breast Cancer Therapy) trial, metoprolol succinate was not associated with a reduction in the incidence of cardiotoxicity (17). However, carvedilol and metoprolol succinate have distinct pharmacologic properties (18,19).

In the face of controversial evidence supporting the use of  $\beta$ -blockers for primary prevention of anthracycline-induced cardiotoxicity (7,8,20), we conducted the CECCY (Carvedilol Effect in Preventing Chemotherapy-Induced Cardiotoxicity) trial, the aim of which was to test the effects of carvedilol for primary prevention of cardiotoxicity.

**METHODS**

**STUDY DESIGN.** The CECCY trial was a prospective, double-blind, randomized, placebo-controlled study conducted in the Heart Failure Department of Heart Institute (InCor) and the Cancer Institute, São Paulo, Brazil. Patients were referred from the Cancer Institute, and the Heart Failure Team of the Heart Institute was responsible for allocation, randomization, and optimization of the dose of carvedilol/placebo. Data were collected, managed, and analyzed by the Heart Failure Team after the end of the study.

The institutional review board at both institutions approved the trial protocol (Figure 1). All participants were informed about the research objectives, research protocol, and treatment alternatives involved in the study, and all participants provided written informed consent to participate in the study. The trial was registered at the ClinicalTrials.gov (NCT01724450) before study initiation.

**STUDY PATIENTS.** We included all consecutive patients with HER2-negative breast cancer tumor status and therapy that included anthracycline, cyclophosphamide, and taxane from April 23, 2013 to January 3, 2017. The standard chemotherapy protocol comprised 4 cycles of cyclophosphamide 600 mg/m<sup>2</sup> and doxorubicin 60 mg/m<sup>2</sup> every 21 days (with a total cumulative dose of 240 mg/m<sup>2</sup>), followed by paclitaxel 80 mg/m<sup>2</sup> weekly for 8 weeks.

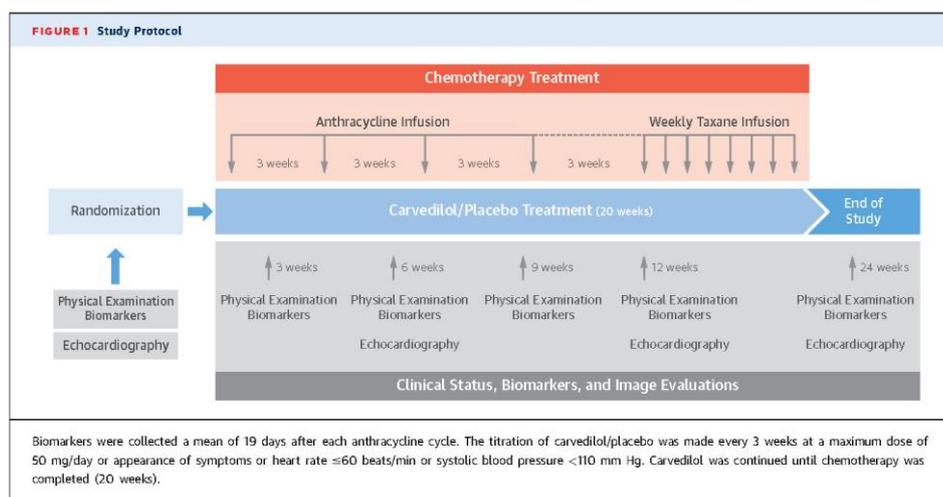
Eligibility requirements included an age of at least 18 years, diagnosis of invasive breast adenocarcinoma, with an indication for adjuvant or neoadjuvant therapy.

Exclusion criteria included the impossibility of left ventricular (LV) function evaluation; prior history of chemotherapy or radiation; HF symptoms; prior diagnosis of cardiomyopathy, coronary artery disease, moderate to severe mitral and aortic disease; use of angiotensin-converting enzyme inhibitors, angiotensin receptor blockers, or  $\beta$ -blockers; contraindication to the use of  $\beta$ -blockers; and patients with HER2 expression.

**RANDOMIZATION, ALLOCATION, AND INTERVENTION.** Randomization was on a 1:1 ratio to receive carvedilol or placebo. The randomization included a pre-defined stratification according to menopause status

consulting fees from Servier and AstraZeneca; subsidized travel/hotel/registration fees and other honoraria from Servier; serves on steering committees for Servier and Novartis; and is a contracted researcher for Jansen and Bayer/Merck. All other authors have reported that they have no relationships relevant to the contents of this paper to disclose.

Manuscript received February 16, 2018; revised manuscript received February 28, 2018, accepted February 28, 2018.



considering the potential difference in cardiotoxicity risk between pre- and post-menopause (21). The randomization was performed with a computer-based randomization list in blocks of 4, including 2 carvedilol and 2 placebos. Data on randomization and allocation were maintained in the custody of an independent research pharmacy at the Cancer Institute.

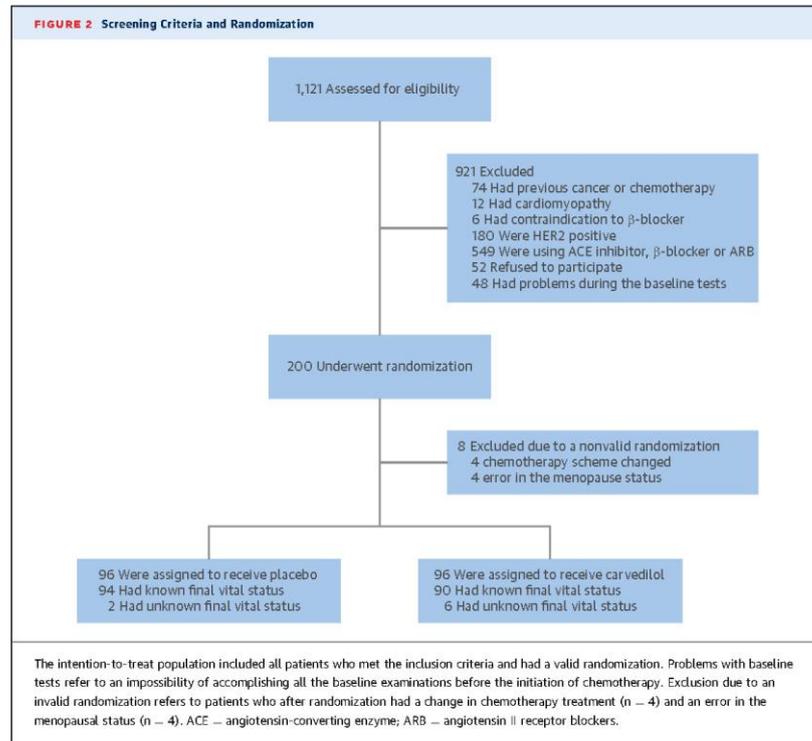
Carvedilol and placebo were administered in a progressive manner with incremental dosing at 3-week intervals beginning with a dose of 3.125 mg twice a day, which was then increased to 6.25 mg, then to 12.5 mg, to a maximum dose of 25 mg every 12 h or until the appearance of intolerable symptoms or heart rate  $\geq 60$  beats/min or systolic blood pressure  $< 110$  mm Hg. Carvedilol and placebo were continued until completion of chemotherapy.

**STUDY PROCEDURES.** All eligible patients underwent a baseline transthoracic echocardiogram and routine laboratory tests including biomarkers before randomization. If the patient met the eligibility criteria, the randomization was performed. After randomization, the medication was initiated on the first day of chemotherapy. The following sequential measurements of biomarkers were performed in a median of 19 days after each ANT cycle. The echocardiography, troponin I (TnI), and B-type natriuretic peptide (BNP) follow-up evaluations are summarized in Figure 1.

The quantitative TnI determination was obtained by means of a 3-step sandwich immunoassay using

direct chemiluminescent technology and constant amounts of 2 monoclonal antibodies. An auxiliary reagent is included to reduce nonspecific binding using the ADVIA Centaur TnI-Ultra commercial kit (Siemens Healthcare Diagnostics, Tarrytown, New York). The level of detection was 0.006 ng/ml. Levels  $< 0.006$  were reported as 0.005 ng/ml. The normal range of TnI was  $< 0.04$  ng/ml. Plasma concentration of BNP was obtained with a 2-step sandwich immunoassay using direct chemiluminescent technology and constant amounts of 2 monoclonal antibodies using the commercial kit ADVIA Centaur (Siemens Healthcare, Malvern, Pennsylvania). The results are presented in pg/ml. The level of detection was 2 pg/ml. Levels  $< 2$  are reported as 1 pg/ml.

Transthoracic echocardiography was performed with a commercially available system (Envisor Philips, Philips Healthcare, Andover, Massachusetts). All the measurements were performed and reported according to the recommendations of the American Society of Echocardiography (22). LVEF was measured by Simpson rule, throughout apical 4- and 2-chamber views. We also assessed the following echocardiographic parameters: left atrium diameter, interventricular septum diameter, posterior wall thickness, LV end-diastolic diameter, LV end-systolic diameter, and mitral inflow with the use of Doppler echocardiography (23). Diastolic function was evaluated by mitral inflow E/A pattern, E/A ratio, E velocity deceleration time, annular tissue Doppler



curves ( $e'/a'$ ), and  $E/e'$  ratio (22). All echocardiography data was stored including the original DICOM (Digital Imaging and Communications in Medicine) images. These images were stored on a secure institutional drive. All scans were read by experienced board-certified echocardiographers who were blinded to all clinical characteristics.

**STUDY ENDPOINTS.** The primary endpoint was an early onset drop in LVEF of at least 10% from baseline until the end of chemotherapy at 6 months (24). The secondary endpoints were changes in the levels of TnI (TnI >0.04 ng/ml), BNP, and in diastolic dysfunction recommended by guidelines at the time of the study design (23).

**STATISTICAL ANALYSIS.** The sample size was calculated with an expected incidence of cardiotoxicity of 23% with the use of ANT and an expected reduction to 8% with the addition of  $\beta$ -blockers (15).

We estimated a loss of follow-up of 5%, statistical significance level of 95%, and 80% power.

Quantitative variables are expressed as mean  $\pm$  SD when normally distributed or as median (interquartile range) if the hypothesis of normality was rejected. For troponins and BNP levels, we performed a natural logarithm (ln) transformation to normalize the data. Categorical variables were compared using the Fisher exact test, including the comparison of the prevalence of LV dysfunction at the end of chemotherapy and occurrence of side effects. For the clinical outcomes, we performed a log-rank test to compare the incidence of events across groups.

For the longitudinal analysis of the echocardiography parameters, ln-transformed troponins, and BNP, we plotted the mean and 95% confidence intervals stratified by treatment group on linear graphs. We then constructed longitudinal linear mixed-effects models to compare the 2 treatment groups.

For the longitudinal mixed models, we constructed models including the interaction of time and treatment group with a fixed intercept, assuming baseline measurements of each predictor were similar across groups due to the randomized design of the study. The difference between groups was considered significant if the interaction term between group and time was significant. Due to the previously known nonlinearity of the evolution of troponin over time after ANT use, which was also seen in our data, we pre-specified an additional model for the evaluation of ln-transformed troponin levels across time. In this model, time was included as a quadratic function by the inclusion of first- and second-order time variables to accommodate the biphasic behavior of the troponin levels in each group. Then, we evaluated the interaction of time and time squared with the treatment group to assess the longitudinal differences in the distribution of the ln troponin over time. Additionally, to provide a single overall level of significance for the difference in the TnI levels between the 2 groups, we then constructed a model without interaction terms and compared it with a model including both interaction terms using a likelihood ratio test as 1 model was nested into the other. For the longitudinal analysis of diastolic dysfunction, we have used generalized estimating equations using the logit function, as the outcome was binary. For the analysis of the difference in prevalence of diastolic dysfunction, an interaction term of treatment group and medication was created, and the analysis was performed with the same strategy described for the longitudinal mixed-effects models used for the continuous variables. The statistical analysis was performed using Stata version 14.0 (StataCorp, College Station, Texas) and the level of significance was defined as  $p < 0.05$ .

## RESULTS

From April 2013 to January 2017, we screened 1,122 consecutive patients with breast cancer referred for ANT chemotherapy (Figure 2). We randomized 200 patients; 8 of them had no valid randomization. The reasons for an invalid randomization were change in chemotherapy scheme ( $n = 4$ ) and error in the information about menopausal status ( $n = 4$ ). Thus, 192 patients were randomly assigned to receive carvedilol or placebo for the intention-to-treat analysis. The baseline characteristics of the patients were statistically balanced across groups (Table 1). Online Table 1 demonstrates the percentage of patients at the different dose ranges of carvedilol or placebo. Also, the mean serum creatinine levels were also

**TABLE 1** Baseline Characteristics of Patients

	Carvedilol (n = 96)	Placebo (n = 96)	p Value
Age, yrs	50.80 ± 10.10	52.90 ± 9.05	0.14
Menopause			0.88
Pre-menopause	49 (51.0)	48 (50.0)	
Post-menopause	47 (49.0)	48 (50.0)	
Therapy			0.054
Neoadjuvant	56 (58.3)	42 (43.7)	
Adjuvant	40 (41.6)	52 (54.1)	
Palliative	0 (0.0)	2 (2.0)	
Maximal tolerated carvedilol/placebo dose, mg/day	18.50 ± 17.60	22.20 ± 15.57	0.078
Body mass index, kg/m <sup>2</sup>	27.28 ± 5.04	27.48 ± 5.79	0.76
Cardiovascular risk factors			
Hypertension	3 (3.1)	9 (9.3)	0.13
Diabetes mellitus	4 (4.1)	5 (5.2)	1.0
Hypercholesterolemia under statin treatment	6 (6.2)	2 (2.0)	0.54
Current/past smokers	24 (25.0)	26 (27.0)	0.87
Systolic blood pressure, mm Hg	120.3 ± 16.6	124.8 ± 17.2	0.07
Diastolic blood pressure, mm Hg	77.9 ± 11.9	78.4 ± 10.2	0.73
Heart rate, beats/min	80.0 ± 14.1	82.4 ± 12.6	0.21
Serum troponin I baseline, ng/ml	0.005 (0.005-0.005)	0.005 (0.005-0.005)	0.99
Serum BNP, pg/ml	16.00 (8.25-25.00)	12.00 (6.00-21.00)	0.55

Values are mean ± SD, n (%), or median (interquartile range).  
BNP = B-type natriuretic peptide.

balance between groups,  $0.70 \pm 0.12$  mg/dl in carvedilol group and  $0.723 \pm 0.13$  mg/dl.

**PRIMARY ENDPOINT.** During the follow-up, 27 patients (14.0%) had a decrease of at least 10% in LVEF at 6 months after the initiation of chemotherapy. Of these patients, 14 (14.5%) were in the carvedilol group and 13 (13.5%) were in the placebo group ( $p = 1.0$ ). In an exploratory manner, considering an alternative definition of cardiotoxicity as a decrease of 10 percentage points to a value below the lower normal value of 55% in our center (25), only 1 patient (1%) in the placebo group and none in the carvedilol group fulfilled criteria for cardiotoxicity and had a decrease of LVEF to 35% (Table 2).

The mean baseline LVEF was  $65.2 \pm 3.6\%$  in the placebo group and  $64.8 \pm 4.7\%$  in the carvedilol group. After 6 months of chemotherapy, LVEF was  $63.9 \pm 5.2\%$  in the placebo group and  $63.9 \pm 3.8\%$  in the carvedilol group (Table 2), a nonsignificant absolute LVEF reduction of 1.3% in the placebo group and 0.9% in the carvedilol group. No changes in LVEF from baseline throughout the 6 months were noted between groups ( $p = 0.84$ ) (Figure 3A).

Taking into account menopausal status, no difference was seen between carvedilol and placebo in both subgroups pre- and post-menopause.

TABLE 2 Primary and Secondary Endpoints			
	Placebo (n = 96)	Carvedilol (n = 96)	p Value
<b>Primary endpoints</b>			
Patients with decrease in LVEF >10%	13 (13.5)	14 (14.5)	1.00
Sequential LVEF, %			0.84
Baseline	65.2 ± 3.6	64.8 ± 4.7	
6 weeks	64.5 ± 3.6	64.2 ± 8.0	
12 weeks	64.6 ± 4.0	64.0 ± 3.9	
24 weeks	63.9 ± 5.2	63.9 ± 3.8	
<b>Secondary endpoints</b>			
<b>Biomarkers</b>			
<b>Troponin I</b>			
Troponin I—patients with values ≥0.04 ng/ml	40 (41.6)	25 (26.0)	0.003
Sequential troponin, ng/ml			0.003*
Baseline	0.005 (0.005-0.005)	0.005 (0.005-0.005)	
3 weeks	0.001 (0.000-0.010)	0.006 (0.000-0.011)	
6 weeks	0.006 (0.000-0.013)	0.006 (0.000-0.010)	
9 weeks	0.015 (0.008-0.030)	0.014 (0.006-0.019)	
12 weeks	0.037 (0.022-0.058)	0.026 (0.017-0.044)	
24 weeks	0.010 (0.000-0.024)	0.016 (0.007-0.028)	
Sequential BNP, pg/ml			0.85†
Baseline	12.00 (6.00-21.00)	16.00 (8.25-25.00)	
3 weeks	13.00 (7.50-22.00)	17.00 (10.00-28.00)	
6 weeks	12.00 (6.00-22.00)	17.00 (9.00-27.00)	
9 weeks	14.00 (5.00-26.00)	18.00 (8.75-33.25)	
12 weeks	11.00 (6.00-23.00)	17.00 (9.50-31.00)	
24 weeks	10.00 (6.00-23.00)	13.00 (7.00-20.00)	
<b>Abnormal echo diastolic function—patients‡</b>			
Baseline	14 (15.2)	21 (21.8)	0.039
24 weeks	32 (37.2)	24 (28.5)	

Values are n (%), mean ± SD, or median (interquartile range). \*Linear mixed-effects model with time modeled as a quadratic function (p = 0.003 for the likelihood ratio between nested models). †Linear mixed-effects model. ‡Total number of patients in placebo group: 86; total number of patients in carvedilol group: 84 (missing data due to technical limitations for echocardiograms after breast cancer surgery, missing patients, or death).  
BNP = brain natriuretic peptide; Echo = echocardiogram; LVEF = left ventricular ejection fraction.

**ECHOCARDIOGRAM MEASUREMENTS.** During the follow-up, a trend toward a less-pronounced increase in LV end-diastolic diameter was noted in the carvedilol group compared with placebo (from 44.1 ± 3.3 mm to 45.2 ± 3.2 mm vs. from 44.9 ± 3.6 mm to 46.4 ± 4.0 mm, respectively; p = 0.057) (Figure 3B). No differences across groups in left atrium septal or posterior wall or LV end-systolic diameter were noted over time (Online Tables 2 to 7).

**SECONDARY ENDPOINTS.** TnI levels increased from baseline until the end of the study in both groups (Table 2). However, this increase of TnI levels over time was attenuated in the carvedilol arm (p = 0.003) (Central Illustration). Sixty-five patients (33.8%) had plasma levels of TnI >0.04 ng/ml. Of these, 25 (26.0%) were in the carvedilol and 40 (41.6%) were in the placebo group (p = 0.03) (Table 2, Online Figure 1).

After the end of ANT cycles, a drop occurred in TnI levels in both groups (Central Illustration). For BNP, however, no difference occurred across groups over the course of follow-up (p = 0.85) (Table 2).

We found a lower incidence of diastolic dysfunction in the carvedilol compared with the placebo group (p = 0.039) (Table 2). The incidence of diastolic dysfunction in the placebo group increased progressively during ANT treatment, but not in the carvedilol group (Online Figure 2). The majority (91%) of diagnosed diastolic dysfunction cases were classified as diastolic dysfunction grade 1, relaxation abnormality.

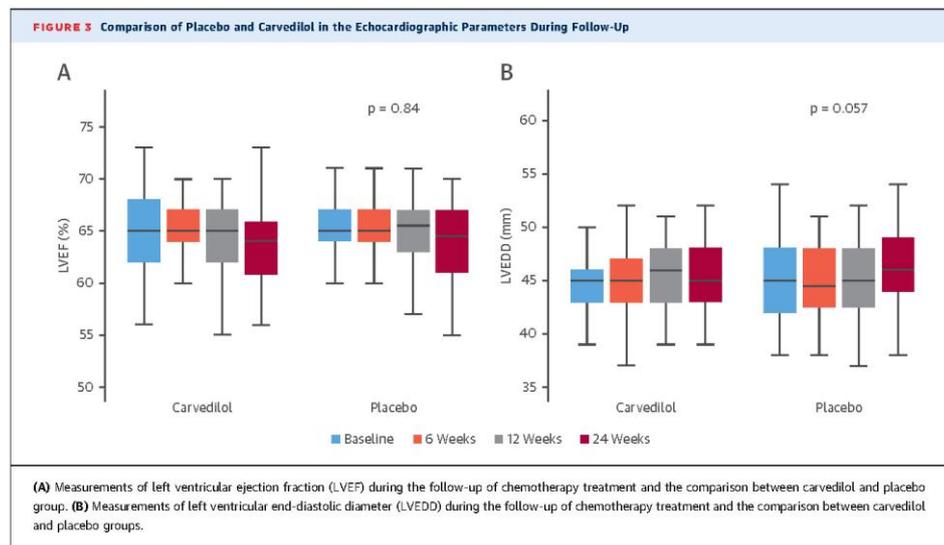
**CLINICAL EVENTS.** No differences were found in the incidence of clinical events across groups. Two deaths (2.1%) occurred in the placebo and 2 (2.1%) in the carvedilol group (p = 1.00), all due to cancer progression. In the placebo group, we observed 1 case of de novo HF and 1 case of asymptomatic atrial flutter with normal LVEF. A detailed description of all clinical events is presented in Online Table 7.

A significant difference occurred in both systolic and diastolic blood pressure in the carvedilol compared with the placebo group at 12 and 24 weeks (Online Figures 3 and 4). Similarly, heart rate in the carvedilol group was lower than that in the placebo group from 6 weeks up to 24 weeks (Online Figure 5).

No differences occurred in the incidence of side effects or carvedilol/placebo discontinuation across groups. The most common adverse event in the placebo group was dizziness and in the carvedilol group symptomatic hypotension (Online Table 8). No serious adverse events occurred, and carvedilol was well tolerated. Nine patients stopped the drug due to side effects, 6 (6.2%) in the placebo group and 3 (3.1%) in the carvedilol group (p = 0.30).

## DISCUSSION

To the best of our knowledge, the CECCY trial is the largest prospective randomized double-blind trial evaluating the use of cardiovascular drugs for primary prevention of ANT cardiotoxicity. In patients receiving contemporary doses of ANT, a low prevalence of cardiovascular comorbidities and risk factors for cardiotoxicity, a small percentage of patients experienced an early onset reduction in LVEF, which was not influenced by the use of carvedilol. Nevertheless, carvedilol was associated with attenuated peak levels of TnI and a lower percentage of patients experiencing increases in serum TnI levels. Also, its use was associated with a trend toward a less pronounced increase in LV diastolic diameter and a reduction in the percentage of patients with diastolic dysfunction.

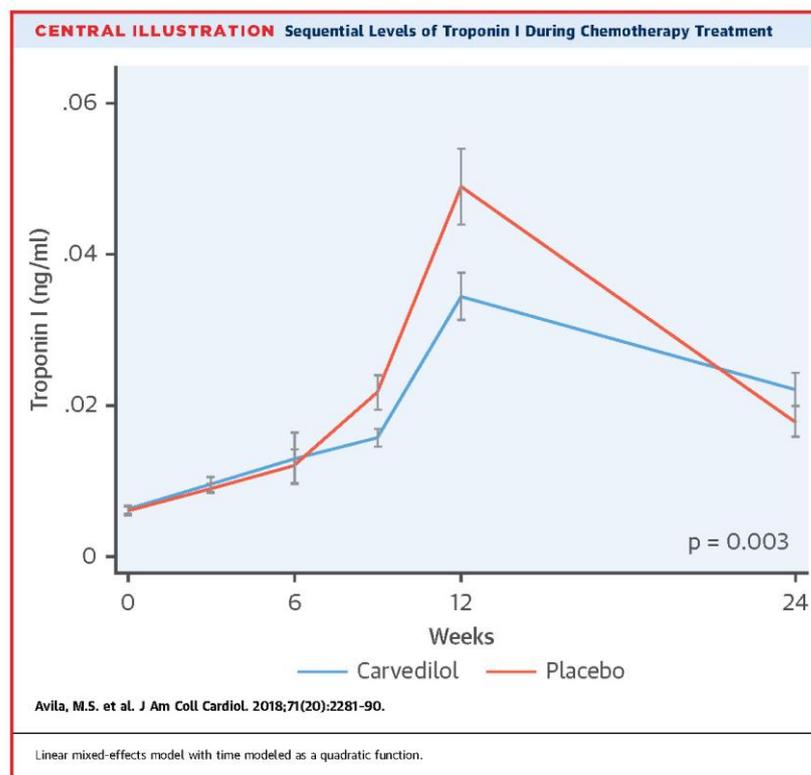


Our TnI results are in accordance with those of a small single-blind trial showing TnI reduction with carvedilol (26). The effect of carvedilol on attenuation of troponin levels is not well understood. Antioxidant pharmacological properties of carvedilol and its protection against free radicals could contribute to its beneficial effects (1). The attenuation of TnI increase could improve prognosis of patients receiving high-dose ANT treatment. High TnI predicts subsequent LVEF reduction and cardiac events (1,27-29). However, there are currently no data showing that troponin-based management improves cardiovascular outcomes in this population. In fact, the correlation between TnI levels and LVEF reduction has been reported in coronary artery disease but not in diffuse myocardial injury or other causes of cardiac troponin release not associated with myocardial ischemia (30). Troponin cardiac release may result from chronic cardiac damage without acute myocardial necrosis (30). In this scenario, evidence exists that any increased serum levels of troponin might be associated with an impaired outcome in various clinical settings (30). Accordingly, our observed discordance between the elevations of troponin without a change in LVEF is not well established. The elevation of troponin in our study was a mild elevation, barely exceeding the upper limit of mortality, demonstrating that chemotherapy

with ANT at these doses may lead to myocardial injury, but this lesion may not be expressive enough to affect myocardial function.

Our results concerning LVEF changes are closed to the recent PRADA trial results with contemporary ANT dosage (17). PRADA also did not demonstrate the protective effect of metoprolol succinate in the primary prevention of cardiotoxicity. This study showed a numerically modest absolute reduction in the LVEF in both groups (placebo group drop of 1.8% and 1.6% in metoprolol group). In our study, the decrease was even lower (drop of 1.3% in placebo group and 0.9% in carvedilol group), though the technique for measuring LVEF was different in the 2 studies, as cardiac magnetic resonance imaging was performed in the PRADA trial.

In contrast with our findings, several randomized trials reported a higher incidence of cardiotoxicity and a beneficial effect of carvedilol or nebivolol in prevention of cardiotoxicity (15,16,26,31,32). Potential explanations for these apparent discrepancies may include small sample sizes, previously reported higher doses of ANT, heterogeneity of included populations with differences in risk factors, cardiovascular comorbidities, types of cancer and chemotherapy protocols, and differences in follow-up duration and in study methodology. Patients receiving high cumulative doses of ANT and with a



higher prevalence of risk factors have a high risk for cardiotoxicity (25).

Despite the lack of differences in the incidence of clinically defined cardiotoxicity across our groups, the use of carvedilol was associated with a tendency toward reduction in LV end-diastolic diameter and attenuation of worsening of diastolic LV function. It suggests that carvedilol could influence LV remodeling in this setting.

**STUDY LIMITATIONS.** First, the clinical trial was conducted in a single center. Despite that, the sample was a representative population of breast cancer patients, and it is, to the best of our knowledge, the largest study using cardiovascular drugs for cardiotoxicity prevention. Second, the incidence of early onset cardiotoxicity was 13.5% to 14.5%, lower than we expected, which might reduce the statistical power to study carvedilol effects. Third, the dose of

carvedilol was optimized during chemotherapeutic treatment and may indicate that the target dose was reached at a later stage of chemotherapy. However, the effect of carvedilol was already noted early at 6 weeks based on heart rate. Also the maximal dose of carvedilol was obtained before the time of the peak of TnI levels and the highest cumulative dose of ANT. Fourth, the maximum tolerated dose of carvedilol and placebo less than what was expected. This finding could be predictable in the carvedilol group but not in the placebo group, suggesting an unknown mechanism of chemotherapy treatment and cancer impairing the titration of the drug even in the placebo arm. Fifth, other parameters to assess diastolic dysfunction have been published more recently (33), but this does not invalidate the evaluation in the present study, because all parameters that were used are extremely reproducible and have had an

important role in the evaluation of diastolic dysfunction and in the prognosis in predicting HF (34). Sixth, the interobserver variability might have influenced the repeated LVEF measurements, though this is unlikely to affect the point estimates of our findings, as this equally affects both groups across time. Seventh, as the primary endpoint was not met, any statements related to the secondary endpoints need to be carefully interpreted, although the additional information provided by the changes in troponin levels and diastolic function over time adds meaningful information and may aid on the mechanistic understanding of the pathophysiology of LV dysfunction in this scenario. And finally, the short follow-up period (6 months) could be considered a limitation. Nevertheless, early reduction in LVEF of 10% has been previously reported at the end of chemotherapy in patients developing cardiotoxicity, and indeed the detection of the initial disease allows the possibility of prompt treatment and consequent recovery of LVEF (12).

#### CONCLUSIONS

The incidence of early onset cardiotoxicity with contemporary doses of ANT was lower than expected with moderate to high doses of ANT. In this scenario, the use of carvedilol did not result in significant changes in LV function in up to 6 months of

follow-up. However, the TnI elevation was significant and attenuated by carvedilol use, suggesting a protective effect of carvedilol in myocardial injury.

**ACKNOWLEDGMENT** The authors extend special thanks to Maria de Lourdes Ribeiro for supporting the administrative logistics of the trial.

**ADDRESS FOR CORRESPONDENCE:** Dr. Edimar Alcides Bocchi, Heart Failure Department, Heart Institute (InCor) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, R. Dr. Eneas de Carvalho Aguiar 44, São Paulo 05403900, Brazil. E-mail: dclledimar@incor.usp.br.

#### PERSPECTIVES

##### COMPETENCY IN PATIENT CARE AND PROCEDURAL

**SKILLS:** In patients undergoing ANT chemotherapy, carvedilol might prevent or delay the onset of cardiac injury and adverse myocardial remodeling.

**TRANSLATIONAL OUTLOOK:** Clinical trials with longer follow-up are required to evaluate the safety and efficacy of carvedilol for prevention of cardiotoxicity in patients receiving ANT chemotherapy, determine optimum timing and dosing regimens, and delineate the impact of treatment on both cardiac function and clinical outcomes.

#### REFERENCES

- Bloom MW, Hamo CE, Cardinale D, et al. Cancer therapy-related cardiac dysfunction and heart failure: part 1: definitions, pathophysiology, risk factors, and imaging. *Circ Heart Fail* 2016;9:e002661.
- Patnaik JL, Byers T, DiGiuseppe C, Dabelea D, Denberg TD. Cardiovascular disease competes with breast cancer as the leading cause of death for older females diagnosed with breast cancer: a retrospective cohort study. *Breast Cancer Res* 2011;13:R64.
- Ewer MS, Ewer SM. Cardiotoxicity of anticancer treatments. *Nat Rev Cardiol* 2015;12:620.
- Miller KD, Siegel RL, Lin CC, et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2016. *CA Cancer J Clin* 2016;66:271-89.
- Suter TM, Ewer MS. Cancer drugs and the heart: importance and management. *Eur Heart J* 2013;34:1102-11.
- Valachis A, Nilsson C. Cardiac risk in the treatment of breast cancer: assessment and management. *Breast Cancer (Dove Med Press)* 2015;7:21-35.
- Henniksen PA. Anthracycline cardiotoxicity: an update on mechanisms, monitoring and prevention. *Heart* 2017 Dec 7 [E-pub ahead of print].
- Vepongsa P, Yeh ET. Prevention of anthracycline-induced cardiotoxicity: challenges and opportunities. *J Am Coll Cardiol* 2014;64:938-45.
- Bocchi EA, Marcondes-Braga FG, Bacal F, et al. [Updating of the Brazilian guideline for chronic heart failure—2012]. *Arq Bras Cardiol* 2012;98:1-33.
- Hamo CE, Bloom MW. Cancer and heart failure: understanding the intersection. *Card Fail Rev* 2017;3:66-70.
- Cardinale D, Colombo A, Lamantia G, et al. Anthracycline-induced cardiomyopathy: clinical relevance and response to pharmacologic therapy. *J Am Coll Cardiol* 2010;55:213-20.
- Cardinale D, Colombo A, Bacchiani G, et al. Early detection of anthracycline cardiotoxicity and improvement with heart failure therapy. *Circulation* 2015;131:1981-8.
- Seicean S, Seicean A, Alan N, Plana JC, Budd GT, Marwick TH. Cardioprotective effect of  $\beta$ -adrenoceptor blockade in patients with breast cancer undergoing chemotherapy: follow-up study of heart failure. *Circ Heart Fail* 2013;6:420-6.
- Bosch X, Rovira M, Sitges M, et al. Enalapril and carvedilol for preventing chemotherapy-induced left ventricular systolic dysfunction in patients with malignant hemopathies: the OVERCOME trial (prevention of left ventricular dysfunction with Enalapril and carvedilol in patients submitted to intensive Chemotherapy for the treatment of Malignant Hemopathies). *J Am Coll Cardiol* 2013;61:2355-62.
- Kalay N, Basar E, Ozdogru I, et al. Protective effects of carvedilol against anthracycline-induced cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2006;48:2258-62.
- Kaya MG, Ozkan M, Gunebakmaz O, et al. Protective effects of nebivolol against anthracycline-induced cardiomyopathy: a randomized control study. *Int J Cardiol* 2013;167:2306-10.
- Gulati G, Heck SL, Ree AH, et al. Prevention of Cardiac Dysfunction During Adjuvant Breast Cancer Therapy (PRADA): a 2 × 2 factorial, randomized, placebo-controlled, double-blind clinical trial of candesartan and metoprolol. *Eur Heart J* 2016;37:1671-80.
- Eichhorn EJ, Domanski MJ, Krause-Steinrauf H, et al. for the Beta-Blocker Evaluation of Survival Trial Investigators. A trial of the beta-blocker bucindolol in patients with advanced chronic heart failure. *N Engl J Med* 2001;344:1659-67.

19. Yue TL, Cheng HY, Lysko PG, et al. Carvedilol, a new vasodilator and beta adrenoceptor antagonist, is an antioxidant and free radical scavenger. *J Pharmacol Exp Ther* 1992;263:92-8.
20. McGowan JV, Chung R, Maulik A, Piotrowska I, Walker JM, Yellon DM. Anthracycline chemotherapy and cardiotoxicity. *Cardiovasc Drugs Ther* 2017;31:63-75.
21. Khosrow-Khavar F, Fillon KB, Al-Qurashi S, et al. Cardiotoxicity of aromatase inhibitors and tamoxifen in postmenopausal women with breast cancer: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Ann Oncol* 2017;28:487-96.
22. Lang RM, Badano LP, Mor-Avi V, 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. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging* 2015;16:233-70.
23. Nagueh SF, Appleton CP, Gillebert TC, et al. Recommendations for the evaluation of left ventricular diastolic function by echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* 2009;22:107-33.
24. National Institutes of Health. Common Terminology Criteria for Adverse Events v4.0 (CTCAE). Version 4.02. Bethesda, MD: US Department of Health and Human Services, 2009.
25. Zamorano JL, Lancellotti P, Rodriguez Muñoz D, et al. 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 Heart J* 2016;37:2768-801.
26. Nabati M, Jarbabai G, Baghyari S, Esmaili K, Yazdani J. Cardioprotective effects of carvedilol in inhibiting doxorubicin-induced cardiotoxicity. *J Cardiovasc Pharmacol* 2017;69:279-85.
27. Sawaya H, Sebag IA, Plana JC, et al. Assessment of echocardiography and biomarkers for the extended prediction of cardiotoxicity in patients treated with anthracyclines, taxanes, and trastuzumab. *Circ Cardiovasc Imaging* 2012;5:596-603.
28. Cardinale D, Colombo A, Torrisi R, et al. Trastuzumab-induced cardiotoxicity: clinical and prognostic implications of troponin I evaluation. *J Clin Oncol* 2010;28:3910-6.
29. Cardinale D, Sandri MT, Colombo A, et al. Prognostic value of troponin I in cardiac risk stratification of cancer patients undergoing high-dose chemotherapy. *Circulation* 2004;109:2749-54.
30. Thygesen K, Mair J, Katus H, et al. Recommendations for the use of cardiac troponin measurement in acute cardiac care. *Eur Heart J* 2010;31:2197-204.
31. Tashakori Beheshti A, Mostafavi Toroghi H, Hosseini G, Zarifian A, Homaei Shandiz F, Fazlinezhad A. Carvedilol administration can prevent doxorubicin-induced cardiotoxicity: a double-blind randomized trial. *Cardiology* 2016;134:47-53.
32. Elitok A, Oz F, Cizgici AY, et al. Effect of carvedilol on silent anthracycline-induced cardiotoxicity assessed by strain imaging: a prospective randomized controlled study with six-month follow-up. *Cardiol J* 2014;21:509-15.
33. Nagueh SF, Smiseth OA, Appleton CP, et al. Recommendations for the evaluation of left ventricular diastolic function by echocardiography: an update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging* 2016;17:1321-60.
34. Troughton RW, Prior DL, Frampton CM, et al. Usefulness of tissue Doppler and color M-mode indexes of left ventricular diastolic function in predicting outcomes in systolic left ventricular heart failure (from the ADEPT study). *Am J Cardiol* 2005;96:257-62.

**KEY WORDS**  $\beta$ -blockers, cardiomyopathy, chemotherapy, prevention, troponin

**APPENDIX** For supplemental figures and tables, please see the online version of this paper.

## Anexo 3 – Editorial do estudo publicado no *Journal of American College Cardiology*

JOURNAL OF THE AMERICAN COLLEGE OF CARDIOLOGY  
© 2018 BY THE AMERICAN COLLEGE OF CARDIOLOGY FOUNDATION  
PUBLISHED BY ELSEVIER

VOL. 71, NO. 20, 2018

### EDITORIAL COMMENT

## Beta-Blockers for Primary Prevention of Anthracycline Cardiotoxicity



### Not Quite Ready for Prime Time\*

Aarti Asnani, MD

Cancer survival rates have improved significantly over the past few decades. In 2016, there were 15.5 million cancer survivors in the United States—a number that is expected to increase to 20 million over the next 10 years (1). Despite the increasing use of targeted antitumor agents, many of these patients will have received traditional cytotoxic chemotherapies such as the anthracyclines, which continue to serve as the backbone of treatment regimens for breast cancer, leukemia, and lymphoma. Dose-dependent cardiotoxicity has long been recognized as a major adverse effect associated with anthracycline therapy (2). Even with contemporary dosing of anthracyclines, roughly 10% of all-comers develop cardiotoxicity during the first year after chemotherapy (3), with higher incidences reported in the setting of advanced age, pre-existing cardiovascular disease, prior exposure to cardiotoxic cancer therapies, and aggressive hematologic malignancies. Although the increased morbidity and mortality associated with congestive heart failure is well-established, less is known about the clinical significance of an asymptomatic decrease in left ventricular function during cancer therapy. In either scenario, a diagnosis of cardiotoxicity often prompts clinicians to hold or discontinue otherwise effective antitumor therapy and can lead to the use of suboptimal cancer treatment regimens. As such, the development of evidence-based cardioprotective

strategies represents an important unmet need in cardio-oncology.

SEE PAGE 2281

In this issue of the *Journal*, Avila et al. (4) assessed the efficacy of carvedilol for the primary prevention of anthracycline cardiotoxicity. The authors prospectively randomized 192 consecutive patients with HER2-negative invasive breast adenocarcinoma to either carvedilol or placebo in a double-blind study design. All patients were treated with a standard regimen of doxorubicin at a cumulative dose of 240 mg/m<sup>2</sup>, cyclophosphamide, and taxanes. Biomarker assessment and echocardiography were performed at baseline (before chemotherapy) and every 3 or 6 weeks, respectively, until the completion of chemotherapy at 6 months. Carvedilol or placebo was administered on the first day of chemotherapy and up-titrated every 3 weeks to an average carvedilol dose of 18.5 ± 17.6 mg/day. The primary endpoint, prevention of a reduction in left ventricular ejection fraction of ≥10 percentage points from baseline to 6 months, occurred in approximately 14% of patients and was not different between the treatment and placebo groups. Notably, the absolute reduction in left ventricular ejection fraction from baseline to 6 months was minimal (0.9% in the carvedilol group and 1.3% in the placebo group; p = nonsignificant). Only 1 patient treated with placebo experienced a decrease in left ventricular ejection fraction to <55%; similarly, a single patient in the placebo group developed symptomatic congestive heart failure. Although the primary endpoint was not achieved, changes in secondary endpoints suggested a potential benefit with carvedilol treatment, including a less pronounced increase in left ventricular end-diastolic diameter (p = 0.057) and troponin I levels (p = 0.003) as well as a

\*Editorials published in the *Journal of the American College of Cardiology* reflect the views of the authors and do not necessarily represent the views of JACC or the American College of Cardiology.

From the CardioVascular Institute, Beth Israel Deaconess Medical Center and Harvard Medical School, Boston, Massachusetts. Dr. Asnani has reported that she has no relationships relevant to the contents of this paper to disclose.

lower incidence of grade I diastolic dysfunction ( $p = 0.039$ ).

The concept of beta-blockade as a cardioprotective strategy arises from extensive preclinical literature supporting its antioxidant and antiapoptotic effects in the setting of anthracycline-induced cardiomyocyte injury. Carvedilol in particular has been shown to mitigate anthracycline-induced mitochondrial dysfunction (5). These observations served as the foundation for prior small clinical trials that randomized  $\approx 100$  patients to beta-blocker therapy or placebo. The results of these initial studies were mixed, ranging from preservation of left ventricular function with carvedilol and nebivolol (6,7) to no effect with metoprolol (8). A larger, retrospective study in patients receiving anthracyclines with or without the anti-HER2 monoclonal antibody trastuzumab suggested that patients treated with any beta-blocker had a lower incidence of heart failure events, although the risk of developing cardiotoxicity seemed to be primarily related to the use of trastuzumab rather than anthracyclines in this study (9).

In the context of prior reports, which have been variably randomized and limited by small sample size, the current study by Avila et al. (4) serves as the largest randomized, placebo-controlled trial of beta-blockade for the primary prevention of anthracycline cardiotoxicity. Given the negative primary endpoint, should findings from this study change clinical practice? In the absence of long-term outcomes data, the low incidence of abnormal left ventricular systolic function after contemporary chemotherapy argues against a primary prevention strategy for all-comers treated with anthracyclines. Although the observed improvements in secondary

endpoints associated with the use of carvedilol are promising, they warrant cautious interpretation. It remains unclear whether troponin-based management improves cardiovascular outcomes in this patient population, and larger studies with longer follow-up will be necessary to assess the degree to which amelioration of secondary endpoints affects hard outcomes, such as clinical congestive heart failure and mortality. Importantly, patients with HER2-positive tumors were excluded from the present study, and the benefits of beta-blockade may be more pronounced in patients treated with anthracyclines followed by trastuzumab (10).

The study by Avila et al. (4) highlights the need for additional randomized, controlled trials of prophylactic beta-blockade in larger cohorts as well as in patient populations with more marked left ventricular dysfunction and congestive heart failure, such as those with aggressive hematologic malignancies or refractory cancer requiring high-dose chemotherapy. If the efficacy of beta-blockade can be clearly established in these settings, head-to-head trials will be necessary to determine whether cardioprotection is agent specific or related to a class effect. In parallel to rigorous studies evaluating cardioprotective strategies, ongoing efforts to define the late consequences of an asymptomatic decline in LV function and to optimize risk prediction will be essential to improving outcomes in patients treated with cardiotoxic cancer therapies.

**ADDRESS FOR CORRESPONDENCE:** Dr. Aarti Asnani, CardioVascular Institute, Beth Israel Deaconess Medical Center and Harvard Medical School, 3 Blackfan Circle, CLS-911, Boston, Massachusetts 02115. E-mail: [aanani@bidmc.harvard.edu](mailto:aanani@bidmc.harvard.edu).

## REFERENCES

- Bluemhann SM, Mariotto AB, Rowland JH. Anticipating the "silver tsunami": prevalence trajectories and comorbidity burden among older cancer survivors in the United States. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 2016;25:1029-36.
- Rinehart JJ, Lewis RP, Balcerzak SP. Adriamycin cardiotoxicity in man. *Ann Intern Med* 1974;81:475-8.
- Cardinale D, Colombo A, Bacchiani G, et al. Early detection of anthracycline cardiotoxicity and improvement with heart failure therapy. *Circulation* 2015;131:1981-8.
- Avila MS, Ayub-Ferreira SM, de Barros Wanderley MR Jr., et al. Carvedilol for prevention of chemotherapy-related cardiotoxicity: the CECCY trial. *J Am Coll Cardiol* 2018;71:2281-90.
- Oliveira PJ, Bjork JA, Santos MS, et al. Carvedilol-mediated antioxidant protection against doxorubicin-induced cardiac mitochondrial toxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* 2004;200:159-68.
- Kalay N, Basar E, Ozdogru I, et al. Protective effects of carvedilol against anthracycline-induced cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2006;48:2258-62.
- Kaya MG, Ozkan M, Gunbalmaz O, et al. Protective effects of nebivolol against anthracycline-induced cardiomyopathy: a randomized control study. *Int J Cardiol* 2013;167:2306-10.
- Gulati G, Heck SL, Ree AH, et al. Prevention of cardiac dysfunction during adjuvant breast cancer therapy (PRADA): a 2 x 2 factorial, randomized, placebo-controlled, double-blind clinical trial of candesartan and metoprolol. *Eur Heart J* 2016;37:1671-80.
- Seicean S, Seicean A, Alan N, Plana JC, Budd GT, Marwick TH. Cardioprotective effect of beta-adrenoceptor blockade in patients with breast cancer undergoing chemotherapy: follow-up study of heart failure. *Circ Heart Fail* 2013;6:420-6.
- Pituskin E, Mackley JR, Koshman S, et al. Multidisciplinary Approach to Novel Therapies in Cardio-Oncology Research (MANTICORE 101-Breast): a randomized trial for the prevention of trastuzumab-associated cardiotoxicity. *J Clin Oncol* 2017;35:870-7.

**KEY WORDS** anthracycline, beta-blocker, breast cancer, cardiotoxicity

## Anexo 4 – Prêmios

- 1º Lugar na Categoria de Prêmio **Melhor Pesquisa Clínica** – “Luiz Vénere Decourt” no XXXIX Congresso da SOCESP 2018

**CERTIFICADO**

**REDUZINDO A MORTALIDADE  
POR DOENÇAS CARDIOVASCULARES**

XXXIX CONGRESSO DA SOCIEDADE DE CARDIOLOGIA DO ESTADO DE SÃO PAULO  
31 DE MAIO A 02 DE JUNHO DE 2018

SOCESP  
Sociedade de Cardiologia  
do Estado de São Paulo

Certificamos que o trabalho: **Efeito do Carvedilol na Prevenção da Cardiotoxicidade por Antraciclina. Estudo Randomizado, Duplo-Cego e Placebo Controlado**

**Autores:** Mônica Samuel Avila, Edimar Alcides Bocchi, Fatima D. Cruz, Sara M.G. Brandão, Mauro R.B. Wanderley Jr, Ludhmila Abrahão Hajjar, Roberto Kalil Filho, Cecília B.B.V. Cruz, Marcio Sommer Bitrencourt, Sílvia M. Ayub-Ferreira  
INSTITUTO DO CORAÇÃO DO HCFMUSP -- SP - BRASIL

Apresentado na Sessão de Temas Livres – modalidade **Oral**, no dia **31 de Maio de 2018**, foi classificado em **1º Lugar na Categoria de Prêmio Melhor Pesquisa Clínica – “Luiz Vénere Decourt”**.

José Francisco Kerr Saraiva  
Presidente da SOCESP

Maria Cristina de Oliveira Izar  
Diretora Científica da SOCESP

João Fernando Monteiro Ferreira  
Presidente do XXXIX Congresso da SOCESP

Lilia Nigro Maia  
Diretora Científica do XXXIX Congresso da SOCESP

Pontuação CNA: Cardiologia 15 | Cirurgia Cardiovascular 10 | Geriatria 10 | Cirurgia Geral 5 | Cirurgia Torácica 10 | Cirurgia Vascular 10 | Clínica Médica 10  
Medicina De Emergência 10 | Ergometria 10 | Cardiologia Pediátrica 10 | Hemodinâmica E Cardiologia Intervencionista 10 | Eletrofisiologia Clínica Invasiva 10  
Medicina De Urgência 10 | Angiorradiologia E Cirurgia Endovascular 10 | Ecografia Vascular Com Doppler 10 | Ecocardiografia 10

- 1º Lugar na Categoria **Melhor Tema Livre Oral** na categoria Clínica e cirurgia/ Intervenção/Arritmia no XVII Congresso Brasileiro de Insuficiência Cardíaca – DEIC 2018



- Finalista na categoria **Pesquisa em Oncologia** do IX Prêmio Octavio Frias de Oliveira 2018.

05/10/2018

Mail - mo\_avila@hotmail.com

## IX Prêmio Octavio Frias de Oliveira - comunicado aos finalistas

Prêmio Octavio Frias &lt;icesp.premiooctaviofrias@hc.fm.usp.br&gt;

Thu 6/28/2018 1:22 PM

To: mo\_avila@hotmail.com &lt;mo\_avila@hotmail.com&gt;;

Prezada Dra. Monica Samuel Ávila, boa tarde.

É com imensa honra que comunicamos que o trabalho "Efeito do Carvedilol na Prevenção da Cardiotoxicidade por Antraciclina. Estudo Randomizado, Duplo-Cego, Placebo Controlado. (CECCY Trial)" está entre os finalistas na categoria **Pesquisa em Oncologia** do IX Prêmio Octavio Frias de Oliveira.

A revelação do trabalho ganhador acontecerá em cerimônia no dia 06 de agosto de 2018, às 19h30, no teatro da Faculdade de Medicina da USP, Av. Dr. Arnaldo, 455 – Cerqueira César.

A presença de ao menos um autor do trabalho na cerimônia de premiação é obrigatória. Caso nenhum autor do trabalho ganhador esteja presente, os participantes poderão retirar os certificados posteriormente; entretanto, o valor do prêmio será automaticamente cancelado.

Fico a disposição para eventuais dúvidas que possam surgir por meio dos contatos que seguem em minha assinatura.

Atenciosamente,

.....  
.....

Av. Doutor Arnaldo, 251 – térreo

Cerqueira César

CEP 01246-000 – São Paulo – SP

Telefone: 55 11 3893-2015

Fax: 55 11 3893-2003

[tamires.pereira@hc.fm.usp.br](mailto:tamires.pereira@hc.fm.usp.br)

**Anexo 5** – Outros artigos relacionados ao estudo

- Circulating miR-1 as a potential biomarker of doxorubicin-induced cardiotoxicity in breast cancer patients. Rigaud VO, Ferreira LR, Ayub-Ferreira SM, Ávila MS, Brandão SM, Cruz FD, Santos MH, Cruz CB, Alves MS, Issa VS, Guimarães GV, Cunha-Neto E, Bocchi EA. *Oncotarget*. 2017 Jan 24;8(4):6994-7002.

## Research Paper

**Circulating miR-1 as a potential biomarker of doxorubicin-induced cardiotoxicity in breast cancer patients**

Vagner Oliveira-Carvalho Rigaud<sup>1,2</sup>, Ludmila R.P. Ferreira<sup>2,3</sup>, Sílvia M. Ayub-Ferreira<sup>1</sup>, Mônica S. Ávila<sup>1</sup>, Sara M.G. Brandão<sup>1</sup>, Fátima D. Cruz<sup>1</sup>, Marília H.H. Santos<sup>1</sup>, Cecília B.B.V. Cruz<sup>1</sup>, Marco S.L. Alves<sup>1</sup>, Victor S. Issa<sup>1</sup>, Guilherme V. Guimarães<sup>1</sup>, Edécio Cunha-Neto<sup>2</sup>, Edimar A. Bocchi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Heart Failure Unit, Heart Institute (InCor), Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP), São Paulo, Brazil

<sup>2</sup>Laboratory of Immunology, Heart Institute (InCor), Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP), São Paulo, Brazil

<sup>3</sup>University of Santo Amaro (UNISA), Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP), São Paulo, Brazil

**Correspondence to:** Vagner Oliveira-Carvalho Rigaud, email: vagnercarvalho@usp.br

**Keywords:** microRNAs, doxorubicin, breast neoplasms, cardiotoxicity, biomarkers

**Received:** September 26, 2016

**Accepted:** December 07, 2016

**Published:** December 29, 2016

**ABSTRACT**

Cardiotoxicity is associated with the chronic use of doxorubicin leading to cardiomyopathy and heart failure. Identification of cardiotoxicity-specific miRNA biomarkers could provide clinicians with a valuable prognostic tool. The aim of the study was to evaluate circulating levels of miRNAs in breast cancer patients receiving doxorubicin treatment and to correlate with cardiac function. This is an ancillary study from "Carvedilol Effect on Chemotherapy-induced Cardiotoxicity" (CECCY trial), which included 56 female patients (49.9±3.3 years of age) from the placebo arm. Enrolled patients were treated with doxorubicin followed by taxanes. cTnI, LVEF, and miRNAs were measured periodically. Circulating levels of miR-1, -133b, -146a, and -423-5p increased during the treatment whereas miR-208a and -208b were undetectable. cTnI increased from 6.6±0.3 to 46.7±5.5 pg/mL (p<0.001), while overall LVEF tended to decrease from 65.3±0.5 to 63.8±0.9 (p=0.053) over 12 months. Ten patients (17.9%) developed cardiotoxicity showing a decrease in LVEF from 67.2±1.0 to 58.8±2.7 (p=0.005). miR-1 was associated with changes in LVEF (r=-0.531, p<0.001). In a ROC curve analysis miR-1 showed an AUC greater than cTnI to discriminate between patients who did and did not develop cardiotoxicity (AUC = 0.851 and 0.544, p=0.0016). Our data suggest that circulating miR-1 might be a potential new biomarker of doxorubicin-induced cardiotoxicity in breast cancer patients.

**INTRODUCTION**

Breast cancer is one of the most common cancers among women worldwide and is usually treated with the potent anticancer drug doxorubicin (DOX). Despite its beneficial effect, the pro-apoptotic effect of this chemotherapy is not cancer-cell specific, and, therefore, the harmful effect of the anticancer drugs also reaches nonmalignant cells, such as cardiomyocytes [1]. This toxicity may compromise the clinical effectiveness of chemotherapy, independently of the oncologic prognosis, and impact the patient's survival and quality of life. Indeed, the chronic use of DOX is associated with a high

risk of developing cardiotoxicity that is progressive and can develop into cardiomyopathy and heart failure up to 20 years after the end of the treatment [2].

These unwanted side effects have been known for several decades; however, it is still difficult to assess the risk of long-term cardiotoxicity induced by DOX in a timely manner and to prevent and/or reduce cardiac damage. Currently, drug-induced cardiotoxicity is clinically assessed by regular evaluation of left ventricle ejection fraction (LVEF) by imaging techniques. However, the cardiac damage is usually detected late when a functional impairment has already occurred, not allowing for early preventive strategies. Thus, the development of

**Table 1: Patient characteristics**

	Entire cohort (n=56)	Cardiotoxicity (n=10)	No-cardiotoxicity (n=46)
Age, y	49.9±3.3	48.6±3.2	49.9±1.2
Hypertension	5 (8.5)	1 (10)	5 (10.9)
Diabetes mellitus	1 (1.7)	0 (0)	1 (2.2)
Current or past smokers	17 (28.8)	5 (50)	13 (28.3)
Body mass index, kg/m <sup>2</sup>	28.5±3.3	27.5±6.5	29.4±1.1
Doxorubicin total dose, mg/m <sup>2</sup>	410.3±9.5	408.4±1.4	410.6±11.4
Menopause			
Pre	29 (49.2)	5 (50)	22 (47.8)
Post	30 (50.8)	5 (50)	24 (52.2)
Breast cancer side			
Right	28 (47.5)	4 (40)	21 (45.7)
Left	30 (50.8)	6 (60)	24 (52.2)
Bilateral	1 (1.7)	0 (0)	1 (2.2)
Baseline LVEF, %	65.3±0.5	67.2±1.0	64.9±0.5

Values are expressed as mean±SEM or n (%); LVEF - Left ventricle ejection fraction.

clinically validated early subclinical myocardial injury biomarkers is a primary goal for both cardiologists and oncologists, allowing the monitoring of the progression of cardiac damage and the planning of therapeutic strategies to support cardiac function.

microRNAs (miRNAs) are small non-protein-coded RNAs involved in the regulation of gene expression. During the last decade, these molecules garnered much attention for their potential as promising new biomarkers for a wide range of diseases with the benefits of both tissue and disease-specific expression signatures and high stability in body fluids [3]. Recently, some circulating miRNAs such as miR-1, -146a, -133b, -208a, -208b and -423-5p have been suggested as earlier biomarkers of myocardial injury, heart failure and/or drug-induced cardiotoxicity [4, 5]. However, until now, the potential of these circulating miRNAs as biomarkers of DOX-induced cardiotoxicity in a clinical setting has not been assessed. Therefore, the aim of this study was to evaluate circulating levels of miR-1, -133b, -146a, -208a, -208b, and -423-5p in breast cancer patients receiving DOX treatment and to correlate its levels with cardiac function.

## RESULTS

### Study population

A total of 56 female patients (49.9±3.3 age) were enrolled in this study. The first patient in the placebo arm was enrolled in April 2013, and the last analyzed was in

October 2015. They received a total dosage of 410.3±9.5mg DOX in 4 cycles for 3 months. The clinical characteristics of the population are summarized in the Table 1.

### Effect of DOX treatment on cTnI and LVEF

Plasma levels of cTnI increased in each cycle from the baseline (6.64±0.3 pg/mL) until the end of DOX treatment (46.0±5.5 pg/mL; Figure 1). On the other hand, LVEF decreased over 12 months by an average of 2% when the group was analyzed as a whole, however, no statistical significance was observed. Baseline LVEF decreased from 65.3±0.5 to 64.3±0.6 at cycle 4 of the DOX treatment (p=0.549) and to 63.8±0.9 (p=0.053) after 12 months (Figure 1) with a tendency toward significance. However, an association was not observed between changes in LVEF and cTnI levels (Figure 2).

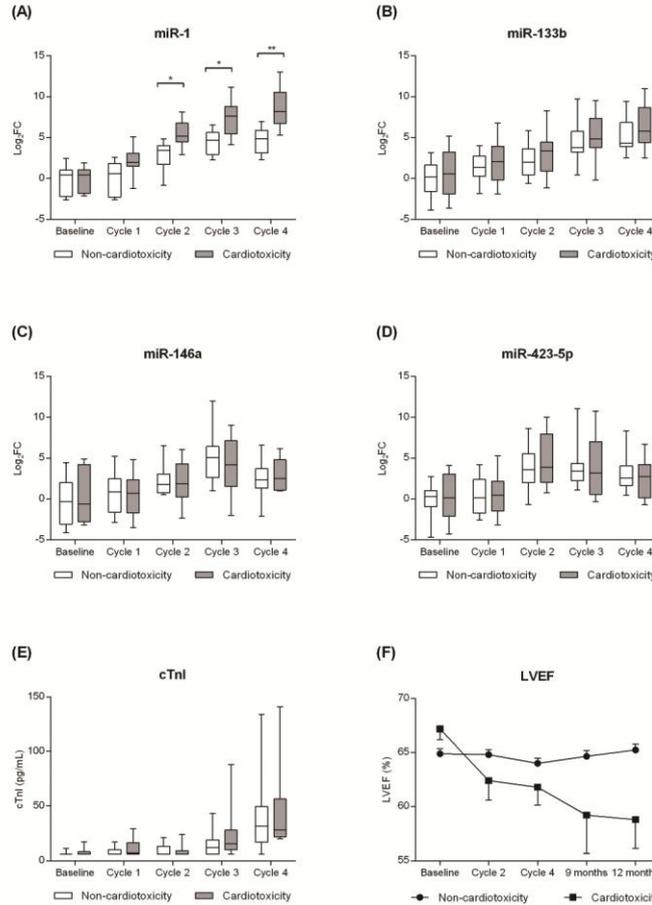
A total of 10 (17.9%) patients met the criteria for cardiotoxicity (reduction in LVEF ≥10% and/or LVEF <50%) with a mean of 7.2±1.3 months after chemotherapy initiation. Seventy percent (7/10) of the patients met the criteria for cardiotoxicity in a late stage - only after the end of the DOX treatment, which is consistent to previous studies. Within the cardiotoxicity group, LVEF decreased from 67.2±1.0 (baseline) to 58.8±2.7 (12 months; p=0.005) while remained preserved in non-cardiotoxicity patients (from 64.9±0.5 to 65.2±0.6; p=0.962). A difference in plasma levels of cTnI between cardiotoxicity and non-cardiotoxicity patients was not observed during the entire DOX treatment (Figure 1).

**Effect of DOX treatment on the circulating levels of miR-1, -133b, -146a, -208a/b and -423-5p**

An overall increase of the circulating levels of miR-1, -133b, -146a, and -423-5p was observed during the DOX treatment (Figure 1). On the other hand, miR-208a was undetected during the entire treatment, and miR-208b had C<sub>t</sub> values above 38 also being considered undetected. Comparing patients who did and did not developed

cardiotoxicity, only miR-1 showed a differential pattern after cycle 2 being significantly more expressed in cardiotoxicity patients (Figure 1A). On the other hand, a significant difference in the circulating levels of miR-133b, -146a, and -423-5p between cardiotoxicity and non-cardiotoxicity patients was not observed during the entire DOX treatment.

In a Spearman's rank coefficient analysis, the circulating level of miR-1 was associated with changes



**Figure 1:** Effect of doxorubicin treatment on circulating levels of A. miR-1, B. -133b, C. -146a, and D. -423-5p; E. plasma levels of cardiac troponin I (cTnI); F. and left ventricle ejection fraction (LVEF) in patients with (n=10) and without cardiotoxicity (n=46). \*p<0.05, \*\*p<0.01.

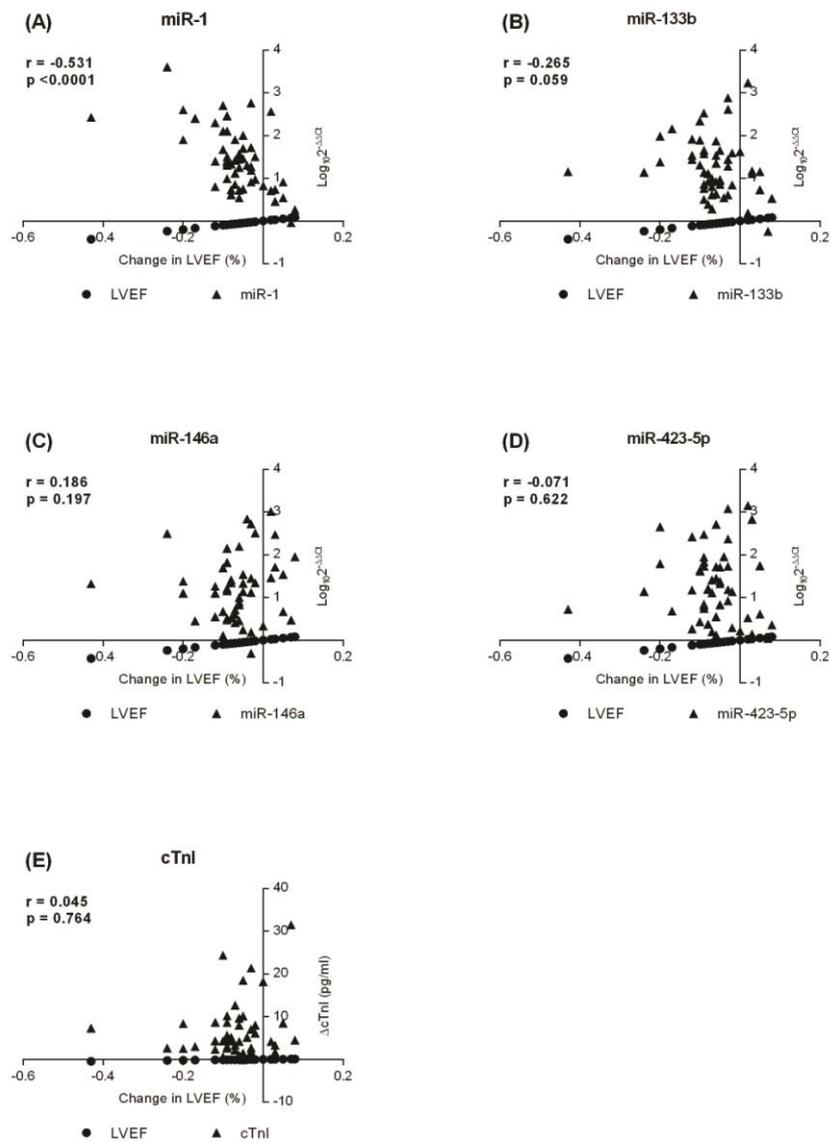


Figure 2: Associations between changes in Left Ventricle Ejection Fraction ( $\Delta\text{LVEF}/\text{LVEF}_{\text{baseline}}$ ) with the circulating level of A. miR-1; B. -133b; C. -146a; D. -423-5p, and E. cardiac troponin I (cTnI) in patients with breast cancer treated with doxorubicin.

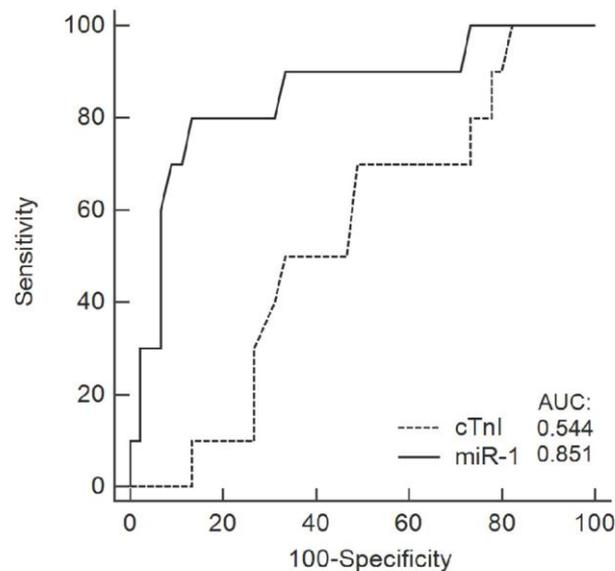
in LVEF ( $r = -0.531$ ,  $p < 0.0001$ ), whereas no association was observed for miR-133b, -146a, and -423-5p (Figure 2). ROC curves were generated to predict the potential of the circulating levels of miR-1 and cTnI to detect cardiotoxicity, revealing an area under the curve of 0.851 (95% confidence interval, 0.729–0.933) and 0.544 (95% CI, 0.405–0.679), respectively. A pairwise comparison of ROC curves showed a difference between areas of 0.307 (95% CI, 0.116–0.497) and a p-value of 0.0016 (Figure 3).

## DISCUSSION

To our knowledge, this investigation is the first to demonstrate that circulating miR-1 is associated with changes in LVEF in patients receiving DOX treatment. ROC curve analysis showed that miR-1 was superior to cTnI for distinguishing between patients who did and did not develop cardiotoxicity, suggesting that miR-1 may become a potential biomarker of cardiotoxicity in patients undergoing DOX treatment. Also, we demonstrated that circulating levels of -133b, -146a, and -423-5p were upregulated in response to DOX treatment in patients with breast cancer.

## MicroRNAs: miR-1, -133b, -146a, -208a/b and -423-5p

The data presented in this study confirm previous reports showing that DOX treatment can perturb the expression of cardiac-related miRNAs [4, 5, 9]. Indeed, very few studies have evaluated miRNA expression patterns during DOX-induced cardiotoxicity, concentrating essentially on experimental approaches in mice or cell culture. Supporting our study, Horie et al [10] showed that miR-146a was significantly upregulated in rat cardiomyocyte cultures after a single high DOX dose inducing cell death via inhibition of ErbB4 gene. This is an interesting finding, because the inhibition of the ErbB4 gene by DOX was postulated to be involved in the development of heart failure in DOX-treated cancer patients. On the other hand, in a chronic model of cardiac toxicity, Vacchi-Suzzi et al [9] showed that miR-146a was not altered in mice hearts even with the evidence of histopathological lesion. In a clinical setting, we showed that the circulating levels of miR-146a increased significantly after the second DOX administration. In fact, we do not know whether miR-146a was released by the



**Figure 3:** A receiver operating characteristic (ROC) curve predicting the ability of the circulating levels of miR-1 and cardiac troponin I (cTnI) to identify patients with cardiotoxicity from those with no cardiotoxicity. Full line represents the area under the curve (AUC) of 0.851 (95% confidence interval, 0.729–0.933) for miR-1 and the dashed line an AUC of 0.544 (95% CI, 0.405–0.679) for cTnI. A pairwise comparison of ROC curves showed a difference between areas of 0.307 (95% CI, 0.116–0.497) and a p-value of 0.0016.

heart and whether this increase might be related to an early molecular stage of cardiomyocyte damage.

In agreement with our findings, upregulation of the muscle-specific miR-1 and -133b in plasma was also reported after DOX administration in an animal model [5], while no significant changes were observed in mice hearts [4, 9]. Taken together, the maintaining of miR-1 levels in the heart and its progressive increase in plasma suggest an active release of miR-1 from the heart that is consistent with the increase of cardiomyocyte vacuolation reported after DOX treatment [4, 9].

To date, many studies have highlighted the potential of the circulating levels of miR-423-5p as a biomarker of heart failure, correlating with important clinical prognostic parameters [11-15]. However, a significant upregulation of miR-423-5p was observed in the present study without a significant association with LVEF. Because miR-423-5p overexpression was reported as sufficient to induce apoptosis in cardiomyocytes [16], its increased level in the plasma of DOX-treated patients might be an indication of an earlier molecular change in the heart. It therefore remains elusive whether this increased miR-423-5p level is caused by cardiomyocyte death or whether it is actively released by other cell types in response of DOX.

Interestingly, miR-208a (heart-specific miRNA) [17] and -208b were undetected in this study, although previously published studies have suggested them as new biomarkers of myocardial injury following myocardial infarction [18, 19] or isoproterenol use [5, 20, 21]. This discrepancy may be a result of a differential response of the cardiomyocytes to DOX stimuli. As shown by Vacchi-Suzzi et al [9], miR-208a decreases during DOX-treatment similarly to its encoding gene Myh6, while miR-208b and Myh7 (its encoding gene) increase their levels in parallel indicating a myosin switch that is associated with pathological cardiac remodeling [17]. Supporting our data, Nishimura et al [5] showed that after the single administration of a high DOX dose in rats, the circulating level of miR-208a did not change significantly, but miR-1, miR-133a/b, and miR-206 increased. Taken together, apparently DOX-induced myocardial injury occurs in a different pathway than that observed in myocardial infarction and isoproterenol-induced myocardial injury, which partially explains the lack of miR-208a in the plasma of DOX-treated patients.

#### MicroRNA-1 and cardiotoxicity

The occurrence of DOX-induced cardiotoxicity is widely variable, depending on several risk factors, such as the cumulative DOX dose administrated, age, and concomitant treatment with drugs like trastuzumab [8]. In our study, we observed an occurrence of cardiotoxicity in 17.9% of the patients receiving cumulative doses considered as "safe" and an overall reduction of 2% in LVEF when analyzing the entire cohort over 12

months. This reduction in LVEF did not reach statistical significance, probably due to the small sample size, but it was consistent with the reduction of similar magnitude (2.6%) observed in the recent PRADA trial [22].

In our study, miR-1 showed a superior ability than cTnI to discriminate between patients with and without cardiotoxicity induced by DOX treatment. cTnI has been shown primarily by Cardinale et al. [23, 24] to be a biomarker of cardiotoxicity in patients receiving high-dose anthracyclines. However, most of those patients had hematologic malignancies and received higher doses than breast cancer patients in our study. This difference could help to explain the relative lack of predictive utility of cTnI found in our study and highlights the potential of miR-1 as a biomarker.

Despite many studies having explored the potential of miR-1 as a biomarker of myocardial injury [5, 25-28], to our knowledge, this is the first study to show a moderate association between miR-1 and changes in LVEF and its potential as a biomarker of earlier DOX-induced cardiotoxicity. This association might be partially explained by its recently reported involvement in reactive oxygen species (ROS) generation and subsequent oxidative stress-induced cardiomyocyte apoptosis - one of the main mechanisms of DOX-induced cardiotoxicity [1, 29, 30]. Indeed, previous studies [29-33] have shown that miR-1 suppresses the expression of antioxidant genes in cardiomyocytes that might lead to an imbalance between oxidative stress and antioxidant activities and a subsequent apoptosis that might elevate the circulating level of miR-1.

The miR-1 upregulation in DOX-treated patients coupled with its pro-apoptotic role via ROS generation opens a new window about its use as a therapeutic target to repress the cardiotoxic effect of the chemotherapy. Indeed, many miRNA-based therapies have been recently studied in cardiovascular diseases, resulting in promising findings to improve or protect heart functions [34-36]. Therefore, our results highlight not only the potential of miR-1 as promising new biomarker of DOX-induced myocardial injury, but also the possible use of miR-1 as a therapeutic target.

In this investigation we showed for the first time that the increase of circulating miR-1 is associated with cardiac dysfunction in patients with breast cancer undergoing sequential therapy with doxorubicin. Furthermore, miR-1 revealed a superior ability to cTnI for distinguishing between patients who did and did not develop cardiotoxicity raising its potential as a promising new biomarker. These results may lead to new earlier strategies to detect and monitor drug-induced cardiac damage before it progresses to an irreversible stage.

#### Limitations

Regardless of the high accuracy of the individual RT-qPCR tests, their use restricted the data to only a few

miRNAs not allowing a more comprehensive profile of miRNAs. Since miR-1 is produced by both cardiac and skeletal muscles, we do not know where miR-1 originates from. Another limitation is that high-sensitivity troponin levels were not determined in our study. Finally, a longer follow-up of these patients is still required to determine whether the increase in miRNAs is predictive of cardiac events in later years.

Additional studies are still required to validate the findings and provide mechanistic insight. Data presented are from a single cohort of patients and confirmatory findings from an additional, separate cohort of patients will significantly add to the validity of the results. Mechanistic validation by additional experiments is needed to determine the source and mechanism of the observed changes in miRNAs levels.

## MATERIALS AND METHODS

This is an ancillary and prospective study from the clinical trial "Carvedilol Effect on Chemotherapy-induced Cardiotoxicity" (ClinicalTrials.gov NCT01724450; CECCY trial). Patient randomization was provided by the security committee preserving the study's double blindness. The trial, including enrollment of patients, is ongoing. This is an interim analysis of the placebo arm and only the reported variables were analyzed. The study protocol was approved by the ethics committee of the institution, and all subjects gave informed consent. No racial/ethnic-based differences were present.

### Inclusion criteria

Patients enrolled in this study had been diagnosed with breast adenocarcinoma, were indicated for doxorubicin treatment, had no history of cardiovascular disease, and were  $\geq 18$  years of age. Patients were excluded if they had a history of chemotherapy or radiotherapy, were HER-2 positive,  $\beta$ -blocker contraindicated, or used ACE inhibitors, angiotensin II receptor blockers, or  $\beta$ -blockers.

### Study design

Only the patients from the placebo group of the CECCY trial were included in this study. All enrolled patients underwent chemotherapy with 4 cycles of 60mg/m<sup>2</sup> doxorubicin (cumulative dose of 240mg/m<sup>2</sup>) and 600mg/m<sup>2</sup> cyclophosphamide every 3 weeks followed by paclitaxel 80 mg/m<sup>2</sup> for 12 weeks or docetaxel 75 mg/m<sup>2</sup> every 3 weeks. Blood samples were collected 3 weeks after each cycle for assessment of miR-1, miR-133b, miR-146a, miR-208a, miR-208b, miR-423-5p, and cardiac troponin I (cTnI). Cardiac function was assessed by doppler echocardiography (Simpson method) at baseline, twice during DOX treatment (cycle 2 and 4), and

9 and 12 months after the beginning of the chemotherapy. All measurements were performed in a blinded fashion following current guidelines [6, 7]. The doppler echocardiograms were analyzed independently and blindly by two cardiologists specialized in echocardiography. In face of a disagreement between the two examiners, a third cardiologist specialized in echocardiography was available for a blind review. Cardiotoxicity was defined as a reduction in LVEF  $\geq 10\%$  and/or LVEF  $< 50\%$  on any echocardiogram performed during or after the chemotherapy [8]. The plasma level of cTnI was assessed by automated chemiluminescence assay (Advia Centaur, Siemens).

### Blood sampling

Blood samples were collected by venous puncture into 4mL vacuum tubes containing EDTA. Plasma was obtained by centrifugation at 2000g at 4°C for 15 minutes, and the supernatant was carefully transferred to a new RNase/DNase-free 1.5mL microtube and stored at -80°C until use.

### RNA isolation and qPCR

Total RNA was isolated using the miRNeasy Serum/Plasma kit (Qiagen), according to the manufacturer's instructions. cDNA were synthesized by reverse transcription using a fixed volume of RNA (2 $\mu$ L) and the TaqMan microRNA Reverse Transcription kit (Life Technologies), according to the manufacturer's instructions. Circulating miRNAs were measured by RT-qPCR using 1.33 $\mu$ L of the cDNA and miRNA-specific stem-loop primers provided by TaqMan microRNA Assays kit (Life Technologies). Quantitative PCR reactions were performed in triplicate on a QuantiStudio 12K Flex (Life Technologies), according to the following program: 10 minutes at 95°C, 40 cycles of 15 seconds at 95°C and 60 seconds at 60°C. Values were normalized to cel-miR-39, analyzed by the comparative method of C<sub>t</sub> (2<sup>- $\Delta\Delta$ C<sub>t</sub></sup>) and expressed in log<sub>10</sub>.

### Statistical analysis

All results are expressed as means $\pm$ SEM, if not stated otherwise. Data were statistically analyzed with GraphPad Prism 6 for Windows by using two-way ANOVA (repeated measures) with Sidak's multiple comparison test. Spearman's rank correlation coefficient was calculated to estimate the associations between circulating levels of miRNAs, cTnI and changes in LVEF ( $\Delta$ LVEF/LVEF<sub>baseline</sub>). Receiver operator characteristic (ROC) analysis was generated to determine the ability of miRNA and cTnI levels to discriminate between cardiotoxicity and no-cardiotoxicity patients. The difference between the ROC curves was compared

using DeLong test in MedCalc v.16.8.4. All tests were performed 2-tailed, and a significance level of  $p < 0.05$  was considered to indicate statistical significance. To verify whether studied miRNAs were differentially expressed in patients with cardiotoxicity, we grouped those patients who met the cardiotoxicity criteria (described above) as “cardiotoxicity group” and compared them with the others (“non-cardiotoxicity group”).

### CONFLICTS OF INTEREST

The authors declare no conflicts of interest.

### FUNDING

This work was supported by Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo [FAPESP 2010/1808], and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

### REFERENCES

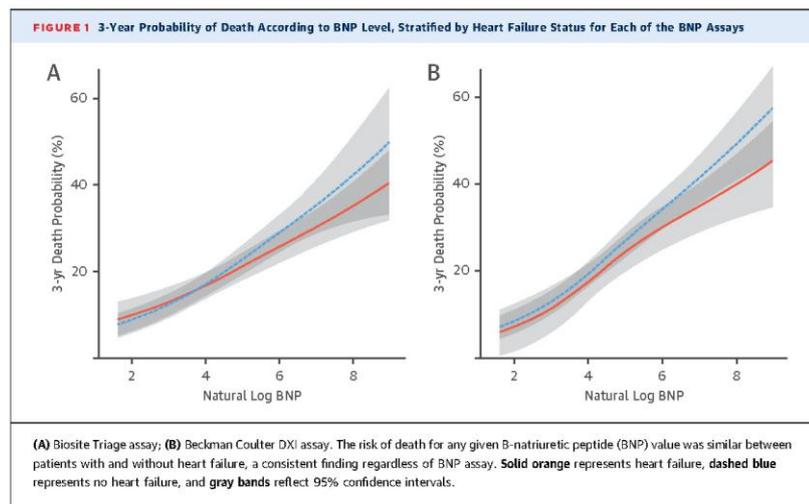
1. Octavia Y, Tocchetti C, Gabrielson K, Janssens S, Crijns H, Moens A. Doxorubicin-induced cardiomyopathy: from molecular mechanisms to therapeutic strategies. *J Mol Cell Cardio*. 2012;52:1213-25.
2. Bocchi E, Arias A, Verdejo H, Diez M, Gómez E, Castro P. Interamerican Society of Cardiology. The reality of heart failure in Latin America. *J Am Coll Cardiol*. 2013;62:949-58.
3. Oliveira-Carvalho V, Carvalho V, Silva M, Guimarães G, Bocchi E. MicroRNAs: a new paradigm in the treatment and diagnosis of heart failure?. *Arq Bras Cardiol*. 2012;98:362-9.
4. Desai V, Kwekel J, Vijay V, Moland C, Herman E, Lee T, Han T, Lewis S, Davis K, Muskhelishvili L, Kerr S, Fuscoe J. Early biomarkers of doxorubicin-induced heart injury in a mouse model. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2014;281:221-9.
5. Nishimura Y, Kondo C, Morikawa Y, Tomomura Y, Torii M, Yamate J, Uehara T. Plasma miR-208 as a useful biomarker for drug-induced cardiotoxicity in rats. *J Appl Toxicol*. 2015;35:173-80.
6. Lang RM, Badano LP, Mor-Avi V, Afzalalo J, Armstrong A, Ernande L, Flachskampf FA, Foster E, Goldstein SA, Kuznetsova T, Lancellotti P, Muraru D, Picard MH, Rietzschel ER, Rudski L, Spencer KT, Tsang W, Voigt JU. Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: an update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2015;16:233-70.
7. Nagueh SF, Appleton CP, Gillebert TC, Marino PN, Oh JK, Smiseth OA, Waggoner AD, Flachskampf FA, Pellikka PA, Evangelista A. Recommendations for the evaluation of left ventricular diastolic function by echocardiography. *Eur J Echocardiogr*. 2009;10:165-93.
8. Cardinale D, Colombo A, Bacchiani G, Tedeschi I, Meroni C, Veglia F, Civelli M, Lamantia G, Colombo N, Curigliano G, Fiorentini C, Cipolla C. Early detection of anthracycline cardiotoxicity and improvement with heart failure therapy. *Circulation*. 2015;131:1981-8.
9. Vacchi-Suzzi C, Bauer Y, Berridge B, Bongiovanni S, Gerrish K, Hamadeh H, Letzkus M, Lyon J, Moggs J, Paules R, Pognan F, Staedtler F, Vidgeon-Hart M, et al. Perturbation of microRNAs in rat heart during chronic doxorubicin treatment. *PLoS One*. 2012;7:e40395.
10. Horie T, Ono K, Nishi H, Nagao K, Kinoshita M, Watanabe S, Kuwabara Y, Nakashima Y, Takanabe-Mori R, Nishi E, Hasegawa K, Kita T, Kimura T. Acute doxorubicin cardiotoxicity is associated with miR-146a-induced inhibition of the neuregulin-ErbB pathway. *Cardiovasc Res*. 2010;87:656-64.
11. Goren Y, Kushnir M, Zafrir B, Tabak S, Lewis B, Amir O. Serum levels of microRNAs in patients with heart failure. *Eur J Heart Fail*. 2012;14:147-54.
12. Thomé J, Mendoza M, Cheuiche A, La Porta V, Silvello D, Dos Santos K, Andrades M, Clausell N, Rohde L, Biolo A. Circulating microRNAs in obese and lean heart failure patients: A case-control study with computational target prediction analysis. *Gene*. 2015;574: 1-10.
13. Tijssen A, Creemers E, Moerland P, de Windt L, van der Wal A, Kok W, Pinto Y. MiR-423-5p as a circulating biomarker for heart failure. *Circ Res*. 2010;106:1035-9.
14. Thum T, Galuppo P, Wolf C, Fiedler J, Kneitz S, van Laake L, Doevendans P, Mummery C, Borlak J, Haverich A, Gross C, Engelhardt S, Ertl G, et al. MicroRNAs in the human heart: a clue to fetal gene reprogramming in heart failure. *Circulation*. 2007;116:258-67.
15. Oliveira-Carvalho V, da Silva M, Guimarães G, Bacal F, Bocchi E. MicroRNAs: new players in heart failure. *Mol Biol Rep*. 2013;40:2663-70.
16. Luo P, He T, Jiang R, Li G. MicroRNA-423-5p targets O-GlcNAc transferase to induce apoptosis in cardiomyocytes. *Mol Med Rep*. 2015;12:1163-8.
17. Oliveira-Carvalho V, Carvalho V, Bocchi E. The emerging role of miR-208a in the heart. *DNA Cell Biol*. 2013;32:8-12.
18. Wang G, Zhu J, Zhang J, Li Q, Li Y, He J, Qin Y, Jing Q. Circulating microRNA: a novel potential biomarker for early diagnosis of acute myocardial infarction in humans. *Eur Heart J*. 2010;31:659-66.
19. Xiao J, Shen B, Li J, Lv D, Zhao Y, Wang F, Xu J. Serum microRNA-499 and microRNA-208a as biomarkers of acute myocardial infarction. *Int J Clin Exp Med*. 2014;7:136-41.
20. Ji X, Takahashi R, Hiura Y, Hirokawa G, Fukushima Y, Iwai N. Plasma miR-208 as a biomarker of myocardial injury. *Clin Chem*. 2009;55:1944-9.
21. Liu L, Aguirre S, Evering W, Hirakawa B, May J, Palacio K, Wang J, Zhang Y, Stevens G. miR-208a as

- a biomarker of isoproterenol-induced cardiac injury in Sod2<sup>+/-</sup> and C57BL/6J wild-type mice. *Toxicol Pathol.* 2014;42:1117-29.
22. Gulati G, Heck S, Ree A, Hoffmann P, Schulz-Menger J, Fagerland M, Gravdehaug B, von Knobelsdorff-Brenkenhoff F, Bratland A, Storås T, Hagve T, Rosjø H, Steine K, et al. Prevention of cardiac dysfunction during adjuvant breast cancer therapy (PRADA): a 2 × 2 factorial, randomized, placebo-controlled, double-blind clinical trial of candesartan and metoprolol. *Eur Heart J.* 2016; in-press, pii: ehw022.
  23. Cardinale D, Sandri MT, Martinoni A, Tricca A, Civelli M, Lamantia G, Ciniere S, Martinelli G, Cipolla CM, Fiorentini C. Left ventricular dysfunction predicted by early troponin I release after high-dose chemotherapy. *J Am Coll Cardiol.* 2000;36:517-22.
  24. Cardinale D, Sandri MT, Martinoni A, Borghini E, Civelli M, Lamantia G, Ciniere S, Martinelli G, Fiorentini C, Cipolla CM. Myocardial injury revealed by plasma troponin I in breast cancer treated with high-dose chemotherapy. *Ann Oncol.* 2002;13:710-5.
  25. Ai J, Zhang R, Li Y, Pu J, Lu Y, Jiao J, Li K, Yu B, Li Z, Wang R, Wang L, Li Q, Wang N, et al. Circulating microRNA-1 as a potential novel biomarker for acute myocardial infarction. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010;391:73-7.
  26. Zhou Z, Mao A, Wang X, Duan X, Yao Y, Zhang C. Urine and serum microRNA-1 as novel biomarkers for myocardial injury in open-heart surgeries with cardiopulmonary bypass. *PLoS One.* 2013;8:e62245.
  27. Kuwabara Y, Ono K, Horie T, Nishi H, Nagao K, Kinoshita M, Watanabe S, Baba O, Kojima Y, Shizuta S, Imai M, Tamura T, Kita T, et al. Increased microRNA-1 and microRNA-133a levels in serum of patients with cardiovascular disease indicate myocardial damage. *Circ Cardiovasc Genet.* 2011;4:446-54.
  28. Wang E, Nie Y, Zhao Q, Wang W, Huang J, Liao Z, Zhang H, Hu S, Zheng Z. Circulating miRNAs reflect early myocardial injury and recovery after heart transplantation. *J Cardiothorac Surg.* 2013;8:165.
  29. Lee S, Lim S, Ham O, Lee S, Lee C, Park J, Lee J, Seo H, Yun I, Han S, Cha M, Choi E, Hwang K. ROS-mediated bidirectional regulation of miRNA results in distinct pathologic heart conditions. *Biochem Biophys Res Commun.* 2015;465:349-55.
  30. Wang L, Yuan Y, Li J, Ren H, Cai Q, Chen X, Liang H, Shan H, Fu Z, Gao X, Lv Y, Yang B, Zhang Y. MicroRNA-1 aggravates cardiac oxidative stress by post-transcriptional modification of the antioxidant network. *Cell Stress Chaperones.* 2015;20:411-20.
  31. Shan Z, Lin Q, Deng C, Zhu J, Mai L, Liu J, Fu Y, Liu X, Li Y, Zhang Y, Lin S, Yu X. miR-1/miR-206 regulate Hsp60 expression contributing to glucose-mediated apoptosis in cardiomyocytes. *FEBS Lett.* 2010;584:3592e3600.
  32. Tang Y, Zheng J, Sun Y, Wu Z, Liu Z, Huang G. MicroRNA-1 regulates cardiomyocyte apoptosis by targeting Bcl-2. *Int Heart J.* 2009;50:377e387.
  33. Yu X, Song Y, Geng Y, Lin Q, Shan Z, Lin S, Li Y. Glucose induces apoptosis of cardiomyocytes via microRNA-1 and IGF-1. *Biochem Biophys Res Commun.* 2008;376:548-52.
  34. Montgomery R, Hullinger T, Semus H, Dickinson B, Seto A, Lynch J, Stack C, Latimer P, Olson E, van Rooij E. Therapeutic inhibition of miR-208a improves cardiac function and survival during heart failure. *Circulation.* 2011;124:1537-47.
  35. Wahlquist C, Jeong D, Rojas-Muñoz A, Kho C, Lee A, Mitsuyama S, van Mil A, Park W, Sluijter J, Doevendans P, Hajjar R, Mercola M. Inhibition of miR-25 improves cardiac contractility in the failing heart. *Nature.* 2014;508:531-5.
  36. Lovren F, Pan Y, Quan A, Singh K, Shukla P, Gupta N, Steer B, Ingram A, Gupta M, Al-Omran M, Teoh H, Marsden P, Verma S. MicroRNA-145 targeted therapy reduces atherosclerosis. *Circulation.* 2012;126:S81-90.

- Can Carvedilol Prevent Chemotherapy-Related Cardiotoxicity?: A Dream to Be Balanced With Tolerability. Galderisi M, Sorrentino R, Esposito R. *J Am Coll Cardiol*. 2018 Sep 4;72(10):1181-1182.

JACC VOL. 72, NO. 10, 2018  
SEPTEMBER 4, 2018:1176-86

Letters 1181



(or dysfunction) on a continuous and absolute scale. However, a number of noncardiac factors such as age, renal function, body mass index, sex, and race/ethnicity also influence BNP levels (1). Therefore, BNP level cannot be interpreted solely as a measure of hemodynamic stress.

Dr. Goyal and colleagues requested that we perform subgroup analyses corresponding to the 2 clinical BNP assays used (Biosite Triage [Biosite Diagnostics, San Diego, California] and Beckman Coulter DXI [Beckman Coulter, Brea, California]). We performed these analyses in the original study (2), and they are summarized in greater detail in the following text. Briefly, BNP was measured in 14,861 and 15,626 patients using the Biosite Triage and Beckman-Coulter platforms, respectively. In each of the assay-specific analyses, BNP was the strongest predictor of 3-year mortality risk among patients without HF, and the second strongest behind age among patients with HF, consistent with the overall results. Additionally, the 3-year risks of death were similar between patients with and without HF across the spectrum of BNP levels, regardless of the assay used (Figure 1).

\*Deepak K. Gupta, MD, MSCI  
Michelle K. York, BS  
Thomas J. Wang, MD

\*Vanderbilt Translational and Clinical Cardiovascular Research Center

Division of Cardiovascular Medicine  
Vanderbilt University School of Medicine  
2525 West End Avenue, Suite 300  
Nashville, Tennessee 37203  
E-mail: [d.gupta@vanderbilt.edu](mailto:d.gupta@vanderbilt.edu)  
<https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.07.004>

© 2018 by the American College of Cardiology Foundation. Published by Elsevier.

Please note: The authors have reported that they have no relationships relevant to the contents of this paper.

#### REFERENCES

1. Yancy CW, Jessup M, Bozler B, et al. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol* 2013;62:e147-239.
2. York MK, Gupta DK, Reynolds CF, et al. B-type natriuretic peptide levels and mortality in patients with and without heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2018;71:2079-88.

## Can Carvedilol Prevent Chemotherapy-Related Cardiotoxicity?



A Dream to Be Balanced With Tolerability

We read with interest the CECCY (Carvedilol Effect in Preventing Chemotherapy-Induced Cardiotoxicity) trial (1), which evaluated the role of carvedilol as primary prevention intervention in 192 patients with HER2-negative breast cancer undergoing

contemporary-dose anthracycline chemotherapy. Patients were randomized to receive placebo or carvedilol (up-titrated every 3 weeks till the maximal dosage of 50 mg daily). The primary endpoint, prevention of reduction in ejection fraction of >10 percentage points from baseline to 6 months, was not reached, but the carvedilol group achieved secondary endpoints (lower increase in troponin levels and left ventricular end-diastolic diameter, and lower incidence of grade I diastolic dysfunction). By reinforcing previous investigations, this study highlights the concept that performing an effective pharmacological cardioprotection a priori, that is, before the onset of symptoms/signs of heart failure, could be a winning strategy. Dr. Asnani's editorial (2) points out the lights and shadows of this study. We note that only 37.4% of enrolled patients were up-titrated to a surely effective carvedilol daily dose (28.1% at 25 mg and 9.3% at 50 mg). In addition, although a significant heart rate reduction was found in the treated group, no detailed information is given on heart rate values, the number of patients reaching a desirable heart rate target, or the possible influence of blood pressure on carvedilol titration. However, a significant reduction in blood pressure was reached only at 12 weeks, and 3 patients from the treated group even experienced symptomatic hypotension. Could the failure in the primary endpoint be at least partially explained by the nonachievement of a sufficiently low heart rate or blood pressure? These are crucial issues in a clinical setting that often experiences anthracyclines' adverse effects, such as vomiting, diarrhea, and anemia, which induce hypovolemia and hypotension, thus preventing the possibility of using acceptable carvedilol dosages. Unfortunately, the onset of these adverse effects occurs in a not-negligible portion of patients and hinders the possibility of applying the suggested prevention strategy in the real world. As known, anthracycline therapy may lead to unexpected complications, which can be difficult to manage. The potentially important protective effect of carvedilol should therefore be carefully balanced with tolerability and tailored in individual patients.

\*Maurizio Galderisi, MD  
Regina Sorrentino, MD  
Roberta Esposito, MD, PhD

\*Department of Advanced Biomedical Sciences  
Federico University Hospital  
Edificio 1  
Via Pansini 5

80131 Naples  
Italy

E-mail: mgalderi@unina.it

<https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.05.071>

© 2018 by the American College of Cardiology Foundation. Published by Elsevier.

Please note: The authors have reported that they have no relationships relevant to the contents of this paper to disclose.

#### REFERENCES

1. Avila MS, Ayun-Ferreira SM, de Barros Wanderley MR Jr, et al. Carvedilol for prevention of chemotherapy-related cardiotoxicity: the CECCY trial. *J Am Coll Cardiol* 2018;71:2281-90.
2. Asnani A. Beta-blockers for primary prevention of anthracycline cardiotoxicity. *J Am Coll Cardiol* 2018;71:2291-2.

#### REPLY: Can Carvedilol Prevent Chemotherapy-Related Cardiotoxicity?



A Dream to Be Balanced With Tolerability

We appreciate the interest of Dr. Galderisi and colleagues in our work (1). We agree that primary prevention of anthracycline-induced cardiotoxicity with carvedilol might be a promising strategy, although we fully appreciate the concern that the primary endpoint may not have been reached due to lower doses of carvedilol and its potentially limited impact on blood pressure and heart rate. However, the CECCY (Carvedilol Effect in Preventing Chemotherapy-Induced Cardiotoxicity) trial was an intention-to-treat study in which a substantial proportion of patients (56.1%) did not tolerate carvedilol's target dose; this might be mostly due to frailty related to cancer itself and/or effects of chemotherapy, and decrease in blood pressure levels limiting up-titration of carvedilol doses (Table 1) even when the blood pressure and the heart rate would allow drug titration. To better clarify this aspect, we now present detailed longitudinal information on blood pressure and heart rate in the carvedilol group during the course of the study in Table 1. It is interesting to note that prior carvedilol studies in the primary prevention of cardiotoxicity have reported doses comparable to what we have achieved. Kalay et al. (2) reported a significant effect of carvedilol on left ventricular ejection fraction with carvedilol doses of 12.5 mg/day. Bosch et al. (3) evaluated the use of enalapril and carvedilol in prevention of cardiotoxicity-induced anthracycline and found a beneficial effect on the intervention group with a mean dose of carvedilol of 23.8 mg/day. In our study, 71.7% of the carvedilol group reached doses >12.5 mg/day during follow-up.

Moreover, the role of heart rate and blood pressure control in the primary prevention of

- Reply: Can Carvedilol Prevent Chemotherapy-Related Cardiotoxicity?:

A Dream to Be Balanced With Tolerability. Avila MS, Ayub Ferreira

SM, Bocchi EA. *J Am Coll Cardiol*. 2018 Sep 4;72(10):1182-1188.

1182 Letters

JACC VOL. 72, NO. 10, 2018  
SEPTEMBER 4, 2018:1176-86

contemporary-dose anthracycline chemotherapy. Patients were randomized to receive placebo or carvedilol (up-titrated every 3 weeks till the maximal dosage of 50 mg daily). The primary endpoint, prevention of reduction in ejection fraction of >10 percentage points from baseline to 6 months, was not reached, but the carvedilol group achieved secondary endpoints (lower increase in troponin levels and left ventricular end-diastolic diameter, and lower incidence of grade I diastolic dysfunction). By reinforcing previous investigations, this study highlights the concept that performing an effective pharmacological cardioprotection a priori, that is, before the onset of symptoms/signs of heart failure, could be a winning strategy. Dr. Asnani's editorial (2) points out the lights and shadows of this study. We note that only 37.4% of enrolled patients were up-titrated to a surely effective carvedilol daily dose (28.1% at 25 mg and 9.3% at 50 mg). In addition, although a significant heart rate reduction was found in the treated group, no detailed information is given on heart rate values, the number of patients reaching a desirable heart rate target, or the possible influence of blood pressure on carvedilol titration. However, a significant reduction in blood pressure was reached only at 12 weeks, and 3 patients from the treated group even experienced symptomatic hypotension. Could the failure in the primary endpoint be at least partially explained by the nonachievement of a sufficiently low heart rate or blood pressure? These are crucial issues in a clinical setting that often experiences anthracyclines' adverse effects, such as vomiting, diarrhea, and anemia, which induce hypovolemia and hypotension, thus preventing the possibility of using acceptable carvedilol dosages. Unfortunately, the onset of these adverse effects occurs in a not-negligible portion of patients and hinders the possibility of applying the suggested prevention strategy in the real world. As known, anthracycline therapy may lead to unexpected complications, which can be difficult to manage. The potentially important protective effect of carvedilol should therefore be carefully balanced with tolerability and tailored in individual patients.

\*Maurizio Galderisi, MD  
Regina Sorrentino, MD  
Roberta Esposito, MD, PhD

\*Department of Advanced Biomedical Sciences  
Federico University Hospital  
Edificio 1  
Via Pansini 5

80131 Naples  
Italy

E-mail: mgalderi@unina.it

<https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.05.071>

© 2018 by the American College of Cardiology Foundation. Published by Elsevier.

Please note: The authors have reported that they have no relationships relevant to the contents of this paper to disclose.

#### REFERENCES

1. Avila MS, Ayun-Ferreira SM, de Barros Wanderley MR Jr, et al. Carvedilol for prevention of chemotherapy-related cardiotoxicity: the CECCY trial. *J Am Coll Cardiol* 2018;71:2281-90.
2. Asnani A. Beta-blockers for primary prevention of anthracycline cardiotoxicity. *J Am Coll Cardiol* 2018;71:2291-2.

#### REPLY: Can Carvedilol Prevent Chemotherapy-Related Cardiotoxicity?



A Dream to Be Balanced With Tolerability

We appreciate the interest of Dr. Galderisi and colleagues in our work (1). We agree that primary prevention of anthracycline-induced cardiotoxicity with carvedilol might be a promising strategy, although we fully appreciate the concern that the primary endpoint may not have been reached due to lower doses of carvedilol and its potentially limited impact on blood pressure and heart rate. However, the CECCY (Carvedilol Effect in Preventing Chemotherapy-Induced Cardiotoxicity) trial was an intention-to-treat study in which a substantial proportion of patients (56.1%) did not tolerate carvedilol's target dose; this might be mostly due to frailty related to cancer itself and/or effects of chemotherapy, and decrease in blood pressure levels limiting up-titration of carvedilol doses (Table 1) even when the blood pressure and the heart rate would allow drug titration. To better clarify this aspect, we now present detailed longitudinal information on blood pressure and heart rate in the carvedilol group during the course of the study in Table 1. It is interesting to note that prior carvedilol studies in the primary prevention of cardiotoxicity have reported doses comparable to what we have achieved. Kalay et al. (2) reported a significant effect of carvedilol on left ventricular ejection fraction with carvedilol doses of 12.5 mg/day. Bosch et al. (3) evaluated the use of enalapril and carvedilol in prevention of cardiotoxicity-induced anthracycline and found a beneficial effect on the intervention group with a mean dose of carvedilol of 23.8 mg/day. In our study, 71.7% of the carvedilol group reached doses >12.5 mg/day during follow-up.

Moreover, the role of heart rate and blood pressure control in the primary prevention of

**TABLE 1** Detailed Information on Blood Pressure and Heart Rate in the Carvedilol Group During Follow-Up

	Systolic Blood Pressure (mm Hg)	Diastolic Blood Pressure (mm Hg)	Heart Rate (beats/min)
Baseline	121 (110-131)	79 (73-85)	78 (71-89)
3 weeks	120 (110-131)	78 (70-83)	78 (70-87)
6 weeks	114 (104-122)	75 (69-80)	77 (68-83)
9 weeks	111 (101-122)	75 (66-79)	76 (69-81)
12 weeks	108 (99-119)	69 (63-78)	78 (71-85)
24 weeks	107 (100-116)	70 (66-76)	77 (71-85)

Values are median (25th to 75th percentile).

cardiotoxicity with the use of carvedilol is not well characterized in the published data. The classical pathophysiological hypothesis is that carvedilol could reduce anthracycline-induced cardiomyocyte injury due to its pharmacological properties of antioxidant and antiapoptotic effects instead on its hemodynamic effects (4). An alternative and more appropriate assumption for the modest reduction in the LVEF in the CECCY trial was the lower contemporary doses of anthracyclines (240 mg/m<sup>2</sup>). In this scenario, myocardial injury was possibly less severe, and carvedilol might have had less effect on protection of left ventricular function, particularly in lower-risk patients.

Mônica Samuel Avila, MD  
Sílvia Moreira Ayub Ferreira, MD, PhD  
\*Edimar Alcides Bocchi, MD, PhD

\*Department of Heart Failure of Heart Institute (InCor) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade

R. Dr. Eneas de Carvalho Aguiar 44

São Paulo 05403900

Brazil

E-mail: dcedimar@incor.usp.br

Twitter: @monicaAGrinberg

<https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.07.003>

© 2018 by the American College of Cardiology Foundation. Published by Elsevier.

Please note: The authors have reported that they have no relationships relevant to the contents of this paper to disclose.

## REFERENCES

- Avila MS, Ayub-Ferreira SM, de Barros Wanderley MR, et al. Carvedilol for prevention of chemotherapy-related cardiotoxicity: the CECCY trial. *J Am Coll Cardiol* 2018;71:2281-90.
- Kalay N, Basar E, Ozdogru I, et al. Protective effects of carvedilol against anthracycline-induced cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2006;48:2258-62.
- Bosch X, Rovira M, Sitges M, et al. Enalapril and carvedilol for preventing chemotherapy-induced left ventricular systolic dysfunction in patients with malignant hemopathies: the OVERCOME trial (prevention of left ventricular dysfunction with Enalapril and carvedilol in patients submitted to intensive

Chemotherapy for the treatment of Malignant Hemopathies). *J Am Coll Cardiol* 2013;61:2355-62.

4. Barron TI, Connolly RM, Sharp L, Bennett K, Visvanathan K. Beta blockers and breast cancer mortality: a population-based study. *J Clin Oncol* 2011;29:2635-44.

## Cryptogenic Stroke and Patent Foramen Ovale



### Ready for Prime Time?

We read with interest the recent article by Lee et al. (1) on the efficacy and safety of percutaneous patent foramen ovale (PFO) closure for prevention of recurrent ischemic cerebrovascular events in patients experiencing cryptogenic stroke in the DEFENSE-PFO (Cryptogenic Stroke and High-Risk Patent Foramen Ovale) trial. At a median follow-up of 2.8 years, they reported significantly higher cerebrovascular events in patients randomized to medical therapy compared with PFO closure (2-year event rate 12.9%; 95% confidence interval: 3.2% to 22.6%). Zero strokes were observed with device closure among patients experiencing cryptogenic stroke who had high-risk PFOs (i.e., atrial septal aneurysm, septal hypermobility, or PFO size  $\geq 2$  mm). This confirms the CLOSE (Patent Foramen Ovale Closure or Anticoagulants versus Antiplatelet Therapy to Prevent Stroke Recurrence), Gore REDUCE (Gore Helex Septal Occluder/Gore Cardioform Septal Occluder and Antiplatelet Medical Management for Reduction of Recurrent Stroke or Imaging-Confirmed Transient Ischemic Attack in Patients With PFO), and RESPECT (Randomized Evaluation of Recurrent Stroke Comparing PFO Closure to Established Current Standard of Care Treatment) trials, proving PFO closure superior to medical therapy alone to prevent recurrent cryptogenic stroke (2). The risk reduction starts early after closure within 1 year and accentuates thereafter (3).

Although premature termination of the DEFENSE-PFO trial may have resulted in overestimating the benefit of closure and the small sample size makes the results less conclusive, the combined data from all 6 trials show a significantly lower risk of recurrent stroke with PFO closure over medical therapy (risk ratio: 0.39; 95% confidence interval: 0.18 to 0.82;  $p = 0.013$ ) at a weighted mean follow-up of 4.0 years (Figure 1). There is a 4-fold increased risk of new-onset atrial arrhythmias post-device closure that needs to be addressed (Figure 1). Due to the concern for missed paroxysmal atrial fibrillation as the cause of the

## **10 Referências**

---

## 10 REFERÊNCIAS

1. Bocchi EA, Guimarães G, Tarasoutshi F, Spina G, Mangini S, Bacal F. Cardiomyopathy, adult valve disease and heart failure in South America. *Heart*. 2009;95(3):181-9.
2. Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun M. Cancer statistics, 2009. *CA Cancer J Clin*. 59(4):225-49.
3. Lloyd-Jones D, Adams R, Carnethon M, De Simone G, Ferguson T, Flegal K, et al. Heart disease and stroke statistics--2009 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation*. 2009;119(3):480-6.
4. Zambelli A, Della Porta MG, Eleuteri E, De Giuli L, Catalano O, Tondini C, et al. Predicting and preventing cardiotoxicity in the era of breast cancer targeted therapies. Novel molecular tools for clinical issues. *Breast*. 2011;20(2):176-83.
5. Bloom MW, Hamo CE, Cardinale D, Ky B, Nohria A, Baer L, et al. Cancer Therapy-Related Cardiac Dysfunction and Heart Failure: Part 1: Definitions, Pathophysiology, Risk Factors, and Imaging. *Circ Heart Fail*. 2016;9(1):e002661.
6. Patnaik JL, Byers T, DiGuseppi C, Dabelea D, Denberg TD. Cardiovascular disease competes with breast cancer as the leading cause of death for older females diagnosed with breast cancer: a retrospective cohort study. *Breast Cancer Res*. 2011;13(3):R64.
7. Suter TM, Ewer MS. Cancer drugs and the heart: importance and management. *Eur Heart J*. 2013;34(15):1102-11.

8. Valachis A, Nilsson C. Cardiac risk in the treatment of breast cancer: assessment and management. *Breast Cancer (Dove Med Press)*. 2015;7:21-35.
9. Henriksen PA. Anthracycline cardiotoxicity: an update on mechanisms, monitoring and prevention. *Heart*. 2017.
10. Felker GM, Thompson RE, Hare JM, Hruban RH, Clemetson DE, Howard DL, et al. Underlying causes and long-term survival in patients with initially unexplained cardiomyopathy. *N Engl J Med*. 2000;342(15):1077-84.
11. Alexander J, Dainiak N, Berger HJ, Goldman L, Johnstone D, Reduto L, et al. Serial assessment of doxorubicin cardiotoxicity with quantitative radionuclide angiocardiology. *N Engl J Med*. 1979;300(6):278-83.
12. Common Terminology Criteria for Adverse Events v4.0 (CTCAE), (2009).
13. Schwartz RG, McKenzie WB, Alexander J, Sager P, D'Souza A, Manatunga A, et al. Congestive heart failure and left ventricular dysfunction complicating doxorubicin therapy. Seven-year experience using serial radionuclide angiocardiology. *Am J Med*. 1987;82(6):1109-18.
14. Common Terminology Criteria for Adverse Events: National Institute of Health; 2010 [Available from: <http://evs.nci.nih.gov/ftp1/CTCAE>].
15. Plana JC, Galderisi M, Barac A, Ewer MS, Ky B, Scherrer-Crosble 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.

16. Zamorano JL, Lancellotti P, Rodriguez Muñoz D, Aboyans V, Asteggiano R, Galderisi M, et al. 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 Heart J*. 2016;37(36):2768-801.
17. Cardinale D, Colombo A, Bacchiani G, Tedeschi I, Meroni CA, Veglia F, et al. Early detection of anthracycline cardiotoxicity and improvement with heart failure therapy. *Circulation*. 2015;131(22):1981-8.
18. Ewer MS, Ewer SM. Cardiotoxicity of anticancer treatments. *Nat Rev Cardiol*. 2015;12(11):620.
19. Miller KD, Siegel RL, Lin CC, Mariotto AB, Kramer JL, Rowland JH, et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2016. *CA Cancer J Clin*. 2016;66(4):271-89.
20. Lindenfeld J, Albert NM, Boehmer JP, Collins SP, Ezekowitz JA, Givertz MM, et al. HFSA 2010 Comprehensive Heart Failure Practice Guideline. *J Card Fail*. 2010;16(6):e1-194.
21. Wouters K, Kremer L, Miller T, Herman E, Lipshultz S. Protecting against anthracycline-induced myocardial damage: a review of the most promising strategies. *Br J Haematol*. 2005;131(5):561-78.
22. Davies KJ, Doroshov JH, Hochstein P. Mitochondrial NADH dehydrogenase-catalyzed oxygen radical production by adriamycin, and the relative inactivity of 5-iminodaunorubicin. *FEBS Lett*. 1983;153(1):227-30.
23. Zhang S, Liu X, Bawa-Khalfe T, Lu LS, Lyu YL, Liu LF, et al. Identification of the molecular basis of doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Nat Med*. 2012;18(11):1639-42.

24. L'Ecuyer T, Sanjeev S, Thomas R, Novak R, Das L, Campbell W, et al. DNA damage is an early event in doxorubicin-induced cardiac myocyte death. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006;291(3):H1273-80.
25. Cardinale D, Colombo A, Cipolla C. Prevention and treatment of cardiomyopathy and heart failure in patients receiving cancer chemotherapy. *Curr Treat Options Cardiovasc Med*. 2008;10(6):486-95.
26. Hunt SA, Abraham WT, Chin MH, Feldman AM, Francis GS, Ganiats TG, et al. 2009 Focused update incorporated into the ACC/AHA 2005 Guidelines for the Diagnosis and Management of Heart Failure in Adults A Report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines Developed in Collaboration With the International Society for Heart and Lung Transplantation. *J Am Coll Cardiol*. 2009;53(15):e1-e90.
27. Perez E, Suman V, Davidson N, Kaufman P, Martino S, Dakhil S, et al. Effect of doxorubicin plus cyclophosphamide on left ventricular ejection fraction in patients with breast cancer in the North Central Cancer Treatment Group N9831 Intergroup Adjuvant Trial. *J Clin Oncol*. 2004;22(18):3700-4.
28. Vejpongsa P, Yeh ET. Prevention of anthracycline-induced cardiotoxicity: challenges and opportunities. *J Am Coll Cardiol*. 2014;64(9):938-45.
29. Marangou J, Redfern A, Haddad T, Rankin JM, Dwivedi G. Heart failure following oncological treatment. *Curr Opin Cardiol*. 2018;33(2):237-44.
30. Wu A. Cardiotoxic drugs: clinical monitoring and decision making. *Heart*. 2008;94(11):1503-9.

31. Herrmann J, Lerman A, Sandhu NP, Villarraga HR, Mulvagh SL, Kohli M. Evaluation and management of patients with heart disease and cancer: cardio-oncology. *Mayo Clin Proc.* 2014;89(9):1287-306.
32. Ng R, Better N, Green M. Anticancer agents and cardiotoxicity. *Semin Oncol.* 2006;33(1):2-14.
33. Myocardial infarction redefined--a consensus document of The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction. *Eur Heart J.* 2000;21(18):1502-13.
34. Cardinale D, Sandri MT, 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.
35. Singal P, Iliskovic N. Doxorubicin-induced cardiomyopathy. *N Engl J Med.* 1998;339(13):900-5.
36. Sawaya H, Sebag IA, Plana JC, Januzzi JL, Ky B, Cohen V, et al. Early detection and prediction of cardiotoxicity in chemotherapy-treated patients. *Am J Cardiol.* 2011;107(9):1375-80.
37. Chaudry M, Banchs J, Chavez-MacGregor M. Anthracycline or trastuzumab-related cardiotoxicity: do we have a predictive biomarker? *Biomark Med.* 2016;10(3):315-28.
38. Tsuchida K, Tanabe K. Plasma brain natriuretic peptide concentrations and the risk of cardiovascular events and death in general practice. *J Cardiol.* 2008;52(3):212-23.

39. Tsutamoto T, Kawahara C, Nishiyama K, Yamaji M, Fujii M, Yamamoto T, et al. Prognostic role of highly sensitive cardiac troponin I in patients with systolic heart failure. *Am Heart J.* 2010;159(1):63-7.
40. Karanth NV, Roy A, Joseph M, de Pasquale C, Karapetis C, Koczwara B. Utility of prechemotherapy echocardiographical assessment of cardiac abnormalities. *Support Care Cancer.* 2010.
41. Cardinale D, Sandri MT. Role of biomarkers in chemotherapy-induced cardiotoxicity. *Prog Cardiovasc Dis.* 2010;53(2):121-9.
42. Hamo CE, Bloom MW. Cancer and Heart Failure: Understanding the Intersection. *Card Fail Rev.* 2017;3(1):66-70.
43. Bocchi EA, Marcondes-Braga FG, Bacal F, Ferraz AS, Albuquerque D, Rodrigues DeA, et al. [Updating of the Brazilian guideline for chronic heart failure - 2012]. *Arq Bras Cardiol.* 2012;98(1 Suppl 1):1-33.
44. Pereira GC, Silva AM, Diogo CV, Carvalho FS, Monteiro P, Oliveira PJ. Drug-induced cardiac mitochondrial toxicity and protection: from doxorubicin to carvedilol. *Curr Pharm Des.* 2011;17(20):2113-29.
45. Matsui H, Morishima I, Numaguchi Y, Toki Y, Okumura K, Hayakawa T. Protective effects of carvedilol against doxorubicin-induced cardiomyopathy in rats. *Life Sci.* 1999;65(12):1265-74.
46. Santos DL, Moreno AJ, Leino RL, Froberg MK, Wallace KB. Carvedilol protects against doxorubicin-induced mitochondrial cardiomyopathy. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2002;185(3):218-27.

47. Seicean S, Seicean A, Alan N, Plana JC, Budd GT, Marwick TH. Cardioprotective effect of  $\beta$ -adrenoceptor blockade in patients with breast cancer undergoing chemotherapy: follow-up study of heart failure. *Circ Heart Fail*. 2013;6(3):420-6.
48. Bosch X, Rovira M, Sitges M, Domènech A, Ortiz-Pérez JT, de Caralt TM, et al. Enalapril and carvedilol for preventing chemotherapy-induced left ventricular systolic dysfunction in patients with malignant hemopathies: the OVERCOME trial (prevention of left Ventricular dysfunction with Enalapril and carvedilol in patients submitted to intensive Chemotherapy for the treatment of Malignant hemopathies). *J Am Coll Cardiol*. 2013;61(23):2355-62.
49. Kalay N, Basar E, Ozdogru I, Er O, Cetinkaya Y, Dogan A, et al. Protective effects of carvedilol against anthracycline-induced cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 2006;48(11):2258-62.
50. Kaya MG, Ozkan M, Gunebakmaz O, Akkaya H, Kaya EG, Akpek M, et al. Protective effects of nebivolol against anthracycline-induced cardiomyopathy: a randomized control study. *Int J Cardiol*. 2013;167(5):2306-10.
51. Gulati G, Heck SL, Ree AH, Hoffmann P, Schulz-Menger J, Fagerland MW, et al. Prevention of cardiac dysfunction during adjuvant breast cancer therapy (PRADA): a 2 x 2 factorial, randomized, placebo-controlled, double-blind clinical trial of candesartan and metoprolol. *Eur Heart J*. 2016;37(21):1671-80.
52. Eichhorn EJ, Domanski MJ, Krause-Steinrauf H, Bristow MR, Lavori PW, Investigators B-BEoST. A trial of the beta-blocker bucindolol in patients with advanced chronic heart failure. *N Engl J Med*. 2001;344(22):1659-67.

53. Yue TL, Cheng HY, Lysko PG, McKenna PJ, Feuerstein R, Gu JL, et al. Carvedilol, a new vasodilator and beta adrenoceptor antagonist, is an antioxidant and free radical scavenger. *J Pharmacol Exp Ther.* 1992;263(1):92-8.
54. Yun S, Vincelette ND, Abraham I. Cardioprotective role of  $\beta$ -blockers and angiotensin antagonists in early-onset anthracyclines-induced cardiotoxicity in adult patients: a systematic review and meta-analysis. *Postgrad Med J.* 2015;91(1081):627-33.
55. Cardinale D, Colombo A, Lamantia G, Colombo N, Civelli M, De Giacomo G, et al. Anthracycline-induced cardiomyopathy: clinical relevance and response to pharmacologic therapy. *J Am Coll Cardiol.* 2010;55(3):213-20.
56. McGowan JV, Chung R, Maulik A, Piotrowska I, Walker JM, Yellon DM. Anthracycline Chemotherapy and Cardiotoxicity. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2017;31(1):63-75.
57. Nagueh SF, Appleton CP, Gillebert TC, Marino PN, Oh JK, Smiseth OA, et al. Recommendations for the evaluation of left ventricular diastolic function by echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr.* 2009;22(2):107-33.
58. Khosrow-Khavar F, Fillion KB, Al-Qurashi S, Torabi N, Bouganim N, Suissa S, et al. Cardiotoxicity of aromatase inhibitors and tamoxifen in postmenopausal women with breast cancer: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Ann Oncol.* 2017;28(3):487-96.
59. Lang RM, Badano LP, 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. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging.* 2015;16(3):233-70.

60. Nabati M, Janbabai G, Baghyari S, Esmaili K, Yazdani J. Cardioprotective Effects of Carvedilol in Inhibiting Doxorubicin-induced Cardiotoxicity. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2017;69(5):279-85.
61. Tashakori Beheshti A, Mostafavi Toroghi H, Hosseini G, Zarifian A, Homaei Shandiz F, Fazlinezhad A. Carvedilol Administration Can Prevent Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity: A Double-Blind Randomized Trial. *Cardiology*. 2016;134(1):47-53.
62. Elitok A, Oz F, Cizgici AY, Kilic L, Ciftci R, Sen F, et al. Effect of carvedilol on silent anthracycline-induced cardiotoxicity assessed by strain imaging: A prospective randomized controlled study with six-month follow-up. *Cardiol J*. 2014;21(5):509-15.
63. Nagueh SF, Smiseth OA, Appleton CP, Byrd BF, Dokainish H, Edvardsen T, et al. Recommendations for the Evaluation of Left Ventricular Diastolic Function by Echocardiography: An Update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2016;17(12):1321-60.
64. Nagiub M, Nixon JV, Kontos MC. Ability of Nonstrain Diastolic Parameters to Predict Doxorubicin-Induced Cardiomyopathy: A Systematic Review With Meta-Analysis. *Cardiol Rev*. 2018;26(1):29-34.
65. Thygesen K, Mair J, Katus H, Plebani M, Venge P, Collinson P, et al. Recommendations for the use of cardiac troponin measurement in acute cardiac care. *Eur Heart J*. 2010;31(18):2197-204.
66. Sawaya H, Sebag IA, Plana JC, Januzzi JL, Ky B, Tan TC, et al. Assessment of echocardiography and biomarkers for the extended prediction of cardiotoxicity in patients treated with anthracyclines, taxanes, and trastuzumab. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2012;5(5):596-603.

- 
67. Cardinale D, Colombo A, Torrisi R, Sandri MT, Civelli M, Salvatici M, et al. Trastuzumab-induced cardiotoxicity: clinical and prognostic implications of troponin I evaluation. *J Clin Oncol*. 2010;28(25):3910-6.
68. Levis BE, Binkley PF, Shapiro CL. Cardiotoxic effects of anthracycline-based therapy: what is the evidence and what are the potential harms? *Lancet Oncol*. 2017;18(8):e445-e56.
- 69 Skovgaard D, Hasbak P, Kjaer A. BNP predicts chemotherapy-related cardiotoxicity and death: comparison with gated equilibrium radionuclide ventriculography. *PLoS One*. 2014;9(5):e96736.
70. Fallah-Rad N, Walker JR, Wassef A, Lytwyn M, Bohonis S, Fang T, et al. The utility of cardiac biomarkers, tissue velocity and strain imaging, and cardiac magnetic resonance imaging in predicting early left ventricular dysfunction in patients with human epidermal growth factor receptor II-positive breast cancer treated with adjuvant trastuzumab therapy. *J Am Coll Cardiol*. 2011;57(22):2263-70.
71. Ky B, Putt M, Sawaya H, French B, Januzzi JL, Sebag IA, et al. Early increases in multiple biomarkers predict subsequent cardiotoxicity in patients with breast cancer treated with doxorubicin, taxanes, and trastuzumab. *J Am Coll Cardiol*. 2014;63(8):809-16.
72. Troughton RW, Prior DL, Frampton CM, Nash PJ, Pereira JJ, Martin M, et al. Usefulness of tissue doppler and color M-mode indexes of left ventricular diastolic function in predicting outcomes in systolic left ventricular heart failure (from the ADEPT study). *Am J Cardiol*. 2005;96(2):257-62.