

УРОВЕНЬ РЯДА МАРКЕРОВ ДИСФУНКЦИИ МИОКАРДА В ПЛАЗМЕ КРОВИ ПРИ АНТРАЦИКЛИН-ОПОСРЕДОВАННОЙ КАРДИОТОКСИЧНОСТИ У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

Сагакянц А.Б.¹, Гвалдин Д.Ю.¹, Шульгина О.Г.¹, Ващенко Л.Н.¹, Дашкова И.Р.¹, Аушева Т.В.¹, Бакулина С.М.¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Ростов-на-Дону, e-mail: 89dmitry@mail.ru

Целью проведенного исследования являлось определение содержания ряда потенциальных маркеров в плазме крови больных раком молочной железы для прогнозирования и диагностики антрациклин-опосредованной кардиотоксичности (АОК). С использованием твердофазного иммуноферментного анализа проведено определение концентрации галектина 3, миелопероксидазы, параоксоназы 1, а также NTproBNP в плазме крови 280 пациенток европеоидного типа с гистологически верифицированным диагнозом РМЖ, получавших комплексное лечение на базе НМИЦ онкологии. По результатам наблюдения в течение как минимум 8 месяцев были выделены две группы: группа 1 (257 человек) без диагностированных сердечно-сосудистых изменений; группа 2 (23 человека) – пациентки с подострой и ранней хронической формой АОК. Установлено, что из всех определяемых показателей статистически значимым оказалось изменение содержания параоксоназы 1. В ходе химиотерапевтического лечения было отмечено повышение уровня PON1 после 4-го курса в двух группах. Однако содержание исследуемого фермента было выше в плазме крови пациенток с диагностированной АОК по сравнению с больными без сердечно-сосудистых осложнений не только после проведенной антрациклин-содержащей терапии, но и до начала лечения. Результаты исследования позволяют получить информацию о риске развития АОК и могут быть использованы для раннего определения в короткие сроки у онкологических больных кардиологических нарушений, которые в дальнейшем могут быть подтверждены с использованием клинико-инструментальных методов.

Ключевые слова: рак молочной железы; антрациклин-опосредованная кардиотоксичность; маркеры кардиотоксичности; параоксоназа 1; галектин 3; миелопероксидаза; NTproBNP.

THE LEVEL OF A NUMBER OF MARKERS OF MYOCARDIAL DYSFUNCTION IN BLOOD PLASMA IN CASE OF ANTHRACYCLINE-MEDIATED CARDIOTOXICITY IN CANCER PATIENTS

Sagakyants A.B.¹, Gvaldin D.Yu.¹, Shulgina O.G.¹, Vaschenko L.N.¹, Dashkova I.R.¹, Ausheva T.V.¹, Bakulina S.M.¹

¹National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, e-mail: 89dmitry@mail.ru

The aim of the study was to determine the content of a number of potential markers in the blood plasma of patients with breast cancer in order to predict and diagnose anthracycline-induced cardiotoxicity (ACIC). Using solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay, the concentration of galectin 3, myeloperoxidase, paraoxonase 1, and NTproBNP in the blood plasma of 280 Caucasian type patients with histologically verified breast cancer who received complex treatment on the basis of the National Medical Research Center of Oncology was determined. Based on the results of observation for at least 8 months, two groups were identified: group 1 (257 people) without diagnosed cardiovascular changes; group 2 (23 people) – patients with subacute and early chronic ACIC. It was found that of all the parameters determined, the change in the content of paraoxonase 1 turned out to be statistically significant. During chemotherapeutic treatment, an increase in the level of PON1 was noted after the 4th course in two groups. However, the content of the studied enzyme was higher in the blood plasma of patients with diagnosed ACIC compared with patients without cardiovascular complications, not only after the anthracycline-containing therapy, but also before the start of treatment. The results obtained provide information on the risk of developing ACIC and can be used for early diagnosis of cardiac disorders in cancer patients in a short time, which can later be established using clinical and instrumental methods.

Keywords: breast cancer; anthracycline-induced cardiotoxicity; markers of cardiotoxicity; paraoxonase 1; galectin 3; myeloperoxidase; NTproBNP.

больных; повышение ее эффективности в последнее время связывают с использованием новых таргетных препаратов, а также с усовершенствованием иммунотерапевтических подходов. Тем не менее, в настоящее время до 60% онкологических больных получают антрациклиновые антибиотики [1], использование которых, несмотря на их высокую противоопухолевую активность, сопровождается повышенным риском кардиотоксических проявлений, снижающих продолжительность и качество жизни пациентов. Показано, что сердечно-сосудистые заболевания занимают второе место по эпидемиологии и смертности среди пациентов, перенесших рак, и первое – среди перенесших рак молочной железы [2].

Для антрациклин-опосредованной кардиотоксичности (АОК) характерен широкий спектр клинических проявлений: аритмии, кардиомиопатия, перикардит, дисфункция левого желудочка и сердечная недостаточность [3]. В настоящее время известно, что АОК может быть острой, подострой и хронической, последнюю подразделяют на раннюю и позднюю [4]. Острая АОК, являясь редкой и обратимой, возникает в ходе антрациклиновой терапии или в течение недели после завершения последнего курса. Она проявляется в виде временной аритмии, наджелудочковой тахикардии, миокардита и острой недостаточности левого желудочка. Острая форма АОК характеризуется наличием неспецифического смещения ST-сегмента или аномалией зубца Т на ЭКГ [5]. Подострая АОК, которая, как правило, развивается в течение нескольких дней или недель после завершения последнего курса химиотерапии, протекает в виде острой сердечной недостаточности, миокардита и перикардита [6]. Ранняя хроническая АОК возникает в течение года после завершения антрациклиновой терапии, характеризуется систолической или диастолической желудочковой дисфункцией с развитием дилатационной кардиомиопатии, уменьшением массы и стенки левого желудочка. Кроме того, возможны и другие проявления: нарушения ритма и проводимости сердца, повреждения сердечных клапанов и снижение сократимости [7].

Показано, что клинические симптомы поздней АОК обнаруживаются спустя годы после завершения химиотерапии. Скрытый, бессимптомный характер протекания данной формы АОК приводит к манифестации дилатационной и рестриктивной кардиомиопатии и в итоге – к возникновению застойной сердечной недостаточности. Для поздней АОК характерна высокая смертность пациентов – более 50% [7]. Более того, показано, что после появления симптомов АОК очень трудно получить положительные результаты лечения, и прогноз у пациента ухудшается [8].

Следствием указанных выше особенностей является то, что диагностика АОК существенно осложняется, а использования клиничко-инструментальных методов (электро- и эхокардиографии) недостаточно для своевременного выявления кардиотоксических

осложнений и коррекции терапевтической стратегии. Длительный бессимптомный период течения АОК и поздняя диагностика посредством известных клинико-инструментальных методов побудили исследователей сосредоточить внимание на поиске маркеров, способных прогнозировать риски и выявить ранние сердечно-сосудистые изменения на фоне проводимой химиотерапии.

На основании проведенного анализа литературы наиболее перспективными маркерами развития АОК в настоящее время являются следующие: галлектин-3 (Galectin-3), N-концевой фрагмент предшественника мозгового натрийуретического пептида (NT-proBNP), параоксоназа 1 (PON1), миелопероксидаза (MPO) [9].

Целями исследования являлись исследование влияния антрациклин-содержащей терапии на содержание выбранных показателей в плазме крови больных раком молочной железы (РМЖ) и поиск маркеров, чувствительных к проявлениям антрациклин-опосредованной кардиотоксичности.

Материал и методы исследования. В исследование вошли 280 пациенток (медиана возраста – 50 лет, размах варьирования – от 22 до 71 года) европеоидного типа с РМЖ без диагностированных сердечно-сосудистых изменений на дохимиотерапевтическом этапе, проходивших лечение на базе ФГБУ «НМИЦ онкологии» в 2019–2020 гг. Всем пациенткам было назначено проведение четырех курсов химиотерапии с антрациклиновыми антибиотиками по схеме АС: доксорубицин 60 мг/м²+ циклофосфамид 600 мг/м² в/в капельно в 1 день каждые 3 недели. Перед началом проведения курсов химиотерапии на основании результатов обследования (электрокардиографии, эхокардиографии) и с учетом анамнеза были выбраны пациентки без диагностированных сердечно-сосудистых изменений. В дальнейшем пациенток наблюдали в течение как минимум 8 месяцев.

У пациенток до начала химиотерапии и после 4-го курса была забрана кровь из локтевой вены по стандартной методике с дальнейшим получением плазмы крови, в которой методом твердофазного иммуноферментного анализа определяли концентрацию PON1, NT-ProBNP, Galectin 3 и MPO с использованием тест-систем ELISA производства Cloud-Clone Corp. (Wuhan, China/USA) в соответствии с инструкциями фирмы-производителя.

Оценку результатов анализа осуществляли с использованием комплекса, включающего планшетный анализатор иммуноферментных реакций АИФР-01 (УНИПЛАН, Россия); вошер «Акварин» (BioSan, Россия), микропланшетный шейкер-термостат StatFax-2200 (Awareness Technology, USA).

Статистический анализ полученных результатов проводили в программной вычислительной среде R 4.0.4 [10]. Анализ предполагал расчет основных статистических характеристик выборок, определение характера распределения определяемых показателей с

использованием критерия Шапиро–Уилка. Так как полученные данные имели ненормальное распределение, результаты представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха – 25-й и 75-й процентиля (Me [LQ; UQ]). Достоверность отличий между выборками оценивалась с использованием непараметрического критерия Вилкоксона. Результаты считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Проведенные исследования выполняли в соответствии с принципами Хельсинской декларации, разработанной Всемирной медицинской ассоциацией.

Результаты исследования и их обсуждение

На основании результатов обследования (электрокардиографии, эхокардиографии), проведенных до и после четырех курсов химиотерапии, пациентки были разделены на две группы: группа 1 (257 человек) без диагностированных сердечно-сосудистых изменений; группа 2 (23 человека) – пациентки с подострой и ранней хронической формой АОК.

Проведенный ранее обзор имеющихся в настоящее время перспективных маркеров развития кардиологических осложнений у онкологических больных позволил выбрать для исследования показатели, которые отражают изменение антиоксидантного статуса (MPO, PON1), а также структурные изменения сердечной мышцы (Galectin 3, NTproBNP), вызванные применением антрациклиновых антибиотиков.

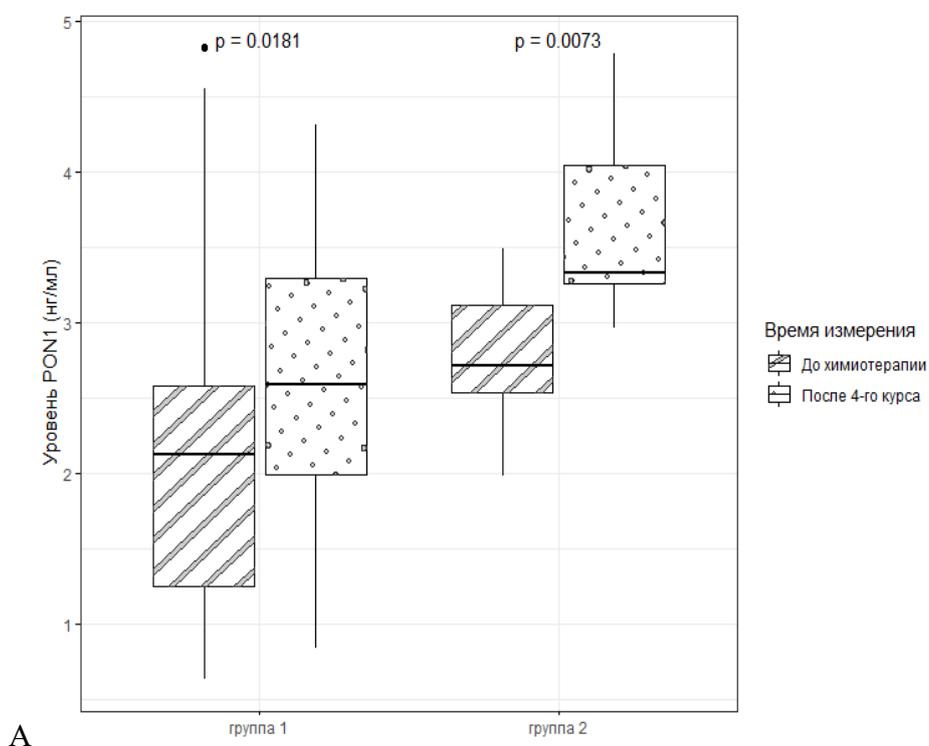
Результаты определения выбранных маркеров в плазме крови больных РМЖ обеих групп представлены в таблице.

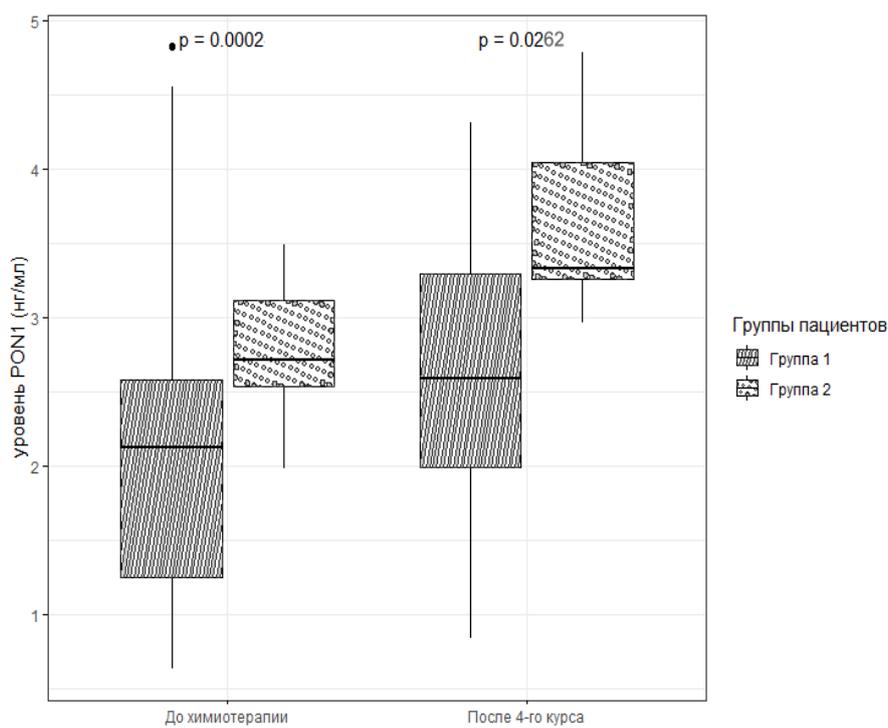
Концентрация маркеров в плазме крови больных РМЖ с и без признаков АОК, Me [LQ; UQ]

	Группа 1, n=257			Группа 2, n=23			p, Группа 1/Группа 2	
	До химиотерапии	После химиотерапии	p	До химиотерапии	После химиотерапии	p	До химиотерапии	После химиотерапии
Galectin-3, нг/мл	11,3 (8,7; 15,8)	9,69 (8,3; 13,4)	0,181	9,77 (7,9; 12,4)	9,7 (8,5; 15,7)	0,781	0,202	0,940
NTproBNP, пг/мл	51,7 (25,7; 108)	61,0 (60,6; 68)	0,748	40,3 (27,4; 87,2)	30,0 (28,6; 33,3)	0,392	0,825	0,149
MPO, мкг/мл	13,6 (4,8; 16,3)	16,5 (3,5; 21,2)	0,712	12,5 (2,5; 20,8)	2,5 (2,0; 2,72)	0,179	0,654	0,124
PON1, нг/мл	2,12 (1,24; 2,58)	2,58* (2; 3,3)	0,018	2,71** (2,5; 3,11)	3,32*** (3,3; 4,0)	0,007	0,0002	0,026

Примечание: * – статистически значимые отличия по сравнению со значением показателя до химиотерапии; ** – статистически значимые отличия по сравнению со значением показателя в группе 1 (до и после химиотерапии).

Из представленных результатов видно, что у обследованных нами пациенток только один показатель – PON1 – имел статистически значимые изменения. Использование в курсе химиотерапии антрациклиновых антибиотиков у пациенток с РМЖ в обеих обследованных группах после 4-го курса терапии сопровождалось статистически значимым увеличением содержания параоксаназы 1. Так, данный показатель у пациенток 1-й группы, без АОК после 4 курсов проведенной терапии был на 22% выше по сравнению с его уровнем до начала терапии, составив 2,58 (2,0; 3,3) против 2,12 (2,54; 3,11), $p=0,018$. Во 2-й группе, с развившейся далее АОК, концентрация PON1 после лечения в рассматриваемые сроки также была на 23% выше соответствующих значений до начала терапии, составив 3,32 (3,3; 4,0) против исходных 2,71 (2,54; 3,11), $p=0,007$ (табл., рис. А).





Б

Сравнение уровня PON1 в плазме крови в группе больных без признаков АОК (А) и в группе с диагностированной кардиотоксичностью; (Б) до химиотерапии и после 4-го курса химиотерапии

Проведенные исследования показали, что у пациенток концентрация параоксоназы 1 в плазме крови отличалась между группами как перед началом, так и после проведенных 4 курсов химиотерапии. Так, содержание PON1 оказалось статистически значимо больше (на 28% и 29% соответственно) до и после химиотерапии в группе пациенток с развившейся АОК (группа 2) по сравнению со значением в группе без кардиологических осложнений (табл., рис. Б).

В настоящее время показана особая роль свободно-радикальных процессов как в поддержании нормального функционирования клеток организма, так и в условиях развития функциональных и патологических процессов. Структурно-функциональные изменения кардиомиоцитов и ткани сердца в целом, развивающиеся в условиях нарушения сосудистого русла, сопровождаются закономерными изменениями в интенсивности свободно-радикальных процессов с увеличением образования активных форм кислорода (АФК), нарушением активности компонентов антиоксидантной системы. При этом показано, что окислительный стресс играет ключевую роль в патогенезе АОК и связан с действием используемых для терапии препаратов на протекающие в миокарде метаболические процессы. Проникающие в миокард антрациклины, такие как доксорубицин, подвергаются трансформации в семихиноны за счет взаимодействия с АФК, продуцируемыми различными

прооксидантными ферментами [10], в том числе и НАДФН-оксидазой (NOX).

В нормальных условиях генерация АФК в клетке нивелируется активностью ферментов антиоксидантной линии защиты, в число которых входит широкий спектр биологических катализаторов, в том числе параоксоназы. Это семейство представлено тремя ферментами – PON1, PON2 и PON3. Первая и третья изоформы синтезируются в печени, после чего выделяются в кровоток, где пребывают в связанном с липопротеинами высокой плотности состоянии. Вторая изоформа локализуется в митохондриях дофаминэргических нейронов и астроцитов, в меньшем количестве обнаруживается в митохондриях легких, печени, почек, сердца, тонкого кишечника и других органах [11]. Особенности активного центра параоксоназ обуславливают широкий спектр катализируемых реакций. Следует отметить, что для PON1 показаны все типы активностей, характерных как для PON2 (лактоназная и слабая арилэстеразная активность), так и для PON3, которая проявляет высокие лактоназные, слабые арилэстеразные и параоксоназные свойства [12]. Кроме того, все изоформы участвуют в защите от окислительного стресса за счет реализации пероксидазной активности [13].

М.Р. Kasprzak et al. показано, что ишемические изменения, возникающие после стентирования левой главной коронарной артерии, могут вызывать генерацию PON1 и обуславливать повышение уровня данного фермента в сыворотке крови больных со стенозом левой главной коронарной артерии [14]. Можно предположить, что аналогичный механизм реализуется и у больных с кардиотоксическими проявлениями, у которых уровень PON1 повышался в ходе химиотерапевтического лечения и был выше по сравнению с группой без сердечно-сосудистых осложнений.

Таким образом, можно предположить, что увеличение содержания PON1 является одним из универсальных адаптационных механизмов приспособления ткани миокарда к ишемическим нарушениям, проявляющимся также в условиях использования антрациклин-содержащих препаратов при лечении пациентов с онкологическими заболеваниями.

Заключение. АОК остается одной из актуальных проблем, в том числе и в онкологической практике, ввиду широкого использования высокоэффективных препаратов данного ряда для лечения основного заболевания. Длительный бессимптомный период, дефицит информативных методов прогнозирования и диагностики развития АОК приводят к необходимости поиска новых подходов, которые снизили бы риски возможных осложнений у онкологических больных. Результаты нашей работы открывают перспективы для дальнейших исследований и разработок в области диагностики сердечно-сосудистых осложнений у онкологических больных на фоне антрациклин-содержащей терапии.

Финансирование осуществлялось в рамках государственного задания «Молекулярно-генетические предикторы сердечно-сосудистых осложнений у больных раком молочной железы, подвергнутых лекарственной терапии».

Список литературы

1. Bhatia S. Genetics of Anthracycline Cardiomyopathy in Cancer Survivors: JACC: CardioOncology State-of-the-Art Review. JACC CardioOncol. 2020. Vol. 2(4). P. 539-552. DOI: 10.1016/j.jacc.2020.09.006.
2. Benjamin E.J., Muntner P., Alonso A., Bittencourt M.S., Callaway C.W., Carson A.P., Chamberlain A.M., Chang A.R., Cheng S., Das S.R., Delling F.N., Djousse L., Elkind M.S.V., Ferguson J.F., Fornage M., Jordan L.C., Khan S.S., Kissela B.M., Knutson K.L., Kwan T.W., Lackland D.T., Lewis T.T., Lichtman J.H., Longenecker C.T., Loop M.S., Lutsey P.L., Martin S.S., Matsushita K., Moran A.E., Mussolino M.E., O'Flaherty M., Pandey A., Perak A.M., Rosamond W.D., Roth G.A., Sampson U.K.A., Satou G.M., Schroeder E.B., Shah S.H., Spartano N.L., Stokes A., Tirschwell D.L., Tsao C.W., Turakhia M.P., VanWagner L.B., Wilkins J.T., Wong S.S., Virani S.S. Heart Disease and Stroke Statistics-2019. Update: A Report From the American Heart Association. Circulation. 2019. Vol. 139 (10). P. e56-e528. DOI: 10.1161/CIR.0000000000000659.
3. Sobczuk P., Czerwińska M., Kleibert M., Cudnoch-Jędrzejewska A. Anthracycline-induced cardiotoxicity and renin-angiotensin-aldosterone system-from molecular mechanisms to therapeutic applications. Heart Fail. Rev. 2020. DOI: 10.1007/s10741-020-09977-1.
4. Cai F., Luis M.A.F., Lin X., Wang M., Cai L., Cen C., Biskup E. Anthracycline-induced cardiotoxicity in the chemotherapy treatment of breast cancer: Preventive strategies and treatment. Mol.Clin. Oncol. 2019. Vol. 11 (1). P. 15-23. DOI: 10.3892/mco.2019.1854.
5. Horacek J.M., Jakl M., Horackova J., Pudil R., Jebavy L., Maly J. Assessment of anthracycline-induced cardiotoxicity with electrocardiography. Exp. Oncol. 2009. Vol. 31 (2). P. 115-117.
6. Manrique C.R., Park M., Tiwari N., Plana J.C., Garcia M.J. Diagnostic Strategies for Early Recognition of Cancer Therapeutics-Related Cardiac Dysfunction. Clin. Med. Insights Cardiol. 2017. Vol. 11. 1179546817697983. DOI: 10.1177/1179546817697983.
7. Santos D.S., Goldenberg R.C. Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity: From Mechanisms to Development of Efficient Therapy. IntechOpen. 2018. P. 3-24. DOI: 10.5772/intechopen.79588.
8. Селиверстова Д.В., Евсина О.В. Кардиотоксичность химиотерапии // Сердце: журнал для практикующих врачей. 2016. Т. 15 (1). С. 50–57.
9. Кит О.И., Гвалдин Д.Ю., Омельчук Е.П., Тимошкина Н.Н. Современные представления о предикторах и биомаркерах ранней диагностики антрациклин-

опосредованной кардиотоксичности // Клиническая лабораторная диагностика. 2020. Т. 65 (3). С. 141-148. DOI: 10.18821/0869-2084-2020-65-3-141-148.

10. Cappetta D., De Angelis A., Sapio L., Prezioso L., Illiano M., Quaini F., Rossi F., Berrino L., Naviglio S., Urbanek K. Oxidative Stress and Cellular Response to Doxorubicin: A Common Factor in the Complex Milieu of Anthracycline Cardiotoxicity. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2017. 1521020. DOI: 10.1155/2017/1521020.

11. Боровкова Е.И., Антипова Н.В., Корнеенко Т.В., Шахпаронов М.И., Боровков И.М. Параоксоназа: универсальный фактор антиоксидантной защиты организма человека // Вестник РАМН. 2017. Vol. 72 (1). P. 5–10.

12. Taler-Verčič A., Goličnik M., Bavec A. The Structure and Function of Paraoxonase-1 and Its Comparison to Paraoxonase-2 and -3. *Molecules.* 2020. Vol. 25 (24). P. 5980. DOI: 10.3390/molecules25245980.

13. Shokri Y., Variji A., Nosrati M., Khonakdar-Tarsi A., Kianmehr A., Kashi Z., Bahar A., Bagheri A., Mahrooz A. Importance of paraoxonase 1 (PON1) as an antioxidant and antiatherogenic enzyme in the cardiovascular complications of type 2 diabetes: Genotypic and phenotypic evaluation. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2020. Vol. 161. P. 108067. DOI: 10.1016/j.diabres.2020.108067.

14. Kasprzak M.P., Ołasińska-Wiśniewska A., Gryszczyńska B., Budzyń M., Lesiak M., Trojnarśka O., Iskra M. Changes in the Nrf2/Keap1 Ratio and PON1 Concentration in Plasma of Patients Undergoing the Left Main Coronary Artery Stenting. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2020. 8249729.