

Kardiotoxicita protinádorových léčiv v experimentu

M. Adamcová¹, M. Štěrba²

¹ Ústav fyziologie, LF UK v Hradci Králové

² Ústav farmakologie, LF UK v Hradci Králové

Souhrn

Tato přehledová práce se zabývá významem experimentálního výzkumu pro pochopení mechanismů kardiotoxicity protinádorových léčiv a možnostmi její kardioprotekce. Pozornost je věnována zejména léčivům s přímou toxicitou vůči kardiomyocytům, která ústí do dysfunkce levé komory. Diskutovány jsou charakteristické znaky kardiotoxicity I. typu (reprezentované antracykliny) a II. typu (reprezentované trastuzumabem a sunitinibem). Popsány jsou také *in vivo* modely pro experimentální studium antracyklinové kardiotoxicity.

Klíčová slova

mechanizmy kardiotoxicity – experimentální modely – antracykliny – inhibitory tyrozinkináz

Cardiotoxicity of anti-cancer drugs in experimental settings

Abstract

This review article analyses the contribution of experimental research to the understanding of anti-cancer drug cardiotoxicity mechanisms and the options for cardioprotection. We focused on drugs inducing direct toxicity against cardiomyocytes resulting in left ventricular dysfunction. Typical features of Type I and Type II toxicity (represented by anthracyclines and trastuzumab/sunitinib, respectively) are discussed. The paper also describes *in vivo* models for experimental study of anthracycline cardiotoxicity.

Keywords

mechanisms of cardiotoxicity – experimental models – anthracyclines – kinase inhibitors

Úvod

I když incidence nádorových onemocnění v naší populaci stoupá, díky novým diagnostickým a terapeutickým přístupům výrazně klesá mortalita a prodlužuje se přežití pacientů. Mezi závažné komplikace, které mohou ovlivnit morbiditu a mortalitu pacientů přežívajících nádorové onemocnění, patří kardiotoxicita. Z hlediska charakteru poškození srdce protinádorovými léčivy rozlišujeme několik základních druhů kardiotoxicity:

1. přímé poškození kardiomyocytů ústící do dysfunkce levé komory (LK),
2. myokardiální ischemie a infarkt myokardu,
3. myokardiální a/nebo perikardiální zánět,
4. arytmogenní účinek [1].

Tento příspěvek je zaměřen na první z výše uvedených typů kardiotoxicity.

Studium kardiotoxicity protinádorových léčiv s užitím experimentálních modelů má zásadní význam pro pokrok v oblasti kardio-on-

kologie. Celá řada otázek nemůže být řešena v klinických podmínkách, ať už z důvodů etických nebo praktických. Riziko kardiotoxicity by ideálně mělo být identifikováno již v průběhu preklinického vývoje léčiva. Nicméně historická zkušenost ukazuje, že koncept tradičního „rutinního“ toxikologického testování nemusí být pro odhalení kardiotoxicity optimální, protože ve většině případů bylo riziko kardiotoxicity (či jeho závažnost) plně rozpoznáno teprve při klinickém hodnocení, event. až po zavedení léčiva do praxe (viz např. kardiotoxicita antracyklinů, trastuzumabu nebo tyrozinkinázových inhibitorů) [1]. Experimentální modely slouží ke studiu funkčních, ale i morfoloických parametrů a především k hlubšímu pochopení molekulárních mechanismů kardiotoxicity. Postupně bylo přímé poškození kardiomyocytů protinádorovými léčivy ústící do dysfunkce LK rozděleno do dvou typů, které se vzájemně odlišují zejména reverzibilitou, přítomností typických

histopatologických změn a závislostí na kumulativní dávce.

Typ kardiotoxicity I je vyvolán nekrotózou a/nebo apoptózou doprovázenou uvolněním srdečních troponinů (cTns), závisí na kumulativní dávce léčiva a je do značné míry ireverzibilní. Mezi typické zástupce této skupiny patří antracykliny (ANT) – doxorubicin (DOX), daunorubicin (DAU) či epirubicin. Chronické formy kardiotoxicity, jež vedou k dilatační kardiomyopatii a srdečnímu selhání (SS), jsou typické pro všechny zástupce této skupiny. Mechanizmy vzniku ANT kardiotoxicity jsou značně komplexní. Tradičně bývá ANT kardiotoxicita spojována s přímým poškozením myokardu volnými kyslíkovými radikály, které jsou cyklicky produkovány molekulou ANT v myokardu [2]. Ke vzniku oxidačního stresu pak vede tvorba komplexů s ionty železa, porucha jeho homeostázy v kardiomyocytech, snížená exprese/aktivita antioxidantních molekul (např. MnSOD) nebo zvýšená aktivita prooxidantních

NADPH-oxidáz. Tyto mechanismy mohou sekundárně vést k poruše homeostázy vápníku a poškození mitochondrií. Jiné teorie ale předpokládají přímý vliv ANT (nebo jejich metabolitů) na expresi/funkci proteinů regulujících homeostázu vápníku či navození mutací v mitochondriální DNA. Další práce zmiňují poruchu exprese/funkce sarkomerálních proteinů či dysregulaci proteazomového systému [2]. Významným posunem v pochopení patogeneze ANT kardiotoxicity byla identifikace topoizomerázy 2 β v kardiomyocytech jako klíčové cílové molekuly toxického účinku [3]. Inhibice topoizomerázy 2 β patrně vede k poškození DNA kardiomyocytů s následnou indukci apoptózy a dysfunkcí mitochondriální biogeneze. Ačkoli podrobnější data chybí, zdá se, že většina pozorovaných molekulárních a buněčných změn (vč. globálního oxidačního stresu) by mohla být důsledkem ANT-indukované inhibice topoizomerázy 2 β .

Typ kardiotoxicity II je způsoben spíše dysfunkcí kardiomyocytů než jejich zánikem, a proto často chybí charakteristický histopatologický nále. Tento typ kardiotoxicity je často reverzibilní a v některých případech umožňuje i následné opětovné nasazení léčby. Na rozdíl od ANT nezávisí poškození myokardu na kumulativní dávce léčiva, ale riziko kardiotoxicity se zvyšuje v kombinaci s ANT. Mezi typické zástupce lze zařadit trastuzumab nebo sunitinib [1,4]. Trastuzumab je humanizovaná monoklonální protilátka proti ErbB2 (u lidí označovaná jako HER2 a u hlodavců označovaná jako neu), která zásadním způsobem zlepšuje prognózu u pacientek s HER2-positivním karcinomem prsu. Vzhledem k biologicky cílenému mechanismu protinádorového účinku byla identifikace rizika kardiotoxicity u tohoto léčiva spíše překvapením. Dnes je ovšem známo, že signalizace zprostředkovaná aktivací HER2 receptoru pomocí endogenního agonisty neuregulínu-1 (NRG1) má velký význam pro zajištění struktury a funkce kardiomyocytů za normálních a zvláště pak stresových podmínek. Tato signalizační dráha chrání kardiomyocyty před apoptózou, poruchou struktury a funkce sarkomery, oxidačním stresem a deregulací mitochondriálního metabolismu. Riziko kardiotoxicity navozené samotným trastuzumabem je patrně omezené, nicméně dramaticky narůstá při současné terapii s ANT (v důsledku inhibice endogenních protektivních mechanismů), přičemž sekvenční léčba je významně bezpečnější [1,4].

Sunitinib je nízkomolekulární léčivo, které se užívá např. v léčbě renálního karcinomu.

Mezi hlavní cíle patří kinázy spojené s receptory pro VEGF (vaskulární endoteliální růstový faktor) a PDGF (destičkový růstový faktor), což také vysvětluje jeho antiangiogenní potenciál. Na základě původních dat se zdálo, že sunitinib působí významné poškození mitochondriální struktury a funkce kardiomyocytů, k čemuž by mohla významně přispívat i nežádoucí inhibice AMP-aktivované proteinkinázy (AMPK) [5]. Další práce ovšem naznačují, že tyto mechanismy nejsou pro rozvoj kardiotoxicity zásadní a že sunitinib může spíše působit toxicky na pericyty v okolí kapilárního endotelu (inhibicí PDGFRs), což vede k mikrovaskulární dysfunkci v myokardu s následnou chronickou subletální ischemií kardiomyocytů a reverzibilní dysfunkcí LK [6].

Možnosti preklinického hodnocení ANT kardiotoxicity

Translační experimentální výzkum je vedle hodnocení kardiotoxicity při preklinickém vývoji nových léčiv a při objasňování mechanismů jejich působení důležitý také pro výzkum biomarkerů toxicity a pro hodnocení nových kardioprotektivních intervencí. Oblast experimentálního výzkumu ANT kardiotoxicity je zatížena výraznou heterogenitou modelů, přičemž řada z nich vykazuje velmi obtížnou přenositelnost informace do klinické praxe [2]. Na druhou stranu ale existují dobře validované chronické modely se zřejmým translačním potenciálem.

Akutní/subakutní modely ANT kardiotoxicity *in vivo*

Pro svou jednoduchost jsou velmi oblíbené modely založené na jednorázovém podání vysoké dávky ANT hlodavcům. Používané dávky DOX/DAU (10–30 mg/kg) jsou typicky blízké či vyšší než LD₅₀. Ačkoli lze detekovat určité morfologické a funkční poškození myokardu, většinou není úplně porovnatelné s nálezem v humánní medicíně a pozorovaná mortalita často souvisí spíše s extrakardiální toxicitou ANT. Výsledky získané na těchto modelech (např. s antioxidanty) byly později identifikovány jako nepřenositelné do podmínek chronické kardiotoxicity v experimentu i v klinice [2]. Další velmi populární modely jsou založené na opakovaném podávání klinicky relevantních dávek DOX/DAU (1–3 mg/kg) hlodavcům ve velmi krátkých dávkovacích intervalech (nejčastěji obden). Celkové kumulativní dávky je tak dosaženo velmi rychle (za 2–3 týdny). Z hlediska farmakokinetiky i od-

povědi myokardu se situace může podstatně lišit v porovnání s klasickým podáním v oddělených cyklech. Přenositelnost získaných výsledků do podmínek klinické praxe nebyla zatím nijak ověřena. Závěry studií užívající tyto modely je tedy třeba interpretovat velmi obezřetně, neboť plně nerespektují chronický charakter srdečního poškození navozeného ANT [2,7].

Chronické modely kardiotoxicity

Hlavním problémem v klinické praxi jsou chronické formy kardiotoxicity, které se rozvíjejí v průběhu měsíců až let po podání většího množství ANT cyklů [1,2]. Prvním modelem chronické ANT kardiotoxicity byl model na králíkovi. Maral et al [8] aplikovali DAU v dávce 3 mg/kg (do ušní žíly) 1× týdně po dobu 3 měsíců, což vedlo k postupné degeneraci kardiomyocytů s typickými morfologickými rysy pozorovanými v humánní medicíně. Tento model je charakterizován postupným poklesem ejekční frakce, dp/dt_{max} a uvolňováním srdečního troponinu T do krve [9–11]. Vykazuje kardioprotektivní účinek dexrazoxanu, který je prokazatelně účinný i v klinické praxi [2]. DOX se u králíků obvykle podává v nižších jednotlivých dávkách (1–2 mg/kg) vzhledem k významnější extrakardiální toxicitě a nižší kumulativní dávka pak často přináší nutnost prodloužení pokusu. Týdenní podání ANT poskytuje dostatek času pro kompletní vyloučení léčiva a reakci myokardu na každý cyklus. U laboratorních potkanů se také při užití DOX často užívají nižší jednorázové dávky, nicméně toxické poškození může být akcelerováno přítomností hypertenze, což dalo vzniknout modelu chronické DOX kardiotoxicity na SHR potkanech [12]. Tento model byl úspěšně validován s užitím dexrazoxanu a vykazuje dobrou prediktivní hodnotu. V poslední době získaly na oblibě myši modely chronické kardiotoxicity (mj. díky dostupnosti geneticky modifikovaných zvířat). Obvykle se podávají vyšší jednotlivé dávky 4–5 mg/kg týdně po dobu 4–5 týdnů (s následným sledováním po několik týdnů) [3]. Ve většině případů jsou ANT podávány i.p., protože vhodnější i.v. aplikace je opakovaně na malých laboratorních zvířatech poměrně obtížně proveditelná. U většiny modelů ale zatím máme jen omezené informace o přenositelnosti získaných výsledků do klinické praxe. Podávání nižších dávek (3 mg/kg) DOX i.v. B6C3F1 myším po dobu 14 týdnů vedlo k signifikantnímu uvolnění

cTns do krve, ale vzestup biomarkeru zcela nekoreloval s kumulativní dávkou a stupeň kardiotoxicity byl nižší v porovnání s modelem SHR či králíka [13]. Nelze vyloučit významné odlišnosti ve farmakokinetice (či retenci v myokardu) a/nebo toxikodynamice v závislosti na kmenu myši a cestě podání.

Závěr

Je nutné říci, že se zaváděním nových chemoterapeutik do klinické praxe stoupá význam preklinického hodnocení kardiotoxicity těchto látek s cílem rozpoznat riziko, nalézt nové kardioprotektivní strategie a vhodné biomarkery toxicity. V poslední době se hodně diskutuje o možnosti cTns pro monitorování chemoterapií indukované kardiotoxicity zvláště v kontextu nově připravovaných guidelines. Recentní experimentální studie jednoznačně prokázaly vysokou predikční hodnotu cTns při rozvoji antracyklinové kardiomyopatie a popsaly „diagnostické okno“ cTns, které se výrazně liší od akutního infarktu myokardu [11]. Tyto výsledky mohou být rovněž velmi cenné z hlediska klinické praxe.

Finančně podpořeno projektem PROGRES Q40/5 „Nové postupy ve výzkumu, diagnostice a terapii

civilizačních chorob a onemocnění spojených se stárnutím populace“.

Literatura

1. Ewer MS, Ewer SM. Cardiotoxicity of anticancer treatments. *Nat Rev Cardiol* 2015; 12(9): 547–558. doi: 10.1038/nrcardio.2015.65.
2. Štěřba M, Popelová O, Vávrová A et al. Oxidative stress, redox signaling, and metal chelation in anthracycline cardiotoxicity and pharmacological cardioprotection. *Antioxid Redox Signal* 2013; 18(8): 899–929. doi: 10.1089/ars.2012.4795.
3. Zhang S, Liu X, Bawa-Khalife T et al. Identification of the molecular basis of doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Nat Med* 2012; 18(11): 1639–1642. doi: 10.1038/nm.2919.
4. Pondé NF, Lambertini M, de Azambuja E. Twenty years of anti-HER2 therapy-associated cardiotoxicity. *ESMO Open* 2016; 1(4): e000073.
5. Chu TF, Rupnick MA, Kerkela R et al. Cardiotoxicity associated with tyrosine kinase inhibitor sunitinib. *Lancet* 2007; 370(9604): 2011–2019.
6. Chintalgattu V, Rees ML, Culver JC et al. Coronary microvascular pericytes are the cellular target of sunitinib malate-induced cardiotoxicity. *Sci Transl Med* 2013; 5(187): 187ra69. doi: 10.1126/scitranslmed.3005066.
7. Robert J. Long-term and short-term models for studying anthracycline cardiotoxicity and protectors. *Cardiovasc Toxicol* 2007; 7(2): 135–139.
8. Maral R, Bourat G, Ducrot R et al. Toxicologic study and experimental antitumor activity of rubidomycin (13,057 R.P.). *Pathol Biol* 1967; 15(19): 903–908.

9. Gersl V, Cerman J, Suba P et al. IGF-I in experimental daunorubicin-induced cardiomyopathy in rabbits. *Human Exp Toxicol* 1999; 18(3): 154–161.

10. Adamcova M, Gersl V, Hrdina R et al. Cardiac troponin T as a marker of myocardial damage caused by antineoplastic drugs in rabbits. *J Cancer Res Clin Oncol* 1999; 125(5): 268–274.

11. Adamcova M, Lencova-Popelova O, Jirkovsky E et al. Experimental determination of diagnostic window of cardiac troponins in the development of chronic anthracycline cardiotoxicity and estimation of its predictive value. *Int J Cardiol* 2015; 201: 358–367. doi: 10.1016/j.ijcard.2015.07.103.

12. Herman EH, el-Hage AN, Ferrans VJ et al. Comparison of the severity of the chronic cardiotoxicity produced by doxorubicin in normotensive and hypertensive rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 1985; 78(2): 202–214.

13. Desai VG, Herman EH, Moland CL et al. Development of doxorubicin-induced chronic cardiotoxicity in the B6C3F1 mouse model. *Toxicol Appl Pharmacol* 2013; 266(1): 109–121. doi: 10.1016/j.taap.2012.10.025.

Doručeno do redakce: 11. 2. 2017

Přijato po recenzi: 21. 2. 2017

doc. MUDr. Michaela Adamcová, Ph.D.

www.lfhk.cuni.cz

adamcova@lfhk.cuni.cz

www.csnn.eu