

University of Groningen

Cardiotoxicity after anticancer treatment

Perik, Patrick Jozef

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

2005

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Perik, P. J. (2005). *Cardiotoxicity after anticancer treatment: clinical investigations and molecular mechanisms*. s.n.

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

12

NEDERLANDSE SAMENVATTING

De effectiviteit van de behandeling van patiënten met kanker is in de afgelopen jaren sterk verbeterd. Gezien de verbeterde prognose van patiënten met kanker, is het van groot belang dat schade en bijwerkingen ten gevolge van de behandeling zoveel mogelijk worden beperkt. Bij de behandeling van kanker zijn er verschillende behandelingsstrategieën mogelijk; meest toegepast zijn chirurgie, bestraling en chemotherapie. Elke behandeling kan gepaard gaan met bijwerkingen, niet alleen op de korte, maar ook op de lange termijn. Van radiotherapie en bepaalde cytostatica is bekend dat ze gepaard kunnen gaan met een verhoogd risico op hartschade. Het vergroten van onze kennis met betrekking tot de schadelijke effecten op het hart en vroege opsporing hiervan zijn cruciaal bij de preventie en behandeling van klinische hartschade.

Bestraling van de borstwand veroorzaakt een verhoogd risico op het ontstaan van hartfalen. Een toegenomen kans op hartfalen is ook beschreven bij toepassing van een aantal cytostatica, het meest berucht in dit opzicht zijn de anthracyclines. Daarnaast kunnen nieuwe middelen hartschade veroorzaken, zoals de zogenaamde “molecular targeted agents“, die zeer specifiek bepaalde (moleculaire) kenmerken van kwaadaardige tumoren beïnvloeden. Trastuzumab, (Herceptin[®]) is hier het meest bekende voorbeeld van. Het gebruik van trastuzumab kan leiden tot een verminderde pompfunctie van de linker ventrikel, hetgeen voornamelijk is beschreven wanneer trastuzumab in combinatie met anthracycline cytostatica wordt gegeven. Omdat veel patiënten met borstkanker worden behandeld met radiotherapie van de linker thoraxhelft, naast behandeling met anthracyclines en soms trastuzumab, vormen zij een categorie patiënten die een verhoogd risico loopt op het ontwikkelen van hartschade.

Het doel van dit proefschrift, zoals werd geformuleerd in **hoofdstuk 1**, was om nieuwe methoden ten behoeve van de vroege opsporing van door kankertherapie geïnduceerde hartschade te onderzoeken. Tevens werd de rol van biochemische merkstoffen voor deze toepassing onderzocht. Daarnaast is gekeken naar de rol die HER2 speelt bij de pathofysiologie van hartfalen.

Hoofdstuk 2 is een redactioneel commentaar bij een artikel waarin een diermodel wordt beschreven, dat gebruikt wordt om hartschade, veroorzaakt door anthracyclines, te onderzoeken. Dit model is ook bedoeld voor het testen van nieuwe medicamenten. In het originele artikel beschrijven de auteurs dat hun model goede kwantificatie van de hartschade toestaat, door gebruik te maken van hartcatheterisatie, fono- en echocardiografie, biochemische bepalingen en histologisch onderzoek. De dieren bleken gevoeliger voor hartschade ten gevolge van behandeling met het cytostaticum daunorubicine dan mensen en de ernst van de hartschade was gerelateerd aan de totale toegediende dosis van het cytostaticum. Deze dosisafhankelijke relatie is ook uitgebreid bij patiënten beschreven. Anthracyclines zijn zeer effectieve middelen tegen kanker en worden daarom dan

ook veel toegepast, zowel in de curatieve als in de palliatieve setting. Het model dat is beschreven zou uitstekend dienst kunnen doen om de effectiviteit van middelen gericht op het voorkomen of beperken van hartschade, zoals bijvoorbeeld vrije radicaalremmers, te onderzoeken.

Hoofdstuk 3 geeft een overzicht van de literatuur met betrekking tot mechanismen die ten grondslag liggen aan apoptose (geprogrammeerde celdood) in het hart. Apoptose kan worden veroorzaakt door activatie van de intrinsieke en/of de extrinsieke route of door remming van signaaltransductie via groeifactorreceptoren. De intrinsieke route wordt geactiveerd als ten gevolge van een stimulus van buiten de cel het cytochroom c vrij komt uit de mitochondriën die zich in het cytoplasma van de cel bevinden. Apoptose via de extrinsieke route ontstaat als activerende stoffen (liganden) binden aan hun specifieke receptoren op de celmembraan. Een derde manier waarop apoptose kan worden geïnduceerd is een gestoorde signaaloverdracht via groeifactorreceptoren, waardoor de cel zijn overlevingsstimulus verliest. De humane epidermale groeifactorreceptoren bestaan uit 4 soorten (HER1-4). Behalve HER3 komen alle subtypen tot expressie in het volwassen hart. Daarnaast komen deze receptoren vaak tot overexpressie in tumorcellen. Monoklonale antilichamen die specifiek gericht zijn tegen één of meerdere van deze receptoren zijn effectief gebleken bij de behandeling van patiënten met kanker waarin deze receptoren tot overexpressie komen. De behandeling met trastuzumab van patiënten met een HER2 positief mammacarcinoom is hiervan een goed voorbeeld. Deze middelen kunnen echter ook gezonde hartcellen beschadigen door de groei- en overlevingsstimulus weg te nemen. Het gebruik van trastuzumab gaat dan ook gepaard met een verhoogde kans op het ontstaan van hartfalen. Cyclooxygenase 2 (COX2), het enzym dat de prostaglandine synthese reguleert, maakt onderdeel uit van de HER signaaltransductieroute en remming van COX2 kan leiden tot apoptose. Dit verschijnsel zou gedeeltelijk kunnen verklaren waarom COX2 remmende middelen een verhoogd risico op cardiovasculaire problemen met zich meebrengen, hetgeen recentelijk in de publiciteit kwam. Een beter inzicht in de signaaltransductieroutes die apoptose in het hart veroorzaken, kan leiden tot een veiliger gebruik van geneesmiddelen die worden toegepast bij de behandeling van patiënten met kanker en mogelijk ook tot het verbeteren van de behandeling van hartfalen.

Het verhoogde risico op hartschade door de behandeling met trastuzumab, maakt een goede selectie van patiënten die in aanmerking komen voor deze behandeling noodzakelijk. Hiervoor is idealiter een test nodig die betrouwbaar kan voorspellen of hartschade al dan niet optreedt. Tot op heden bestaat er geen eenvoudige om HER2 positieve tumor localisaties op te sporen. Scintigrafie met radioactief gelabeld trastuzumab zou mogelijk een rol kunnen spelen bij het voorspellen van hartschade ten gevolge van behandeling met trastuzumab en/of bij het opsporen van HER2 positieve tumorlocalisaties.

In **hoofdstuk 4** werd de ontwikkeling van radioactief gelabeld trastuzumab beschreven. Om trastuzumab te binden aan ^{111}In (Indium (^{111}In)), is een chelator nodig die werd gevonden in de vorm van diethylenetriamine penta-acetic acid anhydride (DTPA). Aangetoond werd dat ^{111}In -DTPA-trastuzumab meer dan 95% radiochemisch zuiver is. Bovendien bleek dat ^{111}In -DTPA-trastuzumab gedurende 14 dagen stabiel bleef in zoutoplossing (phosphate buffered saline). De immunoreactieve fractie, zoals die werd bepaald door middel van bindingsanalyse met ovarium tumorcellen, bedroeg 0.87. Voor het *in vivo* testen van de verdeling in het lichaam kregen muizen een humane tumor met hoge HER2 expressie (SK-OV-3) of een humane tumor met lage HER2 expressie (GLC4) geïmplanteerd. Na injectie van een heel lage dosering ^{111}In -DTPA-trastuzumab, als zogenaamde tracer, ondergingen de muizen een gammacamera scan. Om de hoeveelheid opname van radioactief gelabeld trastuzumab in tumor- en orgaanweefsel te bepalen, werden de muizen op 6 verschillende momenten, variërend van 5 uur tot 7 dagen, gedood. Opname van radioactief gelabeld trastuzumab in tumorweefsel werd gemeten vanaf 5 uur na injectie, maar bleek het meest uitgesproken te zijn na 3 dagen. Ook werd opname van radioactief gelabeld trastuzumab in de lever, milt en nieren aangetoond. Het radioactief labelen van trastuzumab met ^{111}In met DTPA als chelator, leverde een zeer stabiele nucleaire tracer op, welke zowel *in vitro* als *in vivo* selectief bindt aan HER2 receptoren. Op basis van deze resultaten werd ^{111}In -DTPA-trastuzumab geschikt geacht voor gebruik bij patiënten.

Nadat ^{111}In -DTPA-trastuzumab in proefdieren (muizen) was onderzocht, werden de resultaten van de toepassing bij patiënten beschreven in **hoofdstuk 5**. Onze hypothese was dat de schadelijke effecten op het hart en de antitumor werking specifiek gerelateerd zijn aan binding van trastuzumab aan HER2 receptoren op respectievelijk cardiomyocyten en tumorcellen. Het primaire doel van de studie was te onderzoeken of een scan met radioactief gelabeld trastuzumab voorafgaand aan de behandeling, patiënten kan identificeren die een verhoogde kans hebben op het ontwikkelen van hartschade. Als secundair doel wilden we onderzoeken of deze scan van waarde is om (HER2 positieve) tumorlokalisaties op te sporen. Vrouwen met een recidief of gemetastaseerd en HER2 positief mammacarcinoom konden deelnemen aan de studie, indien zij behandeld zouden worden met trastuzumab en het cytostaticum paclitaxel. Patiënten kregen 6 kuren met trastuzumab en paclitaxel. Trastuzumab werd wekelijks gegeven en paclitaxel eens per 3 weken. Een scan met radioactief gelabelde trastuzumab werd gemaakt voor de start van de behandeling en na 4 kuren. Iedere keer werd in een tijdbestek van 15 minuten tot 7 dagen na injectie van de tracerdosis ^{111}In -DTPA-trastuzumab opnames gemaakt. Het onderzoek van de functie van het hart bestond uit een anamnese en lichamelijk onderzoek, een MUGA scan en echocardiografie. Dit onderzoek werd gedaan voor de start van de behandeling, na 4 en na 6 kuren. Evaluatie van het effect van de behandeling op de tumor vond na elke 2 kuren plaats. Zeventien patiënten werden onderzocht, waarbij van 15 patiënten de

gegevens bruikbaar evalueerbaar waren. Bij één patiënt kon myocardopname worden vastgesteld op de eerste scan. Bij drie patiënten, die ernstig hartfalen tijdens de behandeling ontwikkelden, werd echter geen myocardopname gezien op de eerste scan, terwijl bij een van deze drie patiënten de 2^e scan wél myocardopname toonde. Bij de meeste patiënten werden reeds bekende tumorlaesies gezien, maar bij 13 van de 15 patiënten werden met deze trastuzumab scan laesies aangetoond, die met de routine diagnostiek niet waren gevonden. Omdat geen van de patiënten die hartfalen ontwikkelden tijdens de behandeling met trastuzumab en paclitaxel myocardopname van het radioactief gelabelde trastuzumab toonde op de eerste scan, lijkt het maken van een trastuzumab scan voorafgaand aan de behandeling met trastuzumab niet zinvol voor het voorspellen van optreden van hartschade. Desondanks kan deze scan wel worden gebruikt om HER2 positieve tumorlokalisaties op te sporen en kan deze mogelijk een rol spelen bij het opsporen van metastasen.

Zoals eerder beschreven, kan het extracellulaire deel van de HER2 receptor proteolytisch “geknipt” worden, waarna het in de circulatie terechtkomt. Het doel van de studie die beschreven werd in **hoofdstuk 6** was om te onderzoeken of serum HER2 spiegels verhoogd zijn bij patiënten met hartfalen ten gevolge van een dilaterende cardiomyopathie of van ischemisch hartlijden. Niet alleen werden serum HER2 spiegels gemeten, maar ook die van tumor necrose factor (TNF) α en de TNF receptoren TNF-R1 en TNF-R2 bij 50 patiënten met chronisch hartfalen en bij 15 gezonde vrijwilligers. Het bleek dat serum HER2 concentraties hoger zijn bij patiënten met hartfalen dan bij gezonde vrijwilligers. Uit de directe vergelijking van spiegels bij gezonde proefpersonen, met die bij patiënten met New York Heart Association (NYHA) functionele klasse II hartfalen en bij patiënten met NYHA klasse III hartfalen, bleek dat serum HER2 spiegels positief geassocieerd waren met de ernst van de symptomen van hartfalen. Tevens zagen we dat hogere serum HER2 spiegels gerelateerd waren aan een lagere linker ventrikel ejectiefractie. Ook bleek dat plasma TNF-R1 and TNF-R2 hoger waren bij de patiënten met hartfalen ten opzichte van de gezonde controlegroep, waarbij een positieve associatie van plasma TNF-R1 en TNF-R2 werd gezien met serum HER2 spiegels. Op basis hiervan concludeerden wij dat HER2 een rol lijkt te spelen in de pathofysiologie van hartfalen. Daarnaast zou HER2 van belang kunnen zijn bij apoptose in het hart, zoals wordt gesuggereerd door de relatie van serum HER2 spiegels met de plasma waarden van beide TNF receptoren.

Hoofdstuk 7 beschreef een studie naar de waarde van het meten van natriuretische peptiden in plasma, om hartschade bij patiënten met borstkanker, die in het verleden werden behandeld met anthracycline chemotherapie, op te sporen. In een cross-sectionele opzet maten we N-terminaal atriaal natriuretisch peptide (NT-ANP) en type B natriuretisch peptide (BNP) op 2 momenten in de follow-up. De eerste meting werd gedaan na een mediane follow-up duur van 2.7 jaar, de tweede

meting na een mediane follow-up duur van meer dan 6 jaar na een relatief lage totale dosis epirubicine (360 of 450 mg/m²) en borstwandbestraling. Plasma NT-ANP en BNP werden gemeten bij 54 patiënten, die ook reeds eerder hadden meegedaan aan 2 lokale studies naar cardiale bijwerkingen van de behandeling. De resultaten van het huidige onderzoek toonden een toename van plasma BNP spiegels gedurende de follow-up periode, terwijl geen verandering werd gevonden in NT-ANP waarden. Patiënten die waren behandeld met een totale dosis van 450 mg/m² epirubicine hadden hogere plasma BNP waarden dan de patiënten die 360 mg/m² hadden gekregen. Deze bevindingen suggereren dat na de initiële schade aan het myocard een autonoom progressief proces geïnitieerd wordt, dat uiteindelijk jaren na de behandeling zou kunnen leiden tot het ontstaan van hartfalen. Alhoewel bevestiging van deze resultaten nog wel noodzakelijk blijft, lijkt het erop dat het meten van BNP plasma spiegels een geschikte screeningsmethode zou kunnen zijn, om patiënten met een verhoogd risico op hartfalen te identificeren tijdens de follow-up na behandeling met anthracycline cytostatica.

Naast de in de cardiologie meer geaccepteerde natriuretische peptiden als merkstoffen voor het vaststellen van cardiale disfunctie, hebben we ook onderzocht of het meten van circulerende waarden van eiwitten die gerelateerd zijn aan apoptose, gebruikt zouden kunnen worden bij de vroege opsporing van (sub)klinische hartschade na behandeling met anthracyclines en borstwandbestraling. Het tweede doel van deze studie, die is beschreven in **hoofdstuk 8**, was om te evalueren of de verschillende chemotherapie regimes van invloed zijn op de hoogte van de plasma concentraties van de verschillende apoptose eiwitten. Wij bepaalden plasma spiegels van TNF α , TNF-R1, TNF-R2, Fas, Fas ligand, “TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) en HER2 bij 34 vrouwen met een mediane follow-up van 6 jaar na behandeling van borstkanker met óf 5 kuren FEC bestaande uit fluorouracil (500 mg/m²), epirubicine (90 mg/m²) en cyclofosfamide (500 mg/m²) óf 4 FEC kuren gevolgd door hoge dosis met carboplatin (1600 mg/m²), cyclofosfamide (6 g/m²) en thiotepa (480 mg/m²), waarna stamceltransplantatie plaatsvond. De spiegels van deze patiënten hebben we vergeleken met die van een controlegroep van 12 voor leeftijd gematchte, gezonde vrouwen. NT-ANP, BNP, fibrinogeen en hoogsensitief C-reactief proteïne werden tevens gemeten als merkstoffen voor cardiale disfunctie. Tevens werd circulerend platina werd bepaald bij de patiënten die waren behandeld met carboplatin. Alhoewel geen relaties werden gevonden van de circulerende apoptose plasma eiwitten met hartschade, vonden we wel hogere waarden in vergelijking met de gezonde vrijwilligers. Fas ligand en TRAIL waren bovendien hoger in de met hoge dosis chemotherapie behandelde patiëntengroep, dan in de groep die was behandeld met het standaard regime. Circulerende platina spiegels hadden geen relatie de apoptose eiwitten. De bevinding dat plasma spiegels van apoptose eiwitten verhoogd zijn bij patiënten na behandeling, vooral met hoge dosis chemotherapie, suggereert dat deze factoren een relatie zouden kunnen hebben met het optreden

van late complicaties van de behandeling. Om dit te bewijzen is echter verder onderzoek vereist.

In **hoofdstuk 9** zijn de bevindingen beschreven van een prospectieve studie naar circulerende apoptose eiwitten, tijdens en na de in hoofdstuk 8 beschreven adjuvante behandeling van patiënten met borstkanker. Het doel van dit onderzoek was om na te gaan of er veranderingen optreden in de plasma spiegels van de apoptose eiwitten tijdens het eerste jaar na chemotherapie. Hiervoor werden bij 40 patiënten met borstkanker apoptose eiwitten gemeten op 3 tijdstippen; na chirurgie en voor start van de chemotherapie; een maand na de chemotherapie, nog voor start van de radiotherapie en tenslotte een jaar na de start van de chemotherapie. Platina concentraties werden bepaald in serum van de patiënten die waren behandeld met hoge dosis chemotherapie waarin carboplatin was opgenomen. De resultaten toonden aan dat de plasma spiegels van de apoptose eiwitten geen relatie hadden met symptomen van hartschade, een verminderde linker ventrikel ejectiefractie, diastolische functieparameters (echocardiografie), noch met plasma concentraties van hoogsensitief C-reactief proteïne en de natriuretische peptiden. Plasma spiegels van TNF-R1, TNF-R2 en met name Fas waren verhoogd, een maand na de chemotherapie, terwijl Fas ligand verlaagd was op dit tijdstip. Dit was het meest uitgesproken in de groep die werd behandeld met hoge dosis chemotherapie. Een jaar na de start van de chemotherapie waren deze veranderingen echter grotendeels weer verdwenen. Circulerende platina spiegels waren positief geassocieerd met sTNF-R1 en sFas spiegels, één jaar na de chemotherapie. Op basis van deze gegevens lijkt het meten van plasma apoptose eiwitten geen toegevoegde waarde te hebben bij de vroege opsporing van hartschade in deze patiëntengroep. Een interessante nevenbevinding van het onderzoek was de tijdelijke verandering in plasma spiegels van de apoptose eiwitten een maand na de (hoge dosis) chemotherapie. Dit zou erop kunnen wijzen dat de behandeling substantiële schade heeft geïnduceerd, die uiteindelijk zou kunnen leiden tot het optreden van late complicaties. Prospectief onderzoek met een langere follow-up duur, zal dit moeten uitwijzen.

Tenslotte werden in **hoofdstuk 10** de resultaten bediscussieerd en suggesties genoemd voor verder onderzoek. Cardiale disfunctie is een zorgwekkende bijwerking, die voorkomt bij het gebruik van een aantal cytostatica. Daarnaast worden zogenaamde molecular targeted drugs, zoals trastuzumab, in toenemende mate toegepast. Omdat de overleving van patiënten na behandeling van kanker de laatste jaren sterk is toegenomen, worden behandelingsgerelateerde morbiditeit en mortaliteit steeds relevanter. Vroege detectie en zo mogelijk preventie van hartschade door de behandeling wordt daarom steeds belangrijker.

