

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ «ТОМСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ЦЕНТР РОССИЙСКОЙ
АКАДЕМИИ НАУК» НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
КАРДИОЛОГИИ**

На правах рукописи

НЕУПОКОЕВА МАРИЯ НИКОЛАЕВНА

**АНТРАЦИКЛИН-ИНДУЦИРОВАННАЯ КАРДИОТОКСИЧНОСТЬ:
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ И
ВОЗМОЖНОСТИ РАННЕЙ ПЕРСОНИФИЦИРОВАННОЙ
ДИАГНОСТИКИ**

14.01.05 – кардиология

14.03.03 – патологическая физиология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научные руководители:

Заслуженный деятель науки РФ,
доктор медицинских наук,
профессор **Тепляков А.Т.**

доктор медицинских наук
Шилов С.Н.

ТОМСК-2019

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	14
1.1. Эпидемиология, факторы риска и особенности клиники кардиотоксичности химиотерапевтических препаратов	14
1.2. Возможности ранней диагностики кардиотоксичности химиотерапевтических препаратов.....	23
1.3. Механизмы развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности	35
ГЛАВА 2. ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ....	40
2.1. Клиническая характеристика обследованных больных	40
2.2. Функциональные и лабораторные методы исследования.....	42
2.3. Исследование полиморфизмов генов.....	44
2.4. Иммуноферментный анализ.....	49
2.5. Статистический анализ.....	51
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	53
3.1. Особенности клинико-функциональных изменений, установленные у исследованных больных в процессе 12-месячного проспективного наблюдения .	53
3.1.1. Клиническое, функциональное и инструментальное обследование больных	53
3.1.2. Состояние эндотелиальной дисфункции при развитии антрациклин-индуцированной кардиотоксичности.....	61
3.2. Полиморфные варианты генов, предрасполагающие к развитию антрациклин-индуцированной кардиотоксичности.....	64
3.2.1. Прогностическое значение полиморфизмов генов белка p53 и каспазы 8 в оценке риска развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности.....	65
3.2.2. Роль полиморфизмов генов про- и антиоксидантной систем в развитии антрациклин-индуцированной кардиотоксичности	71

3.2.3. Оценка роли полиморфных вариантов генов эндотелиальной NO-синтазы и рецептора эндотелина-1 в прогнозировании риска развития сердечной недостаточности, индуцированной кардиотоксичностью химиотерапии	79
3.2.4. Роль полиморфных вариантов генов ФНО- α и интерлейкина-1 β при развитии антрациклин-индуцированной кардиотоксичности	83
3.3. Прогностическое и патогенетическое значение биомаркеров при развитии кардиотоксичности антрациклиновой химиотерапии	86
3.3.1. Влияние растворимого Fas-лиганда на развитие антрациклин-индуцированной кардиотоксичности и его прогностическое значение	86
3.3.2. Оценка прогностической значимости предшественника мозгового натрийуретического пептида в развитии ремоделирования миокарда, ассоциированного с терапией антрациклинами	96
3.3.3. Роль противовоспалительных цитокинов в стратификации риска развития антрациклин-индуцированной дисфункции сердца	100
3.3.4. Значение эндотелина-1 в патогенезе антрациклин-индуцированной кардиотоксичности	106
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ	113
ВЫВОДЫ	125
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	127
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	128
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	130

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

Данные статистики России свидетельствуют о неуклонном увеличении заболеваемости злокачественными новообразованиями с 469,2 тыс. человек в 2005 году до 617,1 тыс. человек в 2017 году. Рак молочной железы (РМЖ) является самым распространенным опухолевым заболеванием у женщин, представляя собой актуальную проблему здравоохранения России и других экономически развитых стран мира [10]. За последние десятилетия новые технологии химиотерапевтического лечения, а также использование более агрессивных протоколов для лечения онкологических больных обеспечили весьма существенное повышение выживаемости при злокачественных новообразованиях. Так, в США 5-летняя выживаемость пациенток при раке молочной железы ранней стадии увеличилась с 79% в 1990 г. до 89% в 2015 г. [135]. Но, вместе с этим, также значимо возросла частота отсроченных кардиоваскулярных осложнений, ассоциируемых с химиотерапевтическим лечением.

Установлено, что осложнения, вызванные кардиотоксичностью полихимиотерапии (ПХТ), оказывают негативное влияние на качество жизни и общую выживаемость пациентов, независимо от прогноза, связанного с опухолевым процессом. По мнению ведущих экспертов АСС/АНА фактическая угроза преждевременной сердечно-сосудистой смертности от кардиотоксических осложнений может быть выше, по сравнению с риском смерти от онкологического заболевания [46].

Кардиотоксическим действием обладают антрациклины, и другие биологические агенты, такие как трастузумаб, мультикиназные ингибиторы, например, сунитиниб, применение которых способно вызывать развитие неблагоприятных клинических состояний сердечно-сосудистой системы [6, 7, 92, 226].

Широкое клиническое использование антрациклинов ограничивается их кумулятивным и дозозависимым кардиотоксическим действием, которое может проявляться как бессимптомной систолической дисфункции левого желудочка, так и клинически выраженной сердечной недостаточности (СН), сопровождающейся снижением качества жизни и крайне неблагоприятным прогнозом с высокой отдаленной летальностью [6, 7, 33, 57, 98, 148, 172, 226].

Многие исследователи признают важность раннего выявления кардиотоксичности, поскольку кардиомиопатия, индуцированная применением антрациклинов, ассоциируется с более плохим прогнозом, по сравнению с кардиомиопатиями от других причин [23, 33, 51, 87, 148, 226]. При этом развивается резистентная к медикаментозной терапии левожелудочковая СН с неуклонно ухудшающимся прогнозом выживаемости [57].

Одним из предполагаемых механизмов кардиотоксичности антрациклинов является индуцированное свободными радикалами повреждение миокарда [141, 95, 190]. Однако гипотеза окислительного стресса, как основного механизма повреждения миокарда при терапии антрациклинами, была подвергнута сомнению серией исследований, в которых лечение антиоксидантами не предотвращало сердечную токсичность, вызванную доксорубицином [102, 161]. Описаны некоторые другие клеточные изменения, включающие повреждение ДНК, ингибирование синтеза белка, дегенерацию миофибрилл и апоптоз кардиомиоцитов [217]. В экспериментальных исследованиях показано, что фармакологическое или генетическое ингибирование активности p53 снижает индуцированный доксорубицином апоптоз кардиомиоцитов и эндотелиоцитов с сопутствующим улучшением функции сердца [230].

В качестве возможного патогенетического механизма кардиотоксичности химиотерапии была предложена гипотеза, которая обосновывает повышенный выброс Ca^{2+} из эндоплазматического ретикулума кардиомиоцитов с избыточной продукцией активных форм кислорода и локальным высвобождением провоспалительных цитокинов из макрофагов, вызывающих индукцию апоптоза кардиомиоцитов [175]. Тем не менее, анализ современной литературы

свидетельствует о том, что в настоящее время выполняется явно недостаточное количество исследований, касающихся фундаментальных аспектов структурно-функциональных нарушений миокарда в процессе развития кардиотоксичности и антрациклиновой кардиомиопатии в результате целевого воздействия сочетанной терапии доксорубицином и лучевой терапии.

В связи с трудностями ранней диагностики кардиотоксичности применяются и усовершенствуются различные методы клинической оценки состояния сердца. На сегодняшний день диагностика кардиомиопатии, связанной с приемом противоопухолевых химиопрепаратов, традиционно основана на серийной регистрации ЭКГ и использовании двухмерной эхокардиографии (Эхо-КГ) [6, 7, 34, 226].

Однако, в силу особенностей патофизиологических механизмов развития кардиотоксичности химиотерапии мониторинг фракции выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ) по данным двухмерной Эхо-КГ обладает сравнительно низкой чувствительностью для ранней диагностики повреждения миокарда; снижение ФВ ЛЖ идентифицируется только при большом объеме повреждения кардиомиоцитов [6, 7, 27, 34]. В связи с этим в настоящее время уделяется особое внимание разработке инновационных технологий, позволяющих диагностировать нарушения сократимости миокарда на самых ранних субклинических стадиях развития кардиотоксичности либо прогнозировать развитие сердечно-сосудистых осложнений еще до начала курса полихимиотерапии [6, 78, 226, 167, 185].

Таким образом, кардиоонкология - стала новой медицинской дисциплиной по нескольким причинам. Во-первых, выжившие с опухолевыми заболеваниями имеют риск сердечно-сосудистых заболеваний, так как заболевания сердечно-сосудистой системы широко распространены среди населения в целом. Во-вторых, как традиционные так и новые методы лечения рака связаны с кардиотоксичностью [110]. Появление новых классов химиотерапевтических препаратов часто не снижает, а порой даже повышает риск развития кардиотоксичности.

В настоящее время проводятся многочисленные исследования по раннему выявлению кардиотоксичных повреждений химиотерапией, разработки и внедрению в клиническую практику новых более эффективных алгоритмов, программ эффективной и безопасной химиотерапии, способных защитить от возможного повреждающего действия сердце и другие внутренние органы человека. Обращают на себя внимание впечатляющие достижения в отношении онкологической диагностики, успехи, связанные с широким применением современных химиотерапевтических препаратов в онкологической практике, достижения в лечении злокачественных новообразований и неуклонно увеличивающееся число пациентов с хорошей отдаленной выживаемостью. С другой стороны, статистика возрастающей смертности от сердечно-сосудистой патологии у женщин с раком молочной железы, у которых в предшествующем периоде жизни не было поражения сердечно-сосудистой системы, диктует необходимость дальнейших углубленных исследований в этом направлении, обеспечение комплексного междисциплинарного подхода, направленного на оптимальную коррекцию и профилактику всех модифицируемых факторов риска. Все это делает проблему кардиотоксичности химиотерапии весьма актуальной и социально значимой. Механизмы, в результате которых антрациклины вызывают кардиотоксичность остаются неизвестными, и на сегодняшний день не существует надежных методов прогнозирования риска развития антрациклиновой кардиомиопатии.

Цель исследования: изучить молекулярно-генетические механизмы развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности для идентификации ранних предикторов риска развития хронической сердечной недостаточности

Задачи исследования

1. Провести анализ распространенности и клинических проявлений кардиотоксического ремоделирования миокарда во время проведения полихимиотерапии и в течение 12-месячного проспективного наблюдения после

завершения химиотерапии с использованием антрациклиновых антибиотиков у женщин с раком молочной железы.

2. Оценить роль генов белков апоптоза (белка p53 и каспазы 8), про- и антиоксидантной систем (глутатионпероксидазы, супероксиддисмутаза и NADPH-оксидазы), функционального состояния эндотелия (эндотелиальной NO-синтазы и A-рецептора эндотелина-1) и цитокиновой системы (интерлейкина-1 β и фактора некроза опухоли- α) в развитии ремоделирования миокарда при химиотерапии рака молочной железы антрациклинами для идентификации генетических детерминант повышенного риска развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности.

3. Выявить молекулярные механизмы ремоделирования миокарда на фоне полихимиотерапии с антрациклинами с целью определения ранних объективных предикторов развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности у женщин с раком молочной железы.

4. Охарактеризовать влияние полихимиотерапии рака молочной железы с использованием антрациклиновых антибиотиков на развитие дисфункции эндотелия.

5. Обосновать современную стратегию прогноза и ранней диагностики развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности у женщин с раком молочной железы.

Научная новизна

На основе исследований генетических факторов риска и молекулярных механизмов развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности выработана стратегия персонафицированного прогнозирования развития сердечно-сосудистых осложнений при полихимиотерапии рака молочной железы антрациклиновыми антибиотиками. Проведен комплексный анализ роли растворимого Fas-лиганда, провоспалительных цитокинов, мозгового натрийуретического пептида и дисфункции эндотелия в развитии антрациклин-индуцированного ремоделирования миокарда.

Впервые показано, что плазменные уровни растворимого Fas-лиганда (sFas-лиганд) и предшественника мозгового натрийуретического пептида (NT-proBNP) после окончания полихимиотерапии являются более информативными показателями прогноза развития антрациклин-индуцированного ремоделирования сердца через 12 месяцев после завершения полихимиотерапии по сравнению с уровнями цитокинов - фактора некроза опухоли- α (ФНО- α) и интерлейкина-1 β (ИЛ-1 β), а также эндотелина-1.

Впервые проведен комплексный анализ полиморфизмов генов белков, участвующих в регуляции апоптоза и функционального состояния эндотелия, реализации окислительного стресса и воспалительной реакции в патогенезе антрациклин-индуцированной кардиотоксичности, что позволило идентифицировать генетические маркеры в качестве этиологических факторов, ассоциированных с высоким риском развития поражения сердца при терапии антрациклинами.

Получены новые данные свидетельствующие о том, что высокий риск развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности ассоциирован с носительством генотипов Arg/Arg гена белка *p53* (rs1042522), T/T гена *NADPH-оксидазы* (rs4673) и T/T гена эндотелиальной NO-синтазы (*NOS3*) (rs1799983).

Впервые представлена информативная модель прогноза развития кардиотоксического поражения миокарда через 12 месяцев после завершения полихимиотерапии на основе многофакторной оценки, включающей уровень NT-proBNP и наличие генотипа Arg/Arg гена белка *p53* (rs1042522).

Теоретическая и практическая значимость

На основе многофакторного анализа этиологических и патогенетических факторов развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности получены новые данные, которые открывают широкие возможности для разработки современных подходов к доклинической диагностике и патогенетической первичной профилактике поражения миокарда при терапии опухолевых заболеваний антрациклиновыми антибиотиками. Возможными мишенями для

разработки патогенетической профилактической терапии, направленной на защиту сердца от его антрациклин-индуцированного поражения, могут явиться выявленные в исследовании патогенетические факторы повреждения миокарда при полихимиотерапии: активация апоптоза, цитокиновая агрессия и дисфункция эндотелия.

Повышенные концентрации sFas-лиганда и NT-proBNP в плазме крови после завершения полихимиотерапии позволяют выделять группы пациентов с повышенным риском развития антрациклин-индуцированного поражения сердца для осуществления профилактических мероприятий, направленных на предотвращение или уменьшения негативного влияния антрациклинов на миокард.

Выявление носителей генотипов Arg/Arg гена белка *p53* (rs1042522), T/T гена *NADPH-оксидазы* (rs4673) и T/T гена *NOS3* (rs1799983) еще до начала противоопухолевой терапии дает возможность проводить необходимые научно-обоснованные профилактические мероприятия, направленные на предотвращение развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности, еще до начала применения антрациклинов.

Использование прогностической модели с одновременной оценкой концентрации NT-proBNP и полиморфизма гена белка *p53* (rs1042522) позволяет выделять группы высокого риска развития антрациклин-индуцированного поражения сердца для осуществления эффективных персонифицированных профилактических мероприятий, направленных на предотвращение развития патологического процесса и снижение смертности.

Положения, выносимые на защиту:

1. Кардиотоксичность, характеризующаяся снижением фракции выброса левого желудочка более 10% от исходной и развитием признаков ХСН через 12 месяцев после завершения полихимиотерапии, возникает у 29,5% больных с раком молочной железы после комбинированного лечения, включающего антрациклины.

2. В патогенезе антрациклин-индуцированной кардиотоксичности у женщин с раком молочной железы имеют значение активация апоптоза, повышение содержания провоспалительных цитокинов в крови и дисфункция эндотелия.

3. К развитию антрациклин-индуцированной кардиотоксичности у женщин с раком молочной железы предрасполагает носительство генотипов Arg/Arg гена белка *p53* (rs1042522), T/T гена *NADPH-оксидазы* (rs4673) и T/T гена *NOS3* (rs1799983).

4. Плазменные уровни sFas-лиганда и NT-proBNP после окончания полихимиотерапии у женщин с раком молочной железы являются более информативными показателями прогноза развития антрациклин-индуцированного ремоделирования сердца через 12 месяцев после завершения полихимиотерапии, чем повышение содержания провоспалительных цитокинов ФНО- α и ИЛ-1 β , а также эндотелина-1 в крови.

Методология и методы исследования

Для достижения поставленной цели проведено исследование, включающее несколько последовательных этапов. На первом этапе была изучена отечественная и зарубежная литература, посвященная данной тематике.

За время наблюдения обследовано 176 пациенток с раком молочной железы, получавших антрациклиновые антибиотики в составе схем полихимиотерапевтического лечения. Основной задачей второго этапа являлась оценка роли генов апоптоза (белок *p53* и *каспаза 8*), про- и антиоксидантных систем (глутатионпероксидаза (*GPX1*), супероксиддисмутаза (*SOD*) и *НАДФН-оксидазы*), провоспалительных цитокинов (*ИЛ-1 β* и *ФНО- α*), эндотелиальной NO-синтазы (*NOS3*) и А-рецептора эндотелина-1 (*ENDRA*), а также биохимических маркеров (цитокинов (*ИЛ-1 β* и фактора *ФНО- α*), sFas-лиганда, эндотелина-1 и NT-proBNP в развитии антрациклин-индуцированной кардиотоксичности. Исследование генетических полиморфизмов проводилось однократно. Биохимические маркеры определялись - трехкратно: до начала

полихимиотерапии, после завершения и через 12 месяцев после окончания лечения рака молочной железы с использованием антрациклинов.

На третьем этапе исследования оценивали прогностическую и диагностическую значимость изученных генетических факторов и биомаркеров в оценке риска развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности. Проводилась статистическая обработка результатов проведенного исследования.

Личный вклад автора

Личное участие автора заключалось в участии планирования исследования; изучении и анализе литературы по теме диссертации; отборе больных с раком молочной железы, получавших в составе схем полихимиотерапевтического лечения антрациклины, для включения их в исследование, проспективном наблюдении включенных в исследование больных; формировании баз данных, статистической обработке материала и его анализе; написании тезисов, научных статей, в оформлении патента Российской Федерации; выступлениях с устными и стендовыми докладами на ведущих российских конгрессах по кардиологии; во внедрении в практику результатов исследований по теме диссертационной работы.

Внедрение в практику

Научные положения и практические рекомендации, сформулированные в диссертации, внедрены в учебный процесс кафедр патологической физиологии и клинической патофизиологии, поликлинической терапии и ОВП ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России (г. Новосибирск), используются в работе клиники НИИ кардиологии Томского НИМЦ (г. Томск).

Апробация работы

Материалы диссертации доложены и обсуждены на конгрессе «Сердечная недостаточность, 2016» (Москва, 2016 г.); VIII международном конгрессе «Кардиология на перекрестке наук» (Тюмень, 2017 г.), IX международном конгрессе «Кардиология на перекрестке наук» (Тюмень, 2018 г.), конгрессе «Сердечная недостаточность, 2018» (Москва, 2018 г.), X международном конгрессе «Кардиология на перекрестке наук» (Тюмень, 2019).

Публикации

По теме опубликовано 16 научных работ, в том числе 4 статьи – в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации для публикации материалов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук. Получен 1 патент на изобретение.

Объем и структура диссертации

Текст диссертации изложен на 154 страницах, состоит из введения, обзора литературы, характеристики обследованных больных и методов исследования, результатов собственных исследований, выводов, практических рекомендаций и списка литературы из 31 отечественных и 199 зарубежных источников. Диссертация содержит 35 таблиц и 12 рисунков.

Глава 1. Обзор литературы

1.1. Эпидемиология, факторы риска и особенности клиники кардиотоксичности химиотерапевтических препаратов

Сердечно-сосудистые и онкологические заболевания являются ведущей причиной заболеваемости и смертности в промышленно развитых странах. Тем не менее, есть основания для оптимизма. Современные стратегии лечения привели к значительному улучшению прогноза у больных с данными заболеваниями. Так, 5-летняя выживаемость при раке молочной железы ранней стадии увеличилась с 79% в 1990 году до 88% в 2012 году; аналогичные показатели достигнуты и при других солидных и гематологических злокачественных опухолях, в том числе при неходжкинской лимфоме и раке яичка [71]. При долгосрочном прогнозе по выживаемости больных с онкологическими заболеваниями ожидаемое увеличение в течение 10 лет, начиная с 2012 года, составит примерно 30%, достигнув 18 миллионов к 2022 году в США [85]. Многие современные методы противоопухолевого лечения ассоциируются с различной степенью выраженности осложнениями, в том числе со стороны сердечно-сосудистой системы (кардиотоксичность, ишемия, артериальная гипертензия, аритмии). Встречаемость кардиологических осложнений варьирует в широких пределах в зависимости от используемой схемы терапии рака, продолжительности лечения, а также от основных сопутствующих заболеваний пациента [44].

В обзоре, касающегося рака молочной железы, у выживших в США женщин был отмечен высокий риск смерти от сердечно-сосудистых осложнений, вызванных ПХТ, превышающий риск смерти от самого рака молочной железы или от рецидива заболевания [183]. В исследовании, проведенном в США, показано, что 33% больных из 1,807 выживших после успешного лечения онкологического процесса в течение 7 лет умерли от болезней сердца [149].

Сердечно-сосудистые заболевания являются основной причиной смертности у больных раком молочной железы старше 50 лет и являются более

распространенным фактором, чем рак и смертность от онкологических причин среди пожилых людей, у которых был диагностирован и пролечен опухолевый процесс [159, 184]. Сердечно-сосудистые заболевания у онкологических больных не всегда вызваны токсическим действием противоопухолевой терапии, это может быть процессом, который ассоциирован с возрастом. как фактором риска сердечно-сосудистой патологии.

Влияние противоопухолевой терапии на сердечно-сосудистые заболевания взрослого населения, перенесшего рак, в значительной степени неизвестно. Мы можем получить об этом некоторое представление из исследований, проведенных в детской популяции. Childhood Cancer Survivor Study показало, что в период от 15 до 25 лет после установления диагноза рака выжившие дети имеют в 8,2 раза более высокий уровень сердечно-сосудистой смертности по сравнению с соответствующей возрастной и половой группой, в которой не было перенесенного онкологического заболевания [159, 223]. По сравнению с контрольной группой выжившие после перенесенного в детстве опухолевого заболевания имели 15-кратное увеличение риска развития застойной СН и в 10 раз более высокие показатели сердечно-сосудистых заболеваний [36]. Эти результаты указывают на серьезный прогноз для взрослого населения, так как у выживших после перенесенного опухолевого процесса, могут развиваться сердечно-сосудистые заболевания, связанные с пожилым возрастом, течение которых осложняется потенциальным вредным воздействием противоопухолевой терапии. Признание важности сохранения здоровья сердечно-сосудистой системы у больных раком имеет первостепенное значение, чтобы сохранить успехи, достигнутые в повышении выживаемости при онкологических заболеваниях на фоне современной терапии рака.

Сердечная дисфункция является одним из наиболее серьезных последствий схем химиотерапевтического лечения, включающих такие препараты как антрациклины, антиметаболиты и циклофосфамид, которые могут вызывать постоянное повреждение клеток миокарда, что приводит к острым или хроническим проявлениям кардиотоксичности. Антрациклины, обычно

используемые для лечения солидных опухолей (например, рака молочной железы, остеосаркомы, и т.д.) и гематологических злокачественных заболеваний (неходжкинской лимфомы, острого лимфобластного лейкоза, и т.д.), могут вызывать значительное повреждение ткани миокарда, что проявляется как снижением фракции выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ) так и, в конечном счете, симптоматической сердечной недостаточностью [6, 196, 222]. Механизмы антрациклин-индуцированного повреждения миокарда изучены мало и до сих пор нет ясного понимания патогенеза данного явления.

Рак молочной железы (РМЖ) является самым распространенным опухолевым заболеванием среди женщин, представляя собой актуальную проблему здравоохранения России и других экономически развитых стран мира. Данные статистики России свидетельствуют о неуклонном увеличении заболеваемости злокачественными новообразованиями с 469,2 тыс. человек в 2005 году до 617,1 тыс. человек в 2017 году [10]. Поэтому эффективное лечение злокачественных новообразований находится в числе приоритетных социально значимых проблем здравоохранения.

Противоопухолевая химиотерапия наряду с хирургической и лучевой терапией является важнейшим компонентом лечения онкологической патологии, позволяющая добиться полного излечения и значительно снизить смертность больных. Препараты антрациклинового ряда (доксорубицин, рубомицин? эпирубицины др.) являются эффективными средствами для лечения РМЖ и входят в большинство стандартных схем химиотерапевтического лечения [153]. Вместе с тем, широкое клиническое использование антрациклинов лимитируется их кумулятивным и дозозависимым кардиотоксическим действием, которое может привести как к бессимптомной систолической дисфункции левого желудочка, так и к клинически выраженной сердечной недостаточности (СН), сопровождающейся снижением качества жизни и крайне неблагоприятным прогнозом с высокой отдаленной летальностью [6, 7, 33, 57, 98, 148, 172, 226].

Кардиотоксичность химиотерапии проявляется весьма разнообразными симптомами: от относительно безопасных нарушений ритма сердца до

потенциально опасных состояний, таких как внезапная остановка сердца, фатальный и нефатальный инфаркт миокарда, кардиомиопатия, СН, резистентная к медикаментозной терапии, варьирующих в зависимости от цитостатического агента, его кумулятивной дозы, применяемого режима введения, а также возраста пациента, наличия сопутствующего метаболического синдрома и ожирения, артериальной гипертензии (АГ), ишемической болезни сердца (ИБС), СН и другой коморбидной патологии [6, 7, 23, 81, 195].

Установлено, что осложнения, вызванные кардиотоксичностью химиотерапии, негативно влияют на качество жизни и общую выживаемость пациентов, независимо от прогноза, связанного с основным заболеванием. По мнению ведущих экспертов АСС/АНА фактическая угроза преждевременной сердечно-сосудистой смертности от кардиотоксических осложнений может быть выше, по сравнению с риском смерти от опухолевого процесса [46].

Многие исследователи признают важность ранней доклинической диагностики кардиотоксичности, поскольку кардиомиопатия, вызванная приемом антрациклинов, ассоциируется с худшим прогнозом, по сравнению с кардиомиопатиями от других причин [23, 33, 51, 87, 148, 226]. При этом развивается резистентная к медикаментозной терапии левожелудочковая СН с неуклонно ухудшающимся прогнозом выживаемости [51].

Сердечная дисфункция, связанная с химиотерапией при раке молочной железы может быть острой, подострой или хронической. Острая или подострая кардиотоксичность развивается в любое время от начала химиотерапии до двух недель после завершения терапии. Её можно охарактеризовать появлением различных типов аритмий, нарушением желудочковой реполяризации и изменением интервала QT, появлением острого коронарного синдрома, реакции со стороны перикарда и изменением в работе миокарда [32, 83].

Хроническая кардиотоксичность можно классифицировать на раннюю (возникающую в течение 1 года после завершения лечения) и позднюю (возникающую более, чем через 1 год после завершения лечения). Поздняя хроническая манифестирует в виде дилатационной кардиомиопатии,

проявляющейся существенным снижением фракции выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ), другими проявлениями ремоделирования миокарда и появлением симптомов застойной СН [226].

При этом есть два типа кардиотоксичности, возникающей при лечении рака молочной железы: тип I и тип II. Тип I кардиотоксичности является фактическим повреждением миокарда и, как правило, данное повреждение необратимо. Несмотря на нанесенный ущерб миокарду, клинические проявления могут не прогрессировать. Тип II является обратимым с высокой вероятностью восстановления функции сердца в течение 2-4 месяцев. Тип I зависит от кумулятивной дозы препарата и чаще возникает при применении препаратов антрациклинового ряда, тогда как тип II не связан с дозой препарата и возникает при использовании для лечения рака молочной железы трастузумаба. Основное различие данных типов заключается в том, что при типе I происходит повреждение структуры миокарда и гибель кардиомиоцитов, в то время как при типе II возникает функциональный дефицит сердца, описанный как «оглушенный» миокард [82].

В "Меморандуме ESC по лечению онкологических заболеваний и сердечно-сосудистой токсичности, разработанном под эгидой комитета по практике ESC 2016" [226] к факторам риска развития кардиотоксичности относят факторы, ассоциированные с особенностями противоопухолевого лечения:

- тип препарата;
- доза, введенная во время каждого цикла, и кумулятивная доза;
- режим введения ;
- способ введения ;
- комбинация с другими кардиотоксичными препаратами или лучевой терапией;
- предшествующая лучевая терапия на органы средостения.

Также к факторам риска относят факторы ассоциированные с особенностями пациента:

- возраст старше 65 и младше 18 лет;

- женский пол;
- наличие сердечно-сосудистых факторов риска и/или сопутствующей сердечно-сосудистой патологии, артериальной гипертензии, гиперхолестеринемии;
- наличие сахарного диабета и/или другой сопутствующей патологии;
- наличие опухоли, близко расположенной к сердцу;
- генетические факторы.

Обращает на себя внимание, что в качестве факторов риска в данном Меморандуме указаны генетические факторы [226]. Однако, фактическая информация о конкретных полиморфизмах генов предрасположенности к развитию кардиотоксического поражения миокарда отсутствует, что требует углубленных исследований в этом направлении.

Кардиоонкология - стала новой медицинской дисциплиной по нескольким причинам. Во-первых, выжившие с опухолевыми заболеваниями имеют высокий риск сердечно-сосудистых заболеваний, так как заболевания сердечно-сосудистой системы широко распространены среди населения в целом. Во-вторых, как традиционные так и новые методы лечения рака связаны с кардиотоксичностью, проявляющейся различными осложнениями, такими как кардиомиопатия, коронарные и периферические сосудистые поражения, нарушение сердечной проводимости, тромбоз, гипертензия и нарушения метаболических процессов. Кардиотоксичность является особенно важным вопросом, учитывая большое количество женщин с раком молочной железы, получавших антрациклины при адъювантной терапии.

Традиционные методы лечения опухолевых заболеваний, такие как лучевая терапия, могут привести к повреждению со стороны сердечно-сосудистой системы вследствие прямого неселективного повреждения миокарда [101].

Появление новых классов химиотерапевтических препаратов часто не снижает, а порой даже повышает риск развития кардиотоксичности, что было проиллюстрировано на примере ингибиторов тирозинкиназы, используемых для лечения хронического миелоидного лейкоза. Иматиниб, препарат первого

поколения из класса ингибиторов тирозинкиназы, повысил эффективность лечения хронического миелолейкоза в два раза, пятилетняя выживаемость больных с данным диагнозом достигла 89% [79]. Впоследствии были разработаны ингибиторы тирозинкиназы второго поколения (нилотиниб, дазатиниб) и третьего поколения (понатиниб). Целью разработки этих препаратов являлось преодоление резистентности к иматинибу [145]. На понатиниб возлагались большие надежды, как на идеальный ингибитор тирозинкиназы для лечения хронического миелолейкоза, учитывая его высокую активность у всех пациентов, в том числе у тех, у кого сформировалась резистентность к другим ингибиторам тирозинкиназы. Однако, при последующем исследовании препарата при медиане наблюдения 28 месяцев 19% пациентов имели серьезные сердечно-сосудистые осложнения, в том числе миокардиальные (10%), цереброваскулярные (7%) и поражение периферических сосудов (7%). В то время как иматиниб имел минимальный риск сердечно-сосудистых осложнений [105].

Опыт работы с ингибиторами тирозинкиназы у больных ставит важные вопросы, которые необходимо применять ко всем новым методам лечения рака. Ожидается, что препараты новых поколений, которые демонстрируют высокую эффективность у онкологических больных, должны иметь улучшений профиль безопасности. Для достижения этой цели должен быть реализован более надежный план мониторинга сердечно-сосудистых осложнений при проведении доклинических и ранних клинических испытаний новых лекарственных средств. И что важно, понимание механизмов сердечно-сосудистой токсичности будет иметь решающее значение для разработки профилактических стратегий в ходе клинических испытаний и клинического использования.

На основании литературных данных, сердечно-сосудистые осложнения у пациентов, получающих трастузумаб, возникают в 3-7% случаях, у женщин, получавших терапии антрациклинами - в 4-36% случаях. В среднем 17% пациентов, получающих такое лечение для наиболее агрессивных форм рака молочной железы, должны прекратить лечение из-за сердечно-сосудистых осложнений. Однако кардиотоксичность обратима у многих пациентов, если

химиотерапия немедленно прекращена при появлении признаков кардиотоксичности. Пациенты, получающие кумулятивную дозу доксорубицина $\geq 500 \text{ мг/м}^2$ имеют значительно более высокий риск развития кардиотоксичности, включая кардиомиопатию и застойную сердечную недостаточность [47, 62, 180, 226].

Сердечно-сосудистые осложнения, возникающие на фоне применения антрациклинов в качестве противоопухолевых агентов, стали известны вскоре после их широкого использования в 1970-е годы.

В 1979 году Von Hoff D.D. et al. впервые определили частоту встречаемости антрациклиновой кардиотоксичности, отмечая зависимость частоты развития ХСН от кумулятивной дозы доксорубицина: ХСН регистрировалась в 3%, 7% и 18% при кумулятивной дозе доксорубицина 400, 550 и 700 мг/м^2 соответственно [213]. Swain S.M. et al. в 2003 году провели мета-анализ трех исследований при лечении рака молочной железы и рака легких, выявив более высокий риск развития ХСН после лечения антрациклинами: 4,7%, 26% и 48% при кумулятивной дозе доксорубицина 400, 550 и 700 мг/м^2 , соответственно. По результатам своей работы авторы рекомендовали относительно безопасную кумулятивную дозу доксорубицина $\leq 450 \text{ мг/м}^2$ у пациентов без предшествующей лучевой терапии [196].

Субклиническую кардиотоксичность обычно определяют по данным ЭхоКГ на основании выявления нарушения систолической функции ЛЖ: снижение ФВ ЛЖ более 10% от исходной, либо абсолютное снижение ФВ ЛЖ менее 50% [204]. При определении кардиотоксичности на основании ЭхоКГ-критериев дисфункция миокарда регистрировалась в 9%, 18%, 38% и 65% случаях при кумулятивной дозе доксорубицина 250, 350, 450 и 550 мг/м^2 , соответственно.

Smith L.A. et al. (2010) на основании мета-анализа 55 исследований сообщили о значительном увеличении отношения шансов клинически выраженного поражения сердца ($\text{OR}=5,4$ [95% $\text{CI}=2,3\text{-}12,6$]) и субклинического снижения ФВ ЛЖ ($\text{OR}=6,25$ [95% $\text{CI}=2,58\text{-}15,13$]) при кардиотоксическом действии доксорубицина [188]. Nequet O. et al. в 2004 году выявили развитие в

течение 5 лет субклинической кардиотоксичности у 39 из 141 (27%) взрослых пациентов с лимфомой (средняя доза доксорубицина - 300 мг/м^2 , средний возраст 54 года) [97]. Факторами риска развития кардиотоксичности являлись возраст, мужской пол, доза доксорубицина и лишний вес.

Помимо кардиотоксичности, проявляющейся субклиническим поражением миокарда по данным ЭхоКГ, а при прогрессировании процесса и клиническими проявлениями застойной СН, выделяют и другие проявления токсического действия химиотерапии на сердечно сосудистую систему.

Для ингибиторов протеинтирозинкиназ выявлен высокий риск развития артериальной гипертензии [37]. Повышение артериального давления на фоне применения сунитиниба и других ингибиторов протеинтирозинкиназ регистрировалось у 19-47% пациентов [86]. Механизмы гипертензии, вызванной ингибиторами протеинтирозинкиназ включают в себя: нарушение выработки оксида азота эндотелиоцитами артериол и повышение уровня эндотелина-1, что приводит к развитию дисфункции эндотелия [85, 94].

У больных со злокачественными новообразованиями отмечается состояние гиперкоагуляции, и на фоне ПХТ некоторыми препаратами может повыситься риск венозных или артериальных тромбоэмболических осложнений. Moore R.A. et al. (2011) выявили развитие венозной тромбоэмболии у 18 % пациентов на фоне применения цисплатина. Возможным механизмом развития осложнения являлось прямое токсическое действие препарата на фоне изменения соотношения свертывающей и противосвертывающей систем [142].

Среди нарушений ритма на фоне ПХТ опухолевых заболеваний является удлинение интервала QT, который может осложниться развитием полиморфной желудочковой тахикардии [189]. Риск развития нарушений ритма сердца повышается при наличии электролитных нарушений и при приеме некоторых лекарственных препаратов (антидепрессантов, противорвотных).

Таким образом, в настоящее время проводятся многочисленные исследования по раннему выявлению кардиотоксичных повреждений химиотерапией, разработки и внедрению в клиническую практику новых более

эффективных алгоритмов, программ эффективной и безопасной химиотерапии, способных защитить от возможного повреждающего действия сердце и другие внутренние органы человека. Обращают на себя внимание впечатляющие достижения в отношении онкологической диагностики, успехи, связанные с широким применением современных химиотерапевтических препаратов в онкологической практике, достижения в лечении злокачественных новообразований и неуклонно увеличивающееся число пациентов с хорошей отдаленной выживаемостью. С другой стороны, статистика возрастающей смертности от сердечно-сосудистой патологии у женщин с РМЖ, у которых в предшествующем периоде жизни не было поражения сердечно-сосудистой системы, диктует необходимость дальнейших углубленных исследований в этом направлении, обеспечение комплексного междисциплинарного подхода, направленного на оптимальную коррекцию и профилактику всех модифицируемых факторов риска. Все это делает проблему кардиотоксичности химиотерапии весьма актуальной и социально значимой.

1.2. Возможности ранней диагностики кардиотоксичности химиотерапевтических препаратов

В связи с трудностями ранней диагностики кардиотоксичности применяются и совершенствуются различные методы клинической оценки состояния сердца. На сегодняшний день диагностика кардиомиопатии, связанной с приемом противоопухолевых химиопрепаратов, традиционно основана на серийной регистрации ЭКГ и использовании двухмерной эхокардиографии (Эхо-КГ). Экспертный консенсус специалистов Американского и Европейского обществ Эхо-КГ уделил большое внимание в 2014 г. мониторингу фракции выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ) при диагностике антрациклиновой кардиотоксичности, определив критерии кардиотоксичности химиотерапии, ассоциированные с симптомами сердечной недостаточности (СН): снижения ФВ ЛЖ превышающей 10% от исходных величин до уровня менее 53% [160].

В некоторых рекомендациях использовались более строгие критерии определения кардиотоксичности: снижение ФВ ЛЖ более чем на 5%, до уровня менее 55% с клиническими проявлениями хронической сердечной недостаточности (ХСН) или бессимптомной дисфункции ЛЖ со снижением ФВ ЛЖ более 10% до уровня менее 50% [201].

Однако, в силу особенностей патофизиологических механизмов развития кардиотоксичности химиотерапии мониторинг ФВ ЛЖ по данным двухмерной Эхо-КГ (2Д-Эхо-КГ) обладает сравнительно низкой чувствительностью для ранней диагностики повреждения миокарда; снижение ФВ ЛЖ идентифицируется только при большом объеме повреждения миокардиоцитов [6, 7, 27, 34]. В связи с этим в настоящее время уделяется особое внимание разработке инновационных технологий ультразвуковой регистрации пиковой продольной, радиальной и круговой деформации миокарда по трехмерному изображению (3Д-Эхо-КГ) как альтернативы скринингу ФВ ЛЖ по 2Д-Эхо-КГ, позволяющей диагностировать нарушения сократимости миокарда на самых ранних субклинических стадиях развития кардиотоксичности [6, 46, 78, 214].

Следует отметить, что 98% случаев бессимптомного снижения ФВ были обнаружены проспективно в течение первых 12 месяцев наблюдения после химиотерапии, приводя к развитию ранней кардиотоксичности антрациклинов [51].

Проблемы, связанные с использованием вышеупомянутого подхода, включают высокие затраты, так как не каждый пациент требует частых повторных Эхо-КГ-исследований [170]. Кроме того, эхокардиография не является чувствительной и специфичной для прогнозирования раннего развития сердечной дисфункции. Другими словами, она позволяет только идентифицировать повреждение сердца после того, как уже возникла дисфункция, что не является идеальным скрининговым инструментом для предотвращения развития кардиотоксичности, так как не позволяет осуществить раннее профилактическое вмешательство [76].

Альтернативным подходом к ранней диагностике кардиотоксичности является использование сывороточных биомаркеров, которые могут обнаружить повреждение миокарда, прежде чем дисфункция миокарда проявится эхокардиографически и до того, как появятся клинические симптомы сердечной недостаточности. Эта диагностическая модель может быть предпочтительнее из-за простоты проведения (взятие крови), снижения затрат, а самое главное, более ранних сроков выявления дисфункции миокарда. Тенденция к малоинвазивной медицине ведет к исследованию роли биомаркеров для раннего прогнозирования развития кардиотоксичности. Существует необходимость в создании панели биомаркеров для разработки инновационного способа обнаружения сердечно-сосудистых осложнений у больных раком молочной железы, получающих химиотерапию. В качестве возможных биомаркеров возможно определение следующих молекул в плазме крови.

Топоизомеразы 2

Существуют два изофермента топоизомеразы 2 (ТИ2) в клетках млекопитающих - ТИ2А и ТИ2В. ТИ2А экспрессируется только в пролиферирующих и опухолевых клетках и играет важную роль в процессе клеточного цикла, таких как репликация ДНК, конденсация/деконденсация хромосом и сегрегация сестринских хроматид. ТИ2В присутствует во всех клетках, но необходимо отметить, что это единственная ТИ2, которая присутствует в кардиомиоцитах взрослых. Доксорубицин, а также другие действующие на ТИ2 противоопухолевые препараты, такие как этопозид и митоксантрон, действуют на оба изофермента [130].

ТИ2В является мишенью для действия антрациклиновых соединений в ткани сердца. Удаление ТИ2В защищает кардиомиоцит от доксорубицин-индуцированного повреждения ДНК и изменения транскрипции. Lyu Y.L. et al. (2007) продемонстрировали, что антрациклин-индуцированные разрывы ДНК и гибель кардиомиоцитов клеточной линии зависит от присутствия в них ТИ2В [130]. Основываясь на этом, Zhang S. et al. (2012) получили методом генной инженерии мышей, у которых отсутствует ТИ2В в кардиомиоцитах, и в данной

группе, в отличие от контрольных мышей, не выявлено развитие острой или хронической кардиотоксичности после воздействия доксорубина [227].

Интересно, что активность ТИ2В значительно коррелирует с апоптотической реакцией в лейкоцитах при воздействии доксорубина. Соответственно, можно предположить, что более высокая активность ТИ2В, скорее всего, приведет к увеличению разрывов двухцепочной ДНК, таким образом, увеличивая вероятность р53-опосредованного апоптоза [106]. Обнаружено, что при назначении препарата дексазоксан происходит уменьшение экспрессии ТИ2В в кардиомиоцитах и, соответственно, уменьшение риска развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности [197]. Kersting G. et al. (2006) предположили, что изменчивость в экспрессии ТИ2В в нормальных тканях может повлиять на тяжесть побочных эффектов при терапии антрациклинами [106].

Таким образом, оценка уровня экспрессии ТИ2В может быть использована для прогнозирования риска развития кардиотоксичности при проведении полихимиотерапии опухолевых заболеваний. К сожалению, в настоящее время, нет опубликованных клинических исследований, доказавших возможность использования биомаркера ТИ2В для прогнозирования и диагностики сердечно-сосудистых осложнений у больных, получавших полихимиотерапию.

Тропонин Т и тропонин I

Тропонин Т (ТnТ) и тропонин I (ТnI) являются компонентами сократительных белков, присутствующих в высоких концентрациях в миокарде. Концентрация в сыворотке этих белков увеличивается в течение 3-6 ч после повреждения миокарда и остается повышенной в течение 7-10 дней задолго до того, как обнаруживаются какие-либо функциональные нарушения. ТnТ быстро высвобождается после повреждения миокарда в прямой зависимости от степени повреждения и сохраняется в сыворотке крови в течение нескольких дней, вероятно, в результате продолжающегося высвобождения из кардиомиоцитов [76].

При исследовании пациентов с онкогематологическими заболеваниями, получавших терапию антрациклинами, в 34,1% случаев уровень TnT оказался значительно повышенным после завершения терапии по сравнению с исходным уровнем, также по сравнению со значениями после первого курса терапии. После завершения курсов химиотерапии при Эхо-КГ-исследовании наблюдалось снижение Е/А и увеличение изоволюмического времени расслабления (критерии, являющиеся возможными показателями развития диастолической дисфункции) у пациентов, у которых TnT увеличился во время проведения химиотерапии [107].

Auner H.W. et al. (2003) в популяции пациентов с гематологическими злокачественными заболеваниями, принимающими антрациклины показали, что TnT был положительным у 15% пациентов. В дальнейшем у TnT-положительных пациентов ФВ оказалась значимо снижена по сравнению с TnT-отрицательными пациентами (10% против 2% соответственно) [39].

Lipshultz S.E. et al. (2004) при обследовании детей с острым лимфобластным лейкозом, принимавших доксорубицин, выявили, что в 46% случаев TnT тест был положительным в течение проводимого лечения и 38% пациентов имели положительный TnT-тест после завершения химиотерапии [123]. Эта же группа исследователей продемонстрировала, что повышение уровня сердечного тропонина Т, индуцированное доксорубицином, связано с гистологическими признаками повреждения миокарда и клинически значимо у гипертензивных крыс [127].

Сроки взятия сыворотки крови для определения уровня TnT являются особенно важными и требуют дальнейших исследований, чтобы определить оптимальное время. Kremer L.C. et al. (2002) продемонстрировали, что измерение TnT в течение первых 24 часов после проведения химиотерапии не обладает высокой чувствительностью для идентификации пациентов с последующим развитием субклинической кардиотоксичности, так как только у 1 пациента из 7 с обнаруживаемой в дальнейшем сердечной дисфункцией по данным эхокардиографии был положительный TnT [111]. Кроме того, однократное

определение TnT может оказаться недостаточным. Важным моментом является возможное повышение TnT в результате травмы скелетных мышц.

Поэтому было проведено несколько исследований, показавших диагностическую значимость TnI. У пациентов, получавших высокодозную химиотерапию для лечения различных злокачественных опухолей, был определен уровень TnI перед, сразу после и через несколько часов после введения препаратов при каждом курсе лечения. Увеличение TnI было обнаружено у 32% пациентов [56]. Последующие работы Cardinale D. et al. (2002), включавшие больных с различными злокачественными опухолями, и получавших высокие дозы антрациклинов, выявили TnI+ у 33% больных при проведении первого курса ПХТ. В группе TnI+ наблюдалось значительное снижение ФВ в течение первого месяца наблюдения, часто сохранявшееся и в дальнейшем. Выявлена сильная корреляционная зависимость между максимальным значением TnI, обнаруженного после ПХТ, и максимальным снижением ФВ [55]. Sandri M.T. et al. (2003) позже подтвердили, что после лечения с применением антрациклинов наблюдалось значительное снижение ФВ у TnI-положительных пациентов после первого месяца лечения, а затем все более и более выраженное в течение следующих месяцев (от снижения ФВ на 6,8% через 1 месяц, до -18,2% через 12 месяцев) [174]. Эти результаты находятся в соответствии с данными Missov E. et al. (1997), которые зафиксировали увеличение TnI в процессе лечения антрациклинами у больных с гемобластомами [139]. В исследовании показана корреляция между увеличением TnI и долгосрочным развитием манифестной сердечной дисфункции, а также с бессимптомной дисфункцией. Ку В. et al. (2014) оценивали уровни TnI+ и последующим развитием кардиотоксичности (на основе эхокардиографии) и показали, что при каждом увеличении в стандартном отклонении уровня TnI отмечался почти 40% повышенный риск последующей кардиотоксичности [112].

В заключении по исследованиям о роли тропонинов для диагностики кардиотоксичности можно суммировать данные следующим образом: повышение тропонинов в состоянии предсказать развитие кардиомиопатии, по крайней мере,

за 3 месяца до развития клинически значимого дисфункции левого желудочка [55, 107]; раннее увеличение тропонина может быть предиктором степени и тяжести будущей дисфункции левого желудочка [54, 55]. Положительный тест на тропонины в течение одного месяца после завершения химиотерапии с 85% вероятностью является предиктором основных сердечно-сосудистых осложнений в течение первого года наблюдения [53, 54]; постоянно отрицательные тропонины прогнозируют у 99% пациентов низкий риск развития кардиотоксичности (по крайней мере, в течение первого года после завершения химиотерапии).

Однако использование тропонинов для прогнозирования риска развития кардиотоксичности имеет несколько ограничений. Так, пиковые значения могут определяться в различные периоды после завершения ПХТ, поэтому необходимо проведение нескольких тестов в динамике.

Миелопероксидаза

Миелопероксидаза (МП) представляет собой фермент, секретируемый полиморфноядерными лейкоцитами, который идентифицирует проатерогенное и прооксидантное воздействие на сердечную ткань, стенки кровеносных сосудов, активируя перекисное окисление липидов (маркер окислительного стресса) и ингибируя синтазы оксида азота [112]. У пациентов с острым коронарным синдромом повышенные уровни МП является прогностическим фактором неблагоприятных исходов. Кроме того исследования при сердечной недостаточности также свидетельствуют о том, что МП связана с повышенным риском развития патологии и более тяжелым течением заболевания [41]. Поскольку окислительный стресс, как предполагают исследователи, играет центральную роль в механизме кардиотоксичности антрациклинов [202], то можно предположить, что повышенный уровень МП в динамике терапии антрациклинами может коррелировать с последующим развитием сердечной дисфункции [124]; и недавние исследования подтвердили данное предположение.

Ky B. et al. (2014) показали, что МП может быть использована в комбинации с TnI для идентификации пациентов, у которых существует повышенный риск развития антрациклиновой кардиотоксичности [112]. Они определили связь

между увеличением МП в первые 3 месяца лечения антрациклинами с появлением первых признаков кардиотоксичности. Для однозначного вывода о возможности использования МП в качестве маркера для прогнозирования риска развития кардиотоксичности необходимо проведение дальнейших исследований. Тем не менее, результаты представленных работ достаточно убедительны, чтобы предположить, что МП возможно использовать для прогнозирования развития АКМП.

NT-proBNP

Натрийуретический пептид В-типа синтезируется в кардиомиоцитах как прогормон, состоящий из 134 аминокислот, который затем расщепляется с образованием пропептида, включающего 108 аминокислот, который хранится в секреторных гранулах кардиомиоцитов. В ответ на соответствующий стимул, про-BNP протеолитически расщепляется до биологически активного BNP и неактивного N-концевого (NT)-proBNP, который высвобождается в кровоток. Хотя BNP вырабатывается в ткани предсердий и желудочков миокарда, наиболее высокие концентрации BNP были найдены в миокарде левого желудочка. BNP и NT-proBNP секретируются на увеличение нагрузки на стенки желудочков и, следовательно, используются в качестве маркеров дисфункции сердца [42]. NT-proBNP повышается как у бессимптомных пациентов, так и у больных с клинически выраженной дисфункцией левого желудочка, и увеличение концентрации в крови связано с патофизиологической моделью перегрузки миокарда [42, 191].

По данным Lipshultz S.E. et al (2012) увеличение концентрации NT-proBNP в плазме крови, выявленные в течение первых 90 дней после начала лечения антрациклином (доксорубицин) ассоциировалось со структурно-функциональными изменениями миокарда через 4 года после окончания ПХТ, в то время как повышенные уровни маркера, обнаруженные во время последующих 90 дней лечения доксорубицином не были значимо взаимосвязаны с какими-либо эхокардиографическими изменениями через 4 года [125]. Gimeno E et al. (2011) показали, что уровень NT-proBNP выше 900 пг/мл является предиктором

высокого риска смерти от любых причин у пациентов, получавших терапию по поводу неходжкинской лимфомы, и предположили, что измерение уровней NT-proBNP следует учитывать при проведении оценки риска у пациентов с неходжкинской лимфомой до начала химиотерапии [91]. De Iuliis F. et al. (2016) показали, что у пациентов, получавших антрациклины (с трастузумабом или без него), у которых уровень NT-proBNP был значительно повышен через 3 месяца, 6 месяцев и 1 год после проведения ПХТ, имели высокий риск развития сердечной патологии в течение 12 месяцев наблюдения после введения антрациклинов. Они пришли к выводу, что обнаружение высокой концентрации NT-proBNP является диагностическим предиктором сердечно-сосудистых осложнений при отсутствии снижения ФВ, и данный метод диагностики является более чувствительным, чем эхокардиография для выявления ранних изменений со стороны сердца [67]. Соответственно, NT-proBNP может являться важным биомаркером развития АКМП до появления эхокардиографических или клинических признаков патологии.

МикроРНК

МикроРНК представляют собой класс эндогенных РНК, которые имеют длину около 22 нуклеотидов. Они являются частично комплементарными одной или нескольким молекулам матричной РНК и их основной функцией является понижение экспрессии генов на посттранскрипционном уровне как при физиологических, так при и патологических состояний [187]. Циркулирующие микроРНК были обнаружены в цельной крови, мононуклеарных клетках периферической крови, тромбоцитах, сыворотке и других жидкостях организма (слюна, моча, слезная жидкость, грудное молоко) [48]. Циркулирующие микроРНК показали хорошую стабильность в различных условиях, в том числе при эндогенной активности РНКазы, многократных циклах замораживания-размораживания, кипении, экстремальных уровнях pH и длительном хранении при комнатной температуре, что делает их чрезвычайно удобным и предпочтительным для использования в качестве биомаркеров крови [218]. Более 200 микроРНК были обнаружены в сердце.

МикроРНК-208

Семейство микроРНК-208 представлено двумя вариантами - микроРНК-208а и микроРНК-208b. Данные микроРНК являются миокардспецифичными, они регулируют экспрессию генов миозина. МикроРНК-208а регулирует продукцию тяжелой цепи миозина, участвует в развитии гипертрофии сердца и миокардиального фиброза [209].

МикроРНК-208b участвует в развитии таких патологических процессов, как острый коронарный синдром и инфаркт миокарда [178]. Vacchi-Suzzi C et al. (2012) исследовали крыс, которым вводили доксорубицин в течение 6 недель. МикроРНК-208b была обнаружена в миокарде крыс, начиная с 2-х недель лечения и значительно увеличилась через 6 недель лечения. Была выявлена также зависимость между кумулятивной дозой доксорубицина и экспрессией микроРНК-208b [208]. Desai V.G. et al. (2013) показали 2,3-кратное увеличение микроРНК-208b в сердце мышей при введении кумулятивной дозы 18 мг/кг доксорубицина и 8,2-кратное увеличение после введении кумулятивной дозы доксорубицина до 24 мг/кг суммарной дозы [70]. Таким образом, микроРНК-208b была увеличена до появления морфологических признаков кардиотоксичности и значительно возрастала по мере прогрессирования поражения миокарда. Следует отметить, что микроРНК-208а не имеют доказанной ассоциации с развитием кардиотоксичности ПХТ [156].

МикроРНК-34а

МикроРНК-34а является одним из трех представителей семейства микроРНК-34, которая кодируется своим собственным транскриптом, тогда как микроРНК-34b и микроРНК-34с имеют общий первичный транскрипт. МикроРНК-34а является прямой транскрипционной мишенью p53, так как область промотора из микроРНК-34а содержит сайт связывания с p53. Отмечено влияние микроРНК-34а на апоптоз, ингибирование пролиферации и дифференцировки, на клеточный цикл [138]. Повышенный уровень в плазме

крови микроРНК-34а у больных, перенесших острый инфаркт миокарда, были предложены в качестве прогностического маркера развития сердечной недостаточности. [133]. Desai V.G. et al. (2014) обнаружили повышенный уровень микроРНК-34а при доксорубин-индуцированном повреждении миокарда [69]. При этом микроРНК-34а был единственным микроРНК в данном исследовании, который значительно повышался в сердце мышей при любых суммарных дозах доксорубина. Тем не менее, гистологически визуализируемые поражения сердца были отмечены только при кумулятивной дозе 24 мг/кг.

МикроРНК-150

Функция микроРНК-150 в сердце до сих пор плохо изучена. Как полагают, микроРНК-150 защищает сердце от оксидативного стресса путем уменьшения гибели клеток в ответ на повреждение, в частности, через подавление апоптотических генов [203]. Исследование, проведенное на мышинной модели инфаркта миокарда показало, что избыточная экспрессия микроРНК-150 защищает сердце от ишемического повреждения путем ингибирования воспалительной миграции моноцитов [128]. Предполагают, что микроРНК-150 регулируют экспрессию 3 генов, ассоциированных с ремоделированием левого желудочка: β_1 -адренорецепторы, С-реактивный белок и рецептор фактора некроза опухоли- α [203]. Ранее было показано, что микроРНК-150 снижается у пациентов с острым инфарктом миокарда, фибрилляцией предсердий, дилатационной и ишемической кардиомиопатией [72], а также при сердечной недостаточности [75].

Учитывая, что воспаление является важным компонентом развития ремоделирования левого желудочка после инфаркта миокарда и микроРНК-150 подавляет воспалительную миграцию моноцитов, данный фактор может ингибировать структурное и функциональное ремоделирование миокарда во время и после ишемического повреждения [72].

Введение доксорубина мышам показало сопоставимые закономерности изменения экспрессии микроРНК-150. Desai V.G. et al. (2014) показали снижение количества микроРНК-150 еще до возникновения доксорубин-индуцированного поражения сердечной ткани. При кумулятивной дозе

доксорубина 12 мг/кг микроРНК-150 был значительно снижен с продолжающимся подавлением экспрессии при более высоких суммарных дозах [69]. Соответственно, микроРНК-150 является еще одним перспективным маркером, который продемонстрировал изменения в экспрессии до развития клинически выраженной кардиотоксичности, и который может помочь в ранней диагностике доксорубин-индуцированного поражения сердца.

МикроРНК имеют преимущество по сравнению с традиционными биомаркерами по нескольким причинам - они высвобождаются в ранние сроки после повреждения, стабильны при хранении, обнаруживаются с высокой специфичностью и чувствительностью и являются малоинвазивной альтернативой для выполнения общепопуляционного скрининга. Однако основным недостатком использования микроРНК в качестве биомаркеров является трудность процедур их выделения и обнаружения. По сравнению с иммуноферментным анализом, используемым для обнаружения других маркеров, таких как тропонины, натрийуретические пептиды и т.д., методы обнаружения циркулирующих микроРНК требуют очень много времени и финансовых затрат. Кроме того, в настоящее время технологии, использующиеся для количественного определения микроРНК, требуют оптимизации и должны быть стандартизованы для разных лабораторий [176]. Хотя микроРНК не являются оптимальными биомаркерами с точки зрения логистики и затрат в настоящее время, их использование будет только увеличиваться, так как научные знания о их роли при развитии патологических процессов расширяются.

Таким образом, в настоящее время обнаружение кардиотоксичности при полихимиотерапии, как правило происходит только на основании проведения периодической эхокардиографии, т.е. в тот момент, когда уже имеется функциональный дефицит, независимо от того, является ли он клинически значимым. При этом существуют некоторые биомаркеры, которые, как было показано, являются диагностически значимыми до того, как начинают проявляться функциональные и/или клинические нарушения сердечной функции. К ним относятся топоизомераза 2В, миелопероксидаза, тропонины Т и I и NT-

proBNP. Эти маркеры сыворотки, исследованные в отдельности не могут быть достаточно чувствительными для прогнозирования сердечно-сосудистых осложнений при проведении ПХТ. Однако, определение их одновременно, возможно, будет высоко чувствительным и специфичным для определения риска развития кардиотоксичности. Они могут быть предпочтительными, учитывая, что требуют малоинвазивного вмешательства, и более эффективными по сравнению с серийной эхокардиографией. Кроме того, многие из этих биомаркеров демонстрируют дозозависимый риск развития кардиотоксичности.

Панель биомаркеров может быть предпочтительнее, чем последовательная эхокардиография, поскольку информация, полученная на данной панели позволит своевременно корректировать химиотерапевтические режимы и определит возможность ранней профилактики развития сердечной недостаточности еще до начала ее клинической манифестации.

Другими словами, соответствующее вмешательство может быть осуществлено до того как произошло серьезное повреждение миокарда. В целом, эффективная панель биомаркеров необходима для снижения заболеваемости и смертности в результате сердечно-сосудистых осложнений при проведении химиотерапии.

1.3. Механизмы развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности

В основе повреждающего действия антрациклинов на сердце может лежать прямое повреждающее действие препарата на кардиомиоциты [28]. Антрациклины могут взаимодействовать с сократительными белками, индуцируя разрушение миофибрилл [66]. Метаболиты антрациклинов способны связываться с кардиолипином, который является важным компонентом внутренней мембраны митохондрий и необходим для функционирования многочисленных ферментов, участвующих в энергетическом обмене [28]. Данный процесс приводит к повреждению клеточных мембран, что вызывает повреждение митохондрий и соответственно, нарушение энергетического обмена в кардиомиоците, нарушение транспорта ионов и увеличение внутриклеточной концентрации ионов кальция

[32, 66]. Антрациклиновые антибиотики также вызывают супрессию экспрессии некоторых генов в кардиомиоцитах, в результате чего нарушается синтез внутриклеточных протеинов. Таким образом, указанные процессы приводят к прямому токсическому действию антрациклинов – к гибели эндотелиальных клеток и кардиомиоцитов в результате активации процесса апоптоза [32, 66].

Патогенез антрациклиновой кардиотоксичности состоит не только из прямого, но и из непрямого повреждающего действия, обусловленного образованием активных форм кислорода, вызывающих окислительный стресс и инициирующих перекисное окисление липидов мембран кардиомиоцитов. При этом количество генерируемых активных форм кислорода превышает возможности антиоксидантной защиты кардиомиоцитов [49].

Также известно, что вследствие высокого сродства доксорубицина к железу происходит образование комплекса доксорубицин–железо, который связывается с ДНК клеток и вызывает ее повреждение. Комплекс доксорубицин-железо также способствует повышению проницаемости мембраны митохондрий кардиомиоцитов для ионов кальция, что приводит к нарушению обмена незаменимых жирных кислот и развитию дисфункции миокарда [163].

В результате действия указанных механизмов происходят структурные и функциональные нарушения эндотелиальных клеток и кардиомиоцитов, что приводит к снижению сократимости и растяжимости миокарда, а также к развитию эндотелиальной дисфункции.

Предполагается, что наиболее значимое повреждающее действие на сердце оказывают не сами антрациклиновые антибиотики, а их вторичные метаболиты (например, доксорубицинол и даунорубицинол), образующиеся вследствие редукции карбонильных групп в боковой цепи антрациклина под воздействием различных редуктаз [143, 171]. Кроме того, через ферментативную реакцию дегликозилирования образуются и другие метаболиты доксорубицина – деоксиагликон и доксорубицинол [121].

Гистологически механизмы антрациклин-индуцированной кардиотоксичности характеризуются поражением миокарда в результате протеолиза, некроза, апоптоза и фиброза.

Протеолиз - относительно острый ответ на лечение антрациклинами. Введение доксорубина в культивированные кардиомиоциты взрослых крыс в течение 24 часов приводило к деградации титина, самого крупного миофиламентного белка. Соответственно, острая кардиотоксичность доксорубина обусловлена протеолизом титина, что может предрасполагать к развитию нестабильности миофиламентов кардиомиоцитов и развитию диастолической дисфункции [122].

Электронно-микроскопическое исследование модели культивированных кардиомиоцитов взрослых крыс, в которые добавили доксорубин, продемонстрировало разрушение микроструктур миокардиальных клеток, включая миофиламенты, и вакуолизацию митохондрий. Эти изменения приводят к дисфункции клеток миокарда, а также к клеточной смерти посредством некроза [60].

Апоптоз - еще один важный механизм при повреждении миокарда. После внутрибрюшинной инъекции доксорубина в течение двух недель, световое микроскопическое исследование миокарда крысы обнаружило ядерную фрагментацию и конденсацию хроматина, а также положительные апоптотические клетки. При этом регистрировался фиброз интерстициального пространства миокарда. Такая же картина изменений наблюдалась и в периваскулярной области [61]. Ранняя клеточная смерть и постепенное развитие фиброза миокарда являются основными гистологическими изменениями, которые в конечном итоге приводят к систолической и диастолической сердечной дисфункции.

Так же были изучены некоторые молекулярные механизмы кардиотоксичности. Наиболее доказанным механизмом антрациклин-индуцированной кардиотоксичности является повышенная продукция активных форм кислорода (АФК), которые ассоциированы с развитием окислительного

стресса [168]. Во время метаболизма антрациклинов неспаренные электроны могут переноситься на молекулы кислорода, приводя к накоплению АФК [173]. Генерация супероксидных анионов при метаболизме антрациклинов может приводить к последующим клеточным повреждениям вследствие деградации саркомера, митохондриальной дисфункции и повреждения ДНК [113, 136].

Накопление токсичных метаболитов ингибирует кальциевые и натриевые насосы в митохондриальной мембране, индуцируя нарушение образования энергии в кардиомиоцитах и, в конечном итоге, развитие систолической дисфункции [154].

Антрациклины могут также изменять гомеостаз железа через создание комплексов железо-антрациклины, которые дополнительно стимулируют образование АФК [137].

Антрациклины могут способствовать высвобождению провоспалительных цитокинов путем стимуляции макрофагов, которые играют определенную роль в развитии кардиотоксичности [177]. Эти цитокины в основном модулируют апоптоз через рецепторы ФНО, на функцию которых влияет доксорубицин [59].

Показано, что доксорубицин индуцирует экспрессию p53 в кардиомиоцитах, что может стимулировать активацию каспаз-независимого пути апоптоза [225]. Установлено, что химическое ингибирование p53 предупреждает индуцированную доксорубицином гибель клеток и потерю митохондриального мембранного потенциала [113, 230].

Топоизомераза-2 β , недавно предложенная в качестве первичного медиатора развития кардиотоксичности, индуцированной антрациклином, способствует активации p53 в ответ на антрациклин-индуцированное повреждение ДНК в кардиомиоцитах [227]. Также TI2В уменьшает транскрипцию генов антиоксидантных ферментов и индуцирует продукцию АФК [227]. Удаление гена TI2В защищает миокард от антрациклин-индуцированной кардиотоксичности, что было продемонстрировано на моделях мышей [210].

Повреждение внутриклеточных молекул активными формами кислорода, токсические метаболиты антрациклинов, модуляция провоспалительных

цитокинов и взаимодействие антрациклинов с внутриклеточными белками, такими как TI2В могут привести к смерти кардиомиоцитов [118].

Необходимо отметить, что гипотеза окислительного стресса, как основного механизма повреждения миокарда при терапии антрациклинами, была подвергнута сомнению исследованиями, в которых лечение антиоксидантами не предотвращало кардиотоксичность, индуцированную доксорубицином [102, 161].

На сегодняшний день механизмы, с помощью которых антрациклины вызывают кардиотоксичность остаются во многом неизвестным, и до сих пор не существует надежных методов прогнозирования риска развития антрациклиновой кардиомиопатии.

ГЛАВА 2. ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Клиническая характеристика обследованных больных

Обследовано 176 женщин с раком молочной железы в возрасте от 35 до 55 лет, получавших антрациклиновые антибиотики в составе схем полихимиотерапевтического лечения. В исследование вошли пациенты с установленным диагнозом раком молочной железы II-III стадии. Для лечения РМЖ применялись схемы АС и ТАС (комбинация доксорубицина, циклофосфида и паклитаксела) и АС (комбинация доксорубицина и циклофосфида). Кумулятивная доза доксорубицина составляла 300-360 мг/м². Также до начала курса ПХТ всем больным проводилась лучевая терапия.

Пациентки, участвующие в данном исследовании, не имели доказанной патологии со стороны сердечно-сосудистой системы, выраженной сопутствующей патологии, сахарного диабета до начала противоопухолевого лечения. Отсутствие кардиологической патологии было подтверждено данными анамнеза, ЭКГ, ЭхоКГ. В исследование не включались женщины с прогрессированием основного заболевания на фоне проводимого противоопухолевого лечения.

Наличие любого из ниже перечисленных заболеваний являлось критерием исключения из исследования: ишемическая болезнь сердца, артериальная гипертензия, кардиомиопатии любой этиологии и пороки сердца, предшествующие онкологическому заболеванию.

Исключались из группы наблюдаемых больные при наличии: 1) поражений клапанного аппарата сердца; 2) кардиомиопатий (гипертрофической, дилатационной, рестриктивной); 3) ишемической болезни сердца; 4) артериальной гипертензии; 5) сахарного диабета 1-го и 2-го типа; 6) заболеваний щитовидной железы; 7) тяжелой печеночной и почечной недостаточности; 8) клинически

выраженных нарушений функции внешнего дыхания; 9) хронического алкоголизма, психических расстройств.

Все исследования были выполнены с информированного согласия больных и соответствовали этическим нормам Хельсинской декларации (2000 г.). Исследование одобрено Этическим комитетом по биомедицинской этике НИИ кардиологии Томского НИМЦ РАН (протокол № 143 от 16.03.2016 г.). Выполнено открытое клинически контролируемое 12-месячное проспективное исследование по изучению патогенетической роли и прогностической значимости биомаркеров цитокиновой и эндотелиновой систем, системы натрийуретических пептидов, маркеров апоптоза, а также генетических детерминант, определяющих инициацию и прогрессирование поражения миокарда при терапии РМЖ антрациклинами.

Наблюдение пациенток проводилось в четыре этапа: до начала лечения антрациклиновыми антибиотиками, после проведения первого курса полихимиотерапии, по окончании лечения и через 12 месяцев после завершения лечения основного заболевания. Общий период наблюдения составил 18-20 месяцев. При ухудшении самочувствия пациентов в периоды между установленными сроками наблюдения, проводились дополнительные обследования. После первого курса полихимиотерапии (ПХТ) регистрировались клинические признаки развития острой кардиотоксичности (развитие транзиторной дисфункции ЛЖ, нарушений ритма сердца, неспецифических изменений на ЭКГ, симптомов СН).

Всем пациенткам в динамике (до начала курса ПХТ, после завершения ПХТ и через 12 месяцев после завершения ПХТ) проводили общеклиническое обследование с оценкой жалоб и клинического статуса, толерантности к физической нагрузке, качества жизни; лабораторное обследование с проведением общего анализа мочи, общего и биохимического анализов крови, и инструментальные обследования (электрокардиографию (ЭКГ), эхокардиографию (Эхо-КГ), Р-графию органов грудной клетки). Дополнительно однократно проводилось генетическое исследование (типировали аллели генов белков

апоптоза (белок *p53* и *каспаза 8*), про- и антиоксидантных ферментов (глутатионпероксидаза (*GPX1*), супероксиддисмутаза (*SOD*), и *NADPH-оксидаза*), провоспалительных цитокинов (*ИЛ-1 β* и *ФНО- α*), эндотелиальной NO-синтазы (*NOS3*) и А-рецептора эндотелина-1 (*ENDRA*).

Помимо этого у пациенток с раком молочной железы проводили специальное биохимическое исследование крови для определения уровня цитокинов (*ИЛ-1 β* и *ФНО- α*), sFas-лиганда, эндотелина-1 и NT-proBNP до начала курса ПХТ, после завершения ПХТ и через 12 месяцев после завершения ПХТ. До начала курса ПХТ и через 12 месяцев после завершения ПХТ оценивали функцию эндотелия.

2.2. Функциональные и лабораторные методы исследования

Разделение пациентов на функциональные классы ХСН осуществляли согласно классификации Нью-Йоркской ассоциации кардиологов (NYHA) (1964 г.), используя тест с 6-минутной ходьбой. Пациентов, прошедших за 6 минут расстояние от 426 до 550 м, относили к I ФК ХСН (по NYHA), от 301 до 425 м – ко II ФК ХСН, от 151 до 300 м – к III ФК ХСН и менее 150 м – к IV ФК ХСН.

Индекс массы тела (ИМТ) рассчитывали по формуле Кетле: $\text{ИМТ} = \frac{\text{масса тела(кг)}}{\text{рост(м)}^2}$.

Качество жизни (КЖ) пациентов оценивали по Шкале оценки клинического состояния при ХСН (ШОКС) (Мареев В.Ю., 2000).

Биохимические методы исследования. Липидный спектр крови выполняли на биохимическом анализаторе «A25» фирмы «BioSystems» (Испания). Анализировали следующие показатели: общий холестерин сыворотки крови (ОХС), триглицериды, холестерин липопротеидов низкой плотности (ХС ЛПНП), холестерин липопротеидов высокой плотности (ХС ЛПВП).

Электрокардиографическое исследование проводили по общепринятой методике на компьютерном 12-канальном кардиографе ДК-01 "СЭМ" (Россия).

Эхокардиографическое исследование проводилось на ультразвуковом аппарате "Mindray DC-70". Структуры сердца визуализировали при В- и М-сканировании по общепринятой методике. Объемы ЛЖ в систолу и диастолу определялись из верхушечного доступа в плоскости четырехкамерного сечения сердца на уровне створок митрального клапана с визуализацией выносящего тракта левого желудочка. Для вычисления объемов ЛЖ применялась формула «площадь-длина». ФВ ЛЖ определялась по методу Симпсона. Выполнялись измерения конечно-диастолического (КДР) и конечно-систолического размеров (КСР) левого желудочка. Кардиальная дисфункция, возникшая вследствие лечения рака, определялась как снижение ФВ ЛЖ более 10% от исходных значений или до значений ниже минимальной границы нормы.

Функцию эндотелия оценивали по методике Celermajer S. (1992) на ультразвуковом аппарате линейным датчиком 7 Мг. Плечевую артерию визуализировали в продольном сечении на 2-3 см дистальнее локтевого сгиба, диаметр артерии определяли в диастолу после 10-15 мин отдыха. Стимулом, инициирующим зависимую от эндотелия дилатацию периферических артерий, была реактивная гиперемия, создаваемая манжетой, наложенной проксимальнее места измерения. На 3 мин в манжету нагнеталось давление, которое на 40-50 мм рт. ст. было выше систолического АД. Сразу после выпуска воздуха из манжеты в течение 15 сек. (фаза реактивной гиперемии) регистрировали скорость и диаметр кровотока в артерии. Через 15 мин. отдыха после восстановления исходного диаметра плечевой (ПА) артерии проводилась проба с экзогенным донатором азота – сублингвальным нитроглицерином в дозе 0,5 мг. Измерение повторяли через 2 мин. Реакцию на усиление кровотока рассчитывали как разницу диаметров ПА на фоне реактивной гиперемии и исходного, реакцию на нитроглицерин – как разницу диаметра артерии на 2-й минуте после сублингвального приема нитроглицерина и исходного.

Таким образом, в ходе исследования регистрировали следующие параметры: 1) исходный диаметр ПА; 2) прирост диаметра ПА после сжатия манжетой – проба с реактивной гиперемией, характеризующая

эндотелийзависимую дисфункцию (ЭЗД); 3) прирост диаметра плечевой артерии после сублингвального приема нитроглицерина, характеризующий эндотелий независимую дисфункцию (ЭНЗД).

Нормальной реакцией плечевой артерии условно принято считать увеличение ее диаметра на фоне реактивной гиперемии на 10 % и более от исходного размера. Меньшая степень вазоконстрикции или вазодилатации считается патологической реакцией. Под дисфункцией эндотелия также понимается такое состояние ПА, при котором расширение сосуда в ответ на реактивную гиперемия достоверно меньше, чем на прием нитроглицерина.

2.3. Исследование полиморфизмов генов

Генетическое исследование проводили в лаборатории фармакогеномики в институте химической биологии и фундаментальной медицины г. Новосибирска (ИХБФМ СО РАН). Для исследования использовали буккальный эпителий, который получали путем взятия мазка с внутренней поверхности щеки, после чего полученный материал замораживали в морозильной камере.

Выделение ДНК. Пробирки с клиническими образцами (буккальный эпителий) центрифугировали на скорости 14 тыс. оборотов/мин в течение 15 минут. Осадок ресуспендировали в 300 мкл раствора №1 (100 мМ Tris HCl pH = 8,0; 10 мМ EDTA, 100мМ NaCl). Добавляли 50 мкл раствора №2 (10% додецил сульфат натрия (SDS)) и 10 мкл протеиназы К (10 мг/мл). Тщательно перемешивали и инкубировали в течение 1 час при температуре 55°C. Затем добавляли 200 мкл фенола, уравновешенного TE и 200 мкл хлороформа. Тщательно перемешивали и центрифугировали в течение 10 мин на максимальной скорости (14 тыс. оборотов/мин). Верхнюю фазу переносили в чистую пробирку, не затрагивая нижнюю интерфазу и нижнюю фазу. Добавляли 400 мкл хлороформа. Перемешивали и центрифугировали 5 мин на максимальной скорости (14 тыс. оборотов/мин). Верхнюю фазу переносили в чистую пробирку. Добавляли 10 мкл ЛПААГ, 40 мкл 3М AcNa pH5.4, 800 мкл EtOH, тщательно перемешивали. Инкубировали в течение ночи при температуре -20°C. После этого

центрифугировали 15 мин на максимальной скорости (14 тыс. оборотов/мин). Супернатант удаляли, к осадку добавляли 400 мкл 75% EtOH. После этого инкубировали в течение 10 мин при комнатной температуре. Затем забирали супернатант, тщательно следя за тем, чтобы осадок остался в пробирке. Сушили пробирки с открытыми крышками в термостате при температуре 37⁰С в течение 15 мин. К осадку добавляли 100 мкл дистиллированной воды и инкубировали при температуре 65⁰С в течение 10 минут.

Нами были проведены исследования по полиморфизмам 10 генов-модификаторов, кодирующих мозговой натрийуретический пептид, провоспалительные цитокины, ферменты антиоксидантной защиты, эндотелин-1, белок p53 и систему каспаз. Материалом для молекулярно-генетического исследования полиморфизмов являлись образцы ДНК, выделенной методом фенол-хлороформной экстракции из клеток буккального эпителия (Маниатис Т. и соавт., 1984).

Генотипирование однонуклеотидных замен в режиме реального времени с использованием конкурирующих TaqMan-зондов, комплементарных полиморфным участкам ДНК

Генотипирование однонуклеотидных замен в генах *p53*, *каспазы 8*, *GPX1*, *SOD2*, *ФНО-α* осуществляли с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с применением конкурирующих TaqMan-зондов, комплементарных полиморфным участкам ДНК (табл. 1). Зонды отличались по структуре на один нуклеотид, соответствующий SNP, находящийся в центре олигонуклеотидного зонда). В реакционной смеси зонды конкурируют друг с другом за гибридизацию с матрицей. При полной комплементарности зонда и матрицы гибридизация будет эффективнее, чем в случае неполной комплементарности. Соответственно, накопление флуоресцентного сигнала, полностью идентичному комплементарному зонду, будет преобладать.

Ключевым параметром, который мы регистрировали для каждой из реакций, являлось соотношение значений флюоресценции (relative fluorescence unit, или RFU) в диапазонах эмиссии красителей FAM и R6G.

Для оптимизации условий амплификации изменяли соотношение концентраций зондов, состав амплификационного буфера, температуру отжига праймеров. Достоверность определения генов подтверждалась секвенированием. Важным критерием достоверности генетического исследования служила кластеризация генотипов в группы, строившаяся на основе показателей выраженности флюоресценции (в относительных единицах флюоресценции - RFU).

Таблица 1

Праймеры и зонды, используемых для определения генов в режиме реального времени методом конкурирующих TaqMan-зондов

Локус	Праймеры	Зонды
<i>p53</i> (Arg72Pro экзон 4, rs1042522)	5'- GCTCCCAGAATGCCAGAG	5'- FAM- CTCCCCGCGTGGCCC BHQ-3'
	5'- GGGAAGGGACAGAAGATGAC	5'- R6G - CTCCCCCGTGGCCC BHQ-3'
<i>Каспаза 8</i> (rs3834129)	U 5'-AGACTTTTCTAGGCTTATAAAGC-3'	Del 5'ROX-CTCTGCCAAGCTGCGTGACCTT-BHQ-3'
	R 5'- CACTGAGACGTTAAGTAACTTGC-3'	5' R6G --CTCTGCCACTTACTAGCTGCGT -BHQ-3'
<i>Каспаза 8</i> (rs1045485)	U 5'-CCACGACCTTTGAAGAGCTTC-3'	5' FAM -AAGCCCCACGATGACTGCA-3'
	R 5'-TTACTGTAGTCCATGAGTTGGTAG-3'	5' Cy-5-AAGCCCCACGATGACTGCA-3'
<i>SOD2</i> (Ala16Val, rs4880)	5'-CTGTGCTTTCTCGTCTTCAG-3'	5'-R6G-CTGGCTCCGGTTTGGGG-FQ-3'
	5'-CGTTGATGTGAGGTTCCAG-3'	5'-FAM-CTGGCTCCGGTTTGGGG-RTQ-3'
<i>GPX1</i> (Pro198Leu, rs1050450)	5'-GCTTCCAGACCATGACATC-3'	5'-R6G- CTCAAGGGCTCAGCTGTGC-BHQ2-3'
	5'-CGAGGTGGTATTTTCTGTAAGATC-3'	5'-FAM-CTCAAGGGCCAGCTGTGC-BHQ2-3'
<i>ФНО-α</i> (rs1800629)	5'-TTCCGAGGGGGTCTTCTG-3'	5'-FAM-CCCGTCCCTATGCCC-RTQ-3'
	5'-GTTCTATCTTTTCTGCATCCTGT-3'	5'-R6G-CCCGTCCCATGCCC-FQ-3'

Примечание. *SOD2* - супероксиддисмутаза, *GPX1* - глутатионпероксидаза, *ФНО-α* - фактор некроза опухоли-α.

Каждый образец амплифицировался с использованием двух зондов и пары праймеров, несущих «гаситель» на 3'-конце и разные флюоресцентные красители (FAM либо R6G) на 5'-конце. Общий объем реакционной смеси составлял 25 мкл, смесь содержала 300 нМ каждого праймера; 40-100 нг ДНК; 200 мкМ-ные dNTP,

амплификационный буфер термостабильную Taq-полимеразу – 0,5 ед.акт./реакц., по 100-200 нМ Taqman-зондов, конъюгированных с FAM или R6G.

Полимеразная цепная реакция проводилась в следующих условиях: начальная денатурация 3' при температуре 96°C; после этого 40 циклов, включающих денатурацию при температуре 96°C, отжиг праймеров и последующую элонгацию при температуре 60°C (каждый шаг сопровождался регистрацией флюоресцентного сигнала в диапазонах, соответствующим интервалам флюоресценции флюорофоров FAM и R6G).

Определение однонуклеотидных замен методом ПДРФ-анализа

Исследование однонуклеотидных замен Glu298→Asp (G/T) гена *NOS3* и C3953→T гена *ИЛ-1β*, а также в гене *NADPH-оксидазы*. Представленные полиморфизмы представляют собой нуклеотидные замены, которые могут быть выявлены по появлению или потере сайтов узнавания для ферментов эндонуклеазной рестрикции, что проявляется на электрофореграмме полиморфизмом длин рестрикционных фрагментов.

Структуры праймеров, эндонуклеазы рестрикции, длины получаемых фрагментов и длины амплификационных фрагментов, представлены в таблице 2.

Полимеразную цепную реакцию проводили в конечном объеме 12 мкл, содержащем 160 мМ сульфат аммония; 650 мМ трис.-HCl (pH 8,9), 20 мМ MgCl₂; 0,5 мкМ растворы олигонуклеотидных праймеров, 20-100 нг ДНК и 1 ед. Taq-полимеразы; 0,05% Tween 20; 2 мМ dNTP. Реакцию проводили на амплификаторе «Eppendorff» с начальной денатурацией при температуре 95°C в течение 3-х мин, далее в течение 42 циклов с денатурацией в течение 5 сек при температуре 95°C, отжигом 5 сек при Тотж и элонгацией 15 сек при температуре 72°C. Завершающая элонгация осуществлялась при температуре 72°C в течение 5 мин.

Для проведения ПДРФ-анализа полученных фрагментов ДНК, рестрикцию проводили по следующему алгоритму. К амплификационной смеси добавляли 1/10 V 10x буфера для рестрикции и эндонуклеазу рестрикции (1-3 ед. акт. фермента) и инкубировали 2 часа при 65°C. Буфер для рестрикции применяли с

учетом рекомендаций производителя эндонуклеазы рестрикции. Фермент инактивировали добавлением 1мкл 0,5М ЭДТА.

Таблица 2

Праймеры и температура их отжига, длины амплификационных фрагментов, эндонуклеазы рестрикции и длины, получаемых фрагментов, используемых для типирования полиморфных локусов методом ПДРФ-анализа

Локус	Праймеры	Длина амплификационного фрагмента	Тотж праймеров, °C	Эндонуклеаза рестрикции	Аллели	Длины рестрикционных фрагментов
NOS3 (Glu298Asp, rs1799983)	CCTGAGGAGGGCATGAGGCT	450	65	Kzo91I	G	275+150 +25
	TGAGGGTCACACAGGTTCTCT				T	150+145 +130+25
ИЛ-1 β (C3953T, rs1143634)	TCCCTACTGGTGTGTCATCAG	550	60	TaqI	C	440+110
	CTTGGGTGGACATGGTCCTG				T	550
NADPH (rs4673)	TGCTTGTGGGTAAACCAAGG	509	60	RsaI	C	396+113
	GGAAAAACACTGAGGTAAGTG				T	316+113 +80

Примечание. NOS3 - эндотелиальная NO-синтаза, ИЛ-1 β - интерлейкин-1 β .

Анализ продуктов гидролиза осуществляли в 7% ПААГ, гель окрашивали бромистым этидием с визуализацией ДНК при помощи УФ-света, затем фотографировали с помощью цифровой фотокамеры.

Аллель-специфичная амплификация в режиме реального времени с использованием красителя SYBR Green I для индукции флюоресценции

Для анализа аллельных полиморфизмов гена рецептора эндотелина-1 типа А данным методом использовали две пары праймеров (табл. 3). Один из праймеров в паре являлся общим, два других отличались 3'-концевым нуклеотидом таким образом, что один из праймеров комплементарен последовательности ДНК дикого типа, другой – последовательности, включающей однонуклеотидную замену. Каждый образец амплифицировался с

использованием обеих пар праймеров. При полной комплементарности матрицы и праймера реакция амплификации проходила с бóльшей эффективностью, чем в случае присутствия неспаренного нуклеотида на 3'-конце праймера. Фиксация результатов полимеразной цепной реакции проводилась в режиме реального времени. Для этого в реакционную смесь добавляли флуоресцентный краситель SYBR Green I, который является интеркалирующим красителем, который флюоресцирует приблизительно в 200 раз интенсивнее, если сцеплен с двуцепочечной молекулой ДНК. Продуктом полимеразной цепной реакции являлся двуцепочечный ДНК-фрагмент. Таким образом, интенсивность флюоресцентного сигнала была прямо пропорциональна количеству полученного продукта.

Таблица 3

Праймеры и зонды, используемые для генотипирования аллель-специфичной амплификацией в режиме реального времени с использованием красителя SYBR Green I для индукции флюоресценции

Локус	Праймер общий	Праймеры специфичные	Температура отжига	Расчетная температура плавления продукта ПЦР
<i>ENDRA</i> (C1363T)	5'-TCATACCTAAGTCATTACACATCG-3'	5'-CTTTGCTGGTTCCTCTTCAT-3'	63	79,9
		5'-CTTTGCTGGTTCCTCTTCAC-3'		

Примечание. *EDNRA* - рецептор эндотелина-1 типа А.

2.4. Иммуноферментный анализ

Определение уровней ИЛ-1 β и ФНО- α , sFas-L, эндотелина-1 и NT-proBNP в крови проводили методом иммуноферментного твердофазного анализа (ELISA) (табл. 4).

Принцип метода иммуноферментного твердофазного анализа (ELISA)

Специфические моноклональные антитела (СМА) к определяемому агенту (ОА) в избытке фиксированы на внутренней стенке ячейки микротитрационного

планшета. В первой иммунореакции, свободный плазменный антиген ОА взаимодействует и образует комплекс с пристеночными моноклональными антителами. Затем присутствующие в тест-системе компоненты плазмы удаляются промыванием на промывателе микротитрационных микропланшет. Поскольку антиген имеет постоянную антигенную детерминанту, то добавление (в избытке) меченых пероксидазой антител к ОА, приводит к формированию сэндвич-комплексов (вторая иммунореакция), в которых антиген ОА захватывается антителами с обеих сторон. Число меченых пероксидазой антител, пропорционально количеству ОА, содержащемуся в исследуемом биоматериале.

Индикаторная реакция (детекция) инициируется добавлением субстрата - о-фенилдиамина/ H_2O_2 (О.Р.Д./ H_2O_2), который расщепляется пероксидазой фиксированного на внутренней стенке комплекса антитело-антиген-антитело, с выделением хромогена (красящего вещества), определяемого фотометрически (на иммуноферментном фотометре, с длиной волны 492 нм).

Таблица 4

Коммерческие наборы, использованные для проведения ELISA

Показатель	Коммерческий набор - № по каталогу
Фактор некроза опухоли-альфа (ФНО-α)	БЕКТОР-БЕСТ (РФ) - 8756
Интерлейкин-1β (IL-1β)	БЕКТОР-БЕСТ (РФ) - 8766
Растворимый s-FAS-лиганд (sFas- L)	Bender MedSystems (Австрия) - BMS 260/2
Эндотелин-1	Biomedica Medizinprodukte (Австрия) - BI-20082H
Мозговой натрийуретический пропептид (NT-proBNP)	Biomedica Medizinprodukte (Австрия) - SK-1204

Используемый материал: гепаринизированная или цитратная плазма. Кровь получали из локтевой вены, после чего ее центрифугировали и полученную плазму замораживали в морозильной камере.

Приготовление образцов: перед исследованием 1 часть плазмы разводили в 30-50 раз трис-буфером в зависимости от вида тест-системы и инструкции производителя набора.

Ход определения:

- 1) подготовка микротитрационных стрипов;
- 2) добавление разведенного буфером материала в лунку микротитрационного стрипа и инкубировать в течение 1 часа при комнатной температуре;
- 3) промывание;
- 4) добавление в лунку микротитрационного стрипа иммуноконъюгатов и инкубирование в течение 1 часа при комнатной температуре;
- 5) промывание;
- 6) добавление раствора субстрата о-фенилдиамина/ H_2O_2 ;
- 7) ровно через 3 минуты добавление соляной кислоты (1 моль/л);
- 8) чтение результатов на ИФА-анализаторе через 10-120 минут.

2.5. Статистический анализ

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакета статистических программ STATISTICA v. 13.3.

Количественные переменные определяли в виде медианы (Me), а также 25-й и 75-й квартилей (25Q и 75Q). Для сравнительного анализа значений этих показателей использовали Н-критерий Краскела-Уоллеса с последующим post-hoc (множественным) сравнением между отдельными группами двусторонним вариантом точного критерия Фишера (Fisher exact, two-tailed) с поправкой Бонферрони (Bonferroni-Korrektur). Характер распределения полученных данных оценивали, используя критерии нормальности Колмогорова–Смирнова, а также метод Шапиро–Уилкса. В условиях нормального распределения выборки

достоверность различия определить с помощью t-критерия Стьюдента (непарный для независимых наблюдений, парный – для зависимых). При отсутствии нормального распределения для независимых наблюдений использовать U-критерии Манна-Уитни.

Для контроля результатов генетического исследования случайной выборки особей из популяции использовали тест на равновесие Харди-Вайнберга. Соответствие равновесию Харди-Вайнберга оценивали с помощью точного теста Фишера (p exact). Точный тест Фишера на соблюдение распределения генотипов равновесию Харди-Вайнберга осуществляли с помощью онлайн программы на сайте Института генетики человека (<http://ihg2.helmholtz-muenchen.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>) (г. Мюнхен, Германия).

Определение ассоциации генотипа с вариантами течения заболевания проводили с помощью многофакторного логистического регрессионного анализа, на основании результатов которого вычисляли OR (odds ratios, отношение шансов), его доверительный интервал (95% C.I.) и уровень значимости полученных результатов (p-value). Отношение шансов вычислить с поправкой на возраст, кумулятивную дозу химиотерапевтических препаратов, схему ПХТ и без поправок на таковые.

Для оценки прогностического влияния факторов выполнили анализ соответствующих ROC (receiver operating characteristic)-кривых. На ROC-кривой определяли точку, соответствующую оптимальному соотношению чувствительности и специфичности.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Особенности клинико-функциональных изменений, установленные у исследованных больных в процессе 12-месячного проспективного наблюдения

3.1.1. Клиническое, функциональное и инструментальное обследование больных

Обследовано 176 женщин с раком молочной железы в возрасте от 35 до 55 лет, получавших антрациклиновые антибиотики в составе схем полихимиотерапевтического лечения. По итогам обследования через 12 месяцев после окончания ПХТ пациентки, находившиеся в состоянии ремиссии онкологического заболевания, были разделены на 2 группы: больные с развитием кардиотоксического ремоделирования (группа 1 - 52 человека, возраст - 45,0 [42,0; 47,0] лет) и женщины с сохраненной функцией сердца (группа 2 - 124 человека, возраст - 45,0 [42,0; 50,0] лет) (табл. 5). Для лечения рака молочной железы применялась схема, включающая комбинацию доксорубицина и циклофосфида (АС), к данным препаратам добавляли доцетаксел (схема ТАС). Кумулятивная доза доксорубицина составляла 300-360 мг/м².

Как видно из таблицы 5, по возрасту, схемам ПХТ, кумулятивной дозе доксорубицина и стадии РМЖ исследованные группы были сопоставимы. По суммарной очаговой дозе при лучевой терапии и пораженной молочной железе (правая или левая) группы также были сопоставимы. Однако в 1-й группе женщин с развитием ремоделирования сердца через 12 месяцев после завершения ПХТ существенно чаще регистрировались признаки острой кардиотоксичности (развитие транзиторной дисфункции левого желудочка, нарушений ритма сердца, неспецифических изменений на ЭКГ, симптомов СН) после первого курса ПХТ (48,1% против 11,2%, $p=0,001$). Также в 1-й группе через 12 месяцев после завершения ПХТ у всех пациенток были выявлены признаки ХСН, соответствующие 1 ФК (75%) и 2 ФК (25%).

Клинико-демографическая характеристика обследованных женщин

Показатель	Группа 1 (n=52)	Группа 2 (n=124)	χ^2 Пирсона	p-value
Возраст (лет)	45 [42; 47]	45 [42; 50]	-	0,557
Кумулятивная доза доксорубицина (мг/м ²)	360 [360; 360]	360 [360; 360]	-	0,818
Схема ПХТ: АС (n, %)	29 (55,8)	74 (59,7)	0,231	0,631
Схема ПХТ: ТАС (n, %)	23 (44,2)	50 (40,3)	0,231	0,631
Стадия РМЖ 2А (n, %)	15 (28,8)	35 (28,2)	0,006	0,933
Стадия РМЖ 2В (n, %)	17 (32,7)	42 (33,8)	0,023	0,879
Стадия РМЖ 3А (n, %)	10 (19,2)	27 (21,8)	0,143	0,706
Стадия РМЖ 3В (n, %)	10 (19,2)	20 (16,1)	0,227	0,634
Острая кардиотоксичность (n, %)	25 (48,1)	14 (11,2)	28,74	0,001
1 ФК ХСН (n, %)	39 (75,0)	-	-	-
2 ФК ХСН (n, %)	13 (25,0)	-	-	-

Примечание: ПХТ - полихимиотерапия, АС - схема ПХТ, включающая доксорубицин и циклофосфамид, ТАС - схема ПХТ, включающая доксорубицин, циклофосфамид и доксорубицин, РМЖ - рак молочной железы, ФК ХСН - функциональный класс хронической сердечной недостаточности.

Клинический статус пациентов через 12 месяцев проспективного наблюдения представлен в табл. 6. У больных в 1-й группе с развитием антрациклин-индуцированной кардиотоксичности через 12 месяцев после завершения ПХТ регистрировалась быстрая утомляемость при обычной и незначительной физической нагрузке (63,5% больных), одышка при обычной и незначительной физической нагрузке (55,8% больных), а также сердцебиение, которое было выявлено в 36,5% случаев. Во 2-й группе женщин с отсутствием Эхо-КГ-признаков поражения сердца через 12 месяцев после завершения ПХТ быстрая утомляемость, одышка при обычной физической нагрузке и сердцебиение выявлено у значительно (p=0,001) меньшего количества женщин (3,2%, 2,4% и 1,6%, соответственно).

Таблица 6

Частота основных клинических симптомов ХСН через 12 месяцев наблюдения в исследуемых группах (n, %)

Симптомы и признаки заболевания		Группа 1 (n=52)	Группа 2 (n=124)	χ^2 Пирсона	p-value
Быстрая утомляемость	при обычной физической нагрузке	27 (51,9)	4 (3,2)	41,29	0,001
	при незначительной физической нагрузке	6 (11,5)	-	-	-
Одышка	при обычной физической нагрузке	25 (48,1)	3 (2,4)	39,57	0,001
	при незначительной физической нагрузке	4 (7,7)	-	-	-
	в покое	-	-	-	-
Сердцебиение		19 (36,5)	2 (1,6)	30,16	0,001

По наличию таких факторов риска развития сердечно-сосудистой патологии как пол, средний возраст, курение, наследственная предрасположенность к сердечно-сосудистым заболеваниям исследованные группы пациентов были сопоставимы (табл. 7).

Таблица 7

Факторы риска развития сердечно-сосудистых заболеваний в исследуемых группах (1-я точка; n, %)

Показатель	Группа 1 (n=52)	Группа 2 (n=124)	χ^2 Пирсона	p-value
Наследственная отягощенность по ССЗ	23 (44,2)	58 (46,8)	0,117	0,758
Табакокурение	7 (13,5)	20 (16,1)	0,210	0,654
Избыточная масса тела (ИМТ=25-29,9 кг/м ²)	16 (30,8)	31 (25,0)	0,278	0,523
Дислипидемия	29 (55,8)	67 (54,0)	0,067	0,826
Нарушение толерантности к глюкозе	8 (15,4)	22 (17,7)	0,104	0,747

Примечание: ССЗ - сердечно-сосудистые заболевания, ИМТ - индекс массы тела.

По наличию сопутствующей патологии исследованные группы также были сопоставимы (табл. 8).

Таблица 8

Сопутствующая патология в исследуемых группах (1-я точка; n, %)

Патология	Группа 1 (n=52)	Группа 2 (n=124)	χ^2 Пирсона	p-value
Хронический гастрит	3 (5,8)	7 (5,6)	0,001	0,974
Желчекаменная болезнь	6 (11,5)	10 (8,1)	0,535	0,464
МКБ	4 (7,7)	9 (7,2)	0,011	0,919
Пиелонефрит	8 (15,4)	20 (16,1)	0,015	0,901
Панкреатит	2 (3,8)	3 (2,4)	0,271	0,603
Холецистит	5 (9,6)	11 (8,9)	0,024	0,875

Примечание: ХОБЛ - хроническая обструктивная болезнь легких, МКБ - мочекаменная болезнь.

По клинико-лабораторным показателям в исследованных группах до начала наблюдения выявлены различия по уровню диастолического давления и по величине пройденной дистанции по результатам ТШХ, но оба показателя были в пределах нормальных значений (табл. 9).

В динамике проспективного наблюдения после завершения ПХТ выявлен более высокий уровень ЛПВП в группе женщин без развившейся в последствии антрациклин-индуцированной кардиотоксичности (табл. 10). Через 12 месяцев после окончания ПХТ зарегистрированы существенные отличия по показателям ТШХ и ШОКС. Так в группе 1 ТШХ составил 492,5 м, количество баллов по ШОКС - 2, что соответствовало 1 ФК ХСН. Тогда как в группе 2 по показателям ШОКС и ТШХ признаков ХСН не выявлено. Также в группе 1 выявлен существенно более низкий уровень гемоглобина по сравнению с группой 2 (109,5 г/л и 126,5 г/л, соответственно, $p < 0,001$). Вероятно, уменьшение доставки кислорода к кардиомиоцитам на фоне хронической анемии, развившейся после ПХТ, является дополнительным патогенетическим фактором развития

антрациклин-индуцированной кардиотоксичности. Изучение роли хронической анемии в патогенезе поражения сердца в отдаленном периоде после окончания ПХТ представляется целесообразным для дальнейших исследований. Также в группах 1 и 2 сохранялись значимые различия в уровне ЛПВП, а также были зафиксированы различия в уровне глюкозы, однако абсолютные значения данного показателя соответствовали норме.

Таблица 9

Клинико-лабораторная характеристика пациентов в исследуемых группах до начала курса ПХТ (Me [Q25; Q75])

Показатель	Группа 1 (n=52)	Группа 2 (n=124)	p-value U-критерии Манна-Уитни
ИМТ (кг/м ²)	24,7 [21,8; 25,8]	23 [21,15; 25,55]	0,255
ЧСС (уд. мин)	75 [68; 82]	75 [69; 81]	0,826
САД (мм рт. ст.)	125 [120; 130]	125 [120; 130]	0,745
ДАД (мм рт. ст.)	80 [75; 80]	80 [80; 80]	0,012
ТШХ (м)	565 [551; 574]	578 [561; 598]	0,004
ШОКС (баллы)	0 [0;0]	0 [0; 0]	0,651
Гемоглобин (г/л)	109,5 [100; 117]	109,5 [99; 117,5]	0,798
ОХС (ммоль/л)	5,2 [4,85; 5,7]	5,25 [4,8; 5,7]	0,881
ТГ (ммоль/л)	1,6 [1,2; 2,05]	1,6 [1,1; 2,0]	0,537
ЛПНП (ммоль/л)	2,4 [2,2; 2,8]	2,4 [2,1; 2,8]	0,475
ЛПВП (ммоль/л)	2,3 [2,0; 2,4]	2,2 [2,0; 2,4]	0,323
Глюкоза (ммоль/л)	4,8 [4,3; 5,25]	4,7 [4,3; 5,3]	0,541
Креатинин (мкмоль/л)	75 [68; 86]	77 [71; 86,5]	0,619

Примечание: ПХТ - полихимиотерапия, ИМТ - индекс массы тела, ЧСС - частота сердечных сокращений, САД - систолическое артериальное давление, ДАД - диастолическое артериальное давление, ТШХ - тест шестиминутной ходьбы, ШОКС - шкала оценки клинического состояния, ОХС - общий холестерин, ЛПВП - липопротеиды высокой плотности, ЛПНП - липопротеиды низкой плотности, ТГ - триглицериды.

Таблица 10

Клинико-лабораторная характеристика пациентов в исследуемых группах в динамике наблюдения (Me [Q25; Q75])

Показатель	После завершения ПХТ			Через 12 месяцев после завершения ПХТ		
	Группа 1 (n=52)	Группа 2 (n=124)	p-value U-критерии Манна-Уитни	Группа 1 (n=52)	Группа 2 (n=124)	p-value U-критерии Манна-Уитни
ИМТ (кг/м ²)	23,8 [21,3; 25,5]	22,8 [20,85; 24,9]	0,206	24,65 [22,65; 26,15]	23,8 [21,8; 25,7]	0,105
ЧСС (уд. мин)	76,5 [68; 82]	78 [71; 86]	0,401	72 [66; 79]	72 [66; 78]	0,821
САД (мм рт. ст.)	120 [120; 120]	120 [120; 130]	0,850	125 [120; 130]	125 [120; 130]	0,366
ДАД (мм рт. ст.)	80 [75; 80]	80 [75; 85]	0,706	80 [78,5; 80]	80 [75; 80]	0,366
ТШХ (м)	558,5 [551; 574,5]	564 [556; 574]	0,053	492,5 [466; 512]	568,5 [562,5; 577]	<0,000001
ШОКС (баллы)	0 [0; 0]	0 [0; 1]	0,048	2 [2; 3]	0 [0; 1]	<0,000001
Гемоглобин (г/л)	93 [83,5; 97,5]	90 [83; 99]	0,969	109,5 [97,5; 120,5]	126,5 [111,5; 135,0]	<0,000001
ОХС (ммоль/л)	5,15 [4,8; 5,5]	5,2 [4,6; 5,6]	0,942	5,32 [4,85; 5,75]	5,2 [4,81; 5,36]	0,453
ТГ (ммоль/л)	1,7 [1,1; 2,1]	1,6 [1,2; 2,0]	0,376	1,75 [1,2; 2,1]	1,6 [1,2; 2]	0,468
ЛПНП (ммоль/л)	2,5 [2,1; 2,9]	2,4 [2,1; 2,8]	0,427	2,5 [2,2; 2,97]	2,4 [2,1; 2,8]	0,146
ЛПВП (ммоль/л)	1,95 [1,5; 2,2]	2,05 [1,8; 2,25]	0,026	1,95 [1,59; 2,45]	2,2 [1,9; 2,5]	0,006
Глюкоза (ммоль/л)	4,6 [4,1; 5,3]	4,8 [4,3; 5,2]	0,359	5,1 [4,5; 5,4]	4,9 [4,3; 5,2]	0,032
Креатинин (мкмоль/л)	78,5 [68; 86]	78 [70; 85]	0,425	81 [71,5; 90,5]	80 [68; 90]	0,444

Примечание: ПХТ - полихимиотерапия, ИМТ - индекс массы тела, ЧСС - частота сердечных сокращений, САД - систолическое артериальное давление, ДАД - диастолическое артериальное давление, ТШХ - тест шестиминутной ходьбы, ШОКС - шкала оценки клинического состояния, ОХС - общий холестерин, ЛПВП - липопротеиды высокой плотности, ЛПНП - липопротеиды низкой плотности, ТГ - триглицериды.

Результаты исследования внутрисердечной гемодинамики по данным ЭхоКГ в исследованных группах в исходном состоянии и в динамике проспективного наблюдения представлены в табл. 11 и 12. До начала ПХТ с использованием антрациклинов все ЭхоКГ-показатели в исследованных группах были сопоставимы, - в пределах физиологических значений.

Таблица 11

Данные ЭхоКГ в исследованных группах до начала курса ПХТ (Me [Q25; Q75])

Показатель	Группа 1 (n=52)	Группа 2 (n=124)	p-value U-критерии Манна-Уитни
ФВ ЛЖ (%)	65,5 [62; 70]	67,0 [62; 70]	0,663
ЛП (мм)	28 [26; 31]	28 [25,5; 31]	0,871
КДР (мм)	44 [42; 48,5]	45,5 [43; 49]	0,284
КСР (мм)	28 [26; 31]	28 [26; 31]	0,764
МЖП (мм)	10 [9; 11]	10 [9; 11]	0,992
ЗСЛЖ (мм)	10 [10; 11]	10 [10; 11]	0,774

Примечание. ПХТ – полихимиотерапия, ФВ ЛЖ - фракция выброса левого желудочка, КДР – конечный диастолический размер, КСР - конечный систолический размер, ЛП – левое предсердие, МЖП – межжелудочковая перегородка, ЗСЛЖ – задняя стенка левого желудочка.

В динамике наблюдения после окончания курса ПХТ все ЭхоКГ-показатели в исследованных группах также были сопоставимы. Однако через 12 месяцев после окончания ПХТ в группе 1 регистрировалось существенно ($p=0,001$) более низкий показатель ФВ ЛЖ (54,5% [51,5; 58] против 66% [63; 69]), более высокие значения КДР (51 мм [49; 54,5] и 47 мм [44; 49], соответственно, $p=0,001$) и КСР (33 мм [31; 35] и 29 мм [27; 31], соответственно, $p=0,001$) по сравнению с больными группы 2. Также выявлены различия в исследованных группах по размерам МЖП ($p=0,041$) и ЗСЛЖ ($p=0,008$).

Следовательно, установленные результаты свидетельствовали о том, что показатели структурно-функционального состояния сердца и внутрисердечной гемодинамики в группе 1 через 12 месяцев после окончания ПХТ существенно ($p=0,041-0,001$) ухудшились, в отличие от таковых в группе 2, что отражало прогрессивное развитие дисфункции миокарда после перенесенной ПХТ.

Таблица 12

Эволюция показателей внутрисердечной гемодинамики в исследованных группах в процессе 12-месячного проспективного наблюдения (Me [Q25; Q75])

Показатель	После завершения ПХТ			Через 12 месяцев после завершения ПХТ		
	Группа 1 (n=52)	Группа 2 (n=124)	p-value U-критерии Манна-Уитни	Группа 1 (n=52)	Группа 2 (n=124)	p-value U-критерии Манна-Уитни
ФВ ЛЖ (%)	66,5 [62; 69]	65 [63; 69,5]	0,773	54,5 [51,5; 58]	66 [63; 69]	<0,000001
ЛП (мм)	28,5 [27; 31]	28 [26; 31]	0,589	30 [28; 32]	29 [27; 31]	0,064
КДР (мм)	47 [43,5; 49]	46 [43; 48]	0,213	51 [49; 54,5]	47 [44; 49]	<0,000001
КСР (мм)	28,5 [26; 30]	28 [26,5; 30]	0,789	33 [31; 35]	29 [27; 31]	<0,000001
МЖП (мм)	10 [9; 11]	10 [9; 11]	0,992	10,5 [10; 11]	10 [9; 11]	0,041
ЗСЛЖ (мм)	10 [10;11]	10 [10; 11]	0,774	11 [10; 12]	10,5 [10; 11]	0,008

Примечание. ПХТ – полихимиотерапия, ФВ ЛЖ - фракция выброса левого желудочка, КДР – конечный диастолический размер, КСР - конечный систолический размер, ЛП – левое предсердие, МЖП – межжелудочковая перегородка, ЗСЛЖ – задняя стенка левого желудочка.

3.1.2. Состояние эндотелиальной дисфункции при развитии антрациклин-индуцированной кардиотоксичности

Функция эндотелия нарушается при различных патологических состояниях, сопровождающихся нарушением метаболизма. По современным представлениям эндотелий – более чем просто барьер или фильтр. Это - активный эндокринный орган, самый большой в теле человека, диффузно рассеянный по всем тканям, дисфункция которого является обязательным компонентом практически всех сердечно-сосудистых заболеваний, включая атеросклероз, гипертонию, ИБС, СН. Он участвует также в воспалительных реакциях, аутоиммунных процессах, сахарном диабете, тромбозе, росте злокачественных опухолей и т.д. В миокарде окись азота, вырабатываемая эндотелиальными клетками, через повышение внутриклеточной концентрации цГМФ обеспечивает сократительную функцию миокарда, усиливая расслабление желудочков и увеличивая растяжимость в диастолу [64, 211]. Показано также, что оксид азота, образуемый кардиомиоцитах, является чрезвычайно важным в реализации β -адренергического хронотропного и инотропного ответов [90].

В работе проводили исследование сосудодвигательной функции эндотелия с помощью ультразвукового метода по реакции плечевой артерии на реактивную гиперемию и сублингвальный прием нитроглицерина (НГ).

Исходно диаметр плечевой артерии (ПА) в исследованных группах был сопоставим. Однако через 12 месяцев после окончания ПХТ данный показатель в группе 1 с развившейся антрациклин-индуцированной кардиотоксичностью стал существенно ($p < 0,001$) меньшего диаметра ПА в группе 2 (табл. 13).

В обеих группах ЭЗД была сопоставима до начала лечения РМЖ с использованием антрациклиновых антибиотиков. Через 12 месяцев после завершения ПХТ в 1-группе прирост диаметра ПА оказался на 33,9% ниже (8,2% [7,3; 8,75] и 12,4% [11,95; 12,6], соответственно, $p < 0,001$) аналогичного показателя до начала лечения опухолевого процесса с использованием

антрациклинов и на 33,4% ниже (8,2% [7,3; 8,75] и 12,4% [11,8; 12,85], соответственно, $p < 0,001$) показателя в группе 2 после завершения ПХТ.

Таблица 13

Оценка состояния вазодилатации плечевой артерии в исследованных группах в процессе 12-месячного проспективного наблюдения (Me [Q25; Q75])

Показатель	До начала ПХТ			Через 12 месяцев после завершения ПХТ		
	Группа 1 (n=52)	Группа 2 (n=124)	p-value U- критерии Манна- Уитни	Группа 1 (n=52)	Группа 2 (n=124)	p-value U- критерии Манна- Уитни
Диаметр ПА, мм	4,85 [4,65; 5,1]	4,9 [4,7; 5,2]	0,437	3,95 [3,7; 4,1]	4,9 [4,7; 5,1]	<0,000001
ЭЗД, %	12,4 [11,95; 12,6]	12,8 [12,4; 13,3]	<0,000001	8,2 [7,3; 8,75]	12,3 [11,8; 12,85]	<0,000001
ЭНЗД, %	19,8 [19,1; 20,6]	20,6 [19,3; 21,4]	<0,000001	14,4 [13,7; 15,0]	19,7 [18,6; 20,5]	<0,000001

Примечание. ПХТ - полихимиотерапия, ПА - плечевая артерия, ЭЗД - эндотелийзависимая вазодилатация, ЭНЗД - эндотелийнезависимая вазодилатация

Оценка ЭНЗД показала, что прирост диаметра ПА в пробе с нитроглицерином в исследованных группах до начала курса ПХТ был сопоставимым. Через 12 месяцев после завершения ПХТ прирост диаметра ПА в 1 группе оказался на 27,3% меньше (14,4 [13,7; 15,0] и 19,8 [19,1; 20,6], соответственно, $p < 0,001$) аналогичного показателя до начала ПХТ и на 26,9% меньше (14,4 [13,7; 15,0] и 19,7 [18,6; 20,5], соответственно, $p < 0,001$) показателя ЭНЗД в группе 2.

Таким образом, одним из признаков эндотелиальной дисфункции, установленной нами, у больных с антрациклин-индуцированной кардиотоксичностью является выраженная ригидность сосудистой стенки, о чем свидетельствовали низкие цифры диаметра плечевой артерии пациенток с поражением миокарда по отношению к группе пациенток с отсутствием клинических признаков развития кардиотоксичности.

Полученные данные свидетельствуют о том, что у больных с антрациклин-индуцированной кардиотоксичностью диагностируется дисфункция эндотелия, проявляющаяся нарушениями эндотелийзависимой и эндотелийнезависимой вазодилатации. Снижение вазодилатации ПА у пациентов с кардиотоксическим ремоделированием миокарда, вероятнее всего, отражает повышение влияния эндотелиальных вазоконстрикторов, в частности, эндотелина-1, с одной стороны, а также нарушение эндотелийзависимой вазодилатации (прежде всего, за счет дефицита NO) и снижение реакции эндотелия на увеличение «напряжения сдвига» во время пробы с реактивной гиперемией с другой стороны. Также антрациклины могут влиять на тонус сосудов путем модификации кальциевого гомеостаза, экспрессии мембранных белков, активности ферментов, вовлеченных в процесс сокращения гладкомышечных клеток сосудов.

Таким образом, результаты исследования, представленного в настоящем разделе работы, продемонстрировали, что через 12 месяцев после окончания ПХТ у 29,5% пролеченных пациенток с РМЖ с использованием антрациклинов выявляются признаки поражения миокарда, проявляющиеся ремоделированием миокарда: существенным снижением ФВ ЛЖ и повышением КДР и КСР. По данным клинического обследования у данных пациенток выявлена ХСН по данным теста ШМХ и ШОКС: 1 ФК (75%) и 2 ФК (25%).

В 1-й группе женщин с развившемся ремоделированием сердца через 12 месяцев после завершения ПХТ существенно чаще регистрировались признаки острой кардиотоксичности (развитие транзиторной дисфункции левого желудочка, нарушения ритма сердца, неспецифических изменений на ЭКГ, симптомов СН) после первого курса ПХТ (48,1% против 11,2%). Поэтому при наличии проявлений острой кардиотоксичности необходим более тщательный мониторинг поражений миокарда при последующих введениях доксорубина.

Также в группе 1 через 12 месяцев после завершения ПХТ выявлен существенно более низкий уровень гемоглобина по сравнению с группой 2, что

указывает на важную роль гемической гипоксии в развитии антрациклин-индуцированной кардиотоксичности.

Выявленная нами нарушенная эндотелийзависимая вазодилатация приобретает важное патогенетическое значение для развития гипоксии кардиомиоцитов, учитывая, что перфузия миокарда регулируется резистивными коронарными артериями, тонус которых зависит от вазодилататорной способности коронарного эндотелия, даже при отсутствии атеросклеротических бляшек, дефицит синтеза оксида азота эндотелиоцитами коронарных сосудов способен привести к развитию ишемии миокарда.

3.2. Полиморфные варианты генов, предрасполагающие к развитию антрациклин-индуцированной кардиотоксичности

В связи с трудностями ранней диагностики кардиотоксичности применяются и совершенствуются различные методы клинической оценки состояния сердца. На сегодняшний день диагностика кардиомиопатии, связанной с приемом противоопухолевых химиопрепаратов, традиционно основана на серийной регистрации ЭКГ и использовании двухмерной эхокардиографии.

Однако, учитывая наиболее частое развитие клинически манифестной кардиотоксичности химиотерапии, динамический мониторинг фракции выброса левого желудочка по данным двухмерной ЭхоКГ обладает сравнительно низкой чувствительностью для раннего прогнозирования повреждения миокарда; снижение ФВ ЛЖ идентифицируется только при большом объеме повреждения кардиомиоцитов [6, 7, 27, 34]. В связи с этим в настоящее время уделяется особое внимание разработке инновационных технологий, позволяющих выявлять поражение миокарда на самых ранних субклинических стадиях развития кардиотоксичности либо прогнозировать развитие сердечно-сосудистых осложнений еще до начала курса ПХТ [6, 78, 226, 167, 185].

В настоящее время общепризнанным является факт несомненного участия молекулярно-генетических факторов в развитии ремоделирования и апоптоза

миокарда, сердечной недостаточности (СН) в результате кардиотоксического действия химиотерапии [116].

Изучение молекулярно-генетических механизмов развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности, выявление роли генетических факторов для идентификации риска развития и прогнозирования течения ХСН при поражении миокарда антрациклинами, а также внедрение новых методов оценки эффективности лекарственных средств, назначаемых при данном патологическом процессе, является актуальной научно-практической задачей. Генные детерминанты, указывая на вероятный прогноз риска возникновения, тяжести, характера течения антрациклин-индуцированной кардиотоксичности, позволят определить группы высокого риска развития заболевания и сформировать эффективную тактику профилактики и лечения антрациклин-индуцированного поражения сердца, что, в конечном итоге, будет способствовать повышению качества жизни и выживаемости пациентов с ХСН.

3.2.1. Прогностическое значение полиморфизмов генов белка p53 и каспазы 8 в оценке риска развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности

Одним из предполагаемых механизмов кардиотоксичности антрациклинов является индуцированное свободными радикалами повреждение миокарда. Также отмечены некоторые другие клеточные изменения, включающие повреждение ДНК, ингибирование синтеза белка, дегенерацию миофибрилл и апоптоз кардиомиоцитов. В экспериментальных исследованиях показано, что фармакологическое или генетическое ингибирование активности p53 снижает индуцированный доксорубицином апоптоз кардиомиоцитов с сопутствующим улучшением функции сердца [230].

Исследованиями последних лет выявлены инструментально-морфологические параллели, позволяющие говорить о ремоделировании миокарда как о едином клинико-морфологическом синдроме, имеющем

существенное значение для прогноза у больных, подвергшихся ПХТ [217]. Одним из важных звеньев развития ремоделирования миокарда является апоптоз кардиомиоцитов, а также немышечных клеток сердца. Установлена достоверная взаимосвязь основных гемодинамических показателей, отражающих систолическую и диастолическую функцию сердца, от числа кардиомиоцитов, погибших в результате их апоптоза [12]. Активность апоптоза во многом предопределяет варианты ремоделирования сердца и, в конечном итоге, скорость прогрессирования сердечной недостаточности [15].

Апоптоз - очень сложный, энергетически зависимый процесс разрушения клетки, ассоциируемый с повышенной экспрессией специфических рецепторов Fas/APO-1, высвобождением митохондриальных белков и активацией белка p53 [22]. Вне зависимости от инициального механизма активации (рецепторный, митохондриальный или p53-зависимый) «суицидальной» программы клеточной смерти происходит фрагментация ДНК, и клетка делится на маленькие апоптотические тельца (фрагменты клетки, окруженные мембраной и способные к жизнедеятельности) с последующим фагоцитозом этих тел макрофагами [93].

Апоптоз клеток зависит от функционального взаимодействия многих молекул, включающих белок p53. P53 - транскрипционный фактор, ядерный белок, кодируемый одноименным геном - супрессором роста опухолей, регулирует различные клеточные функции, включая митотический цикл, репарацию ДНК при ее повреждении, дифференцировку клеток и их гибель по механизму апоптоза [207].

Уровень белка p53 значительно повышается при воздействии различных стрессорных факторов на клетку. Белок p53 играет важную роль в регуляции транскрипции и поддержании стабильности генома и взаимодействует со многими клеточными протеинами. Показано, что повреждение ДНК сопровождается накоплением белка p53, который, в свою очередь, блокирует прогрессирование клеточного цикла в G1 фазе, таким образом, препятствуя репликации ДНК и запуская программу апоптоза [35].

Семьдесят второй кодон 4 экзона гена белка *p53* может быть представлен тремя вариантами генотипов (Arg/Arg, Arg/Pro, Pro/Pro) в результате однонуклеотидной замены цитозина (C) на гуанин (G) (CGC – аргинин, CCC – пролин). Полиморфизм в 72 кодоне 4 экзона (rs1042522) является наиболее функционально значимым, так как затрагивает ДНК-связывающий домен. При исследовании биологической, биохимической и структурной сходности белка при разных генотипах 4 экзона *p53* выявлено, что пролиновый и аргининовый типы обладают разной способностью к взаимодействию и инициации транскрипции генов-мишеней, что может иметь существенное значение при задержке деления клеток [205].

Каспазы непосредственно принимают участие в процессе запрограммированной гибели клеток. В следствие активации каспаз происходит распад клеточных субстратов, что приводит к необратимым изменениям структуры клеток в процессе апоптоза.

На вершине апоптозного каскада находится каспаза-8, которая в процессе запрограммированной гибели клеток, запущенного ФНО- α и CD95 (Fas/APO-1), напрямую связывает каспазы с эффекторным доменом смерти. Ген *каспазы 8* представлен не менее 11 экзонами, которые перерывают около 30 кб участка 2q33-34 хромосомы человека.

Нами изучены два полиморфных варианта гена *каспазы-8*: 1) rs3834129 и 2) rs1045485.

Распределение частот встречаемости генотипов полиморфизма rs1042522 гена белка *p53* и полиморфизмов rs3834129 и rs1045485 гена *каспазы 8* в исследованных группах соответствовало ожидаемому при определении равновесия Харди–Вайнберга (табл. 14).

При анализе распределения частоты встречаемости генотипов гена белка *p53* Arg72Pro экзон 4 (rs1042522) установлены различия в исследованных группах. Оказалось, что у пациенток с развившейся кардиотоксичностью по сравнению с группой женщин без проявлений сердечно-сосудистых осложнений ПХТ частота носительства генотипа Arg/Arg была значимо выше (57,7% против

30,6%, $p=0,001$), а частота встречаемости генотипа Pro/Pro была значимо меньше (11,5% против 26,6%, $p=0,028$).

Таблица 14

Частоты встречаемости генотипов гена белка *p53* и гена *каспазы 8* в исследованных группах (n, %)

Ген	Генотип	Группа 1 (n=52)	Группа 2 (n=124)	χ^2 Пирсона	p-value
<i>P53</i> (Arg72Pro экзон 4, rs1042522)	Arg/Arg	30 (57,7)	38 (30,6)	11,05	0,0008
	Arg/Pro	16 (30,7)	53 (42,7)	2,2	0,137
	Pro/Pro	6 (11,5)	33 (26,6)	4,8	0,028
<i>Каспаза 8</i> (rs3834129)	Del/del	17 (32,7)	41 (33,1)	0,002	0,961
	Ins/del	24 (46,1)	60 (48,4)	0,073	0,786
	Ins/Ins	11 (21,2)	23 (18,5)	0,159	0,689
<i>Каспаза 8</i> (rs1045485)	G/G	40 (76,9)	93 (75,0)	0,073	0,786
	G/C	10 (19,2)	28 (22,6)	0,242	0,622
	C/C	1 (1,9)	3 (2,4)	0,041	0,840

Таким образом, наличие генотипа Arg/Arg полиморфизма Arg72Pro экзон 4 гена *p53* ассоциировалось с поражением миокарда при проведении полихимиотерапии ($OR=2,972$; 95%С.И.=1,523-5,797; $p=0,001$), тогда как генотип Pro/Pro значимо чаще встречался во второй группе пациенток, что свидетельствует о протективном влиянии ($OR=0,360$; 95%С.И.=0,141-0,920; $p=0,028$) данного генотипа на развитие кардиотоксического поражения сердца (табл. 15).

Выполненный анализ не выявил значимых различий в распределении частот носительства генотипов полиморфизмов rs3834129 и rs1045485 гена *каспазы 8* в исследованных группах.

При изучении влияния различных вариантов носительства генотипов полиморфизма Arg72Pro экзона 4 гена *p53* на структурно-функциональные показатели ЛЖ по данным Эхо-КГ были определены различия таких показателей ремоделирования миокарда ЛЖ, как ФВ ЛЖ и КДР ЛЖ. У больных с генотипом

Arg/Arg ФВ ЛЖ оказалась сниженной (на 7,5%) по сравнению с таковой у женщин с генотипом Pro/Pro ($p=0,007$), а КДР у носителей генотипа Arg/Arg был выше на 9,2% ($p=0,002$) над данным показателем при наличии генотипа Pro/Pro (табл. 16).

Таблица 15

Прогностическая значимость генотипов гена белка *p53* и гена *каспазы 8* в оценке риска развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности

Ген	Генотип	Odds Ratio	95% CI	p-value
<i>P53</i> (Arg72Pro экзон 4, rs1042522)	Arg/Arg	2,9720	1,523-5,7971	0,0014
	Arg/Pro	0,5954	0,2992-1,1847	0,1396
	Pro/Pro	0,3597	0,1406-0,9202	0,0329
<i>Каспаза 8</i> , rs3834129	Del/del	0,9833	0,4933-1,9598	0,9618
	Ins/del	0,9143	0,4777-1,7498	0,7867
	Ins/ins	1,1782	0,5267-2,6351	0,6898
<i>Каспаза 8</i> , rs1045485	G/G	1,1111	0,5183-2,3818	0,7865
	G/C	0,8163	0,3639-1,8313	0,6225
	C/C	0,7908	0,0804-7,7838	0,8406

Таблица 15

Взаимосвязь нарушений внутрисердечной гемодинамики с генотипами гена *p53* через 12 месяцев после завершения ПХТ (Me [Q25; Q75])

Эхо-КГ показатели	Генотипы гена <i>p53</i> (Arg72Pro ex4)			p-value
	Генотип Arg/Arg (n=68)	Генотип Arg/Pro (n=69)	Генотип Pro/Pro (n=39)	
КДР (мм)	47,5 [46; 50]	44,5 [43; 46]	43,5 [41; 46]	0,0023
КСР (мм)	32 [30; 34]	32 [30; 33,5]	31,5 [28; 33]	0,0670
ФВ %	60 [55,5; 63]	64 [61; 67]	64,5 [62; 68]	0,0065
МЖП (мм)	10,5 [10; 11]	10,5 [9; 11]	10 [9; 11]	0,165
ЗСЛЖ (мм)	11 [10; 12]	10,5 [10; 11]	10,5 [10; 11]	0,218

Примечание. ПХТ - полихимиотерапия, КДР – конечный диастолический размер, КСР – конечный систолический размер, ФВ – фракция выброса, МЖП – межжелудочковая перегородка, ЗСЛЖ – задняя стенка левого желудочка.

Результаты проведенного нами исследования убедительно продемонстрировали, что полиморфизм транскрипционного гена ДНК-активированного протеина *p53* у пациентов с раком молочной железы ассоциирован с высоким индивидуальным риском развития кардиотоксического поражения миокарда при проведении ПХТ с использованием антрациклинов. Так, носительство генотипа Arg/Arg полиморфизма Arg72Pro экзона 4 гена *p53* ассоциировано с высокой интенсивностью процессов ремоделирования миокарда, вероятно определяя повышенную индукцию апоптоза, как механизма, определяющего развитие систолической и диастолической дисфункции миокарда. В тоже время, генотип Pro/Pro проявил себя как протективный фактор в отношении развития патологии. Это может иметь важное значение для использования данного полиморфизма в качестве маркера риска развития антрациклиновой кардиотоксичности.

Таким образом, носители генотипа Arg/Arg полиморфизма Arg72Pro экзон 4 гена *p53* представляют группу высокого индивидуального риска развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности. Поэтому данные пациентки представляют приоритетную группу больных с РМЖ, которая требует интенсивного наблюдения с организацией профилактических мероприятий, направленных на повышение качества жизни больных и снижение у них высокой преждевременной смертности.

Результаты проведенного исследования показали, что генотип Arg/Arg гена белка апоптоза *p53* (полиморфизм Arg72Pro экзон 4, rs1042522) ассоциирован с выраженными нарушениями инотропной функции сердца и структурными изменениями левого желудочка.

Ремоделирование миокарда при ХСН может носить приспособительный характер, приводя к уменьшению размеров полости ЛЖ, сохранению его цилиндрической, способствуя поддержанию сократительной способности левого желудочка. Однако, в случае развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности ремоделирование сопровождается прогрессирующей дилатацией полости ЛЖ и, как следствие, к снижению контрактильной функции

миокарда. Данные морфофункциональные изменения являются дезадаптивными, способствуют появлению клинических симптомов и признаков ХСН даже в отдаленном периоде после завершения терапии опухолевого процесса антрациклиновыми антибиотиками.

Таким образом, механизм дезадаптивного характера ремоделирования, вероятно, зависит от сложного взаимодействия определяющих его факторов, включающих и апоптоз кардиомиоцитов, степень активности которого может зависеть от полиморфизма генов белков апоптоза.

3.2.2. Роль полиморфизмов генов про- и антиоксидантной систем в развитии антрациклин-индуцированной кардиотоксичности

Проблема программируемой гибели кардиомиоцитов многогранна и оценка влияния генов про- и антиоксидантной систем в патогенезе кардиотоксического ремоделирования миокарда и апоптоза является одной из актуальных проблем современной биологии и клинической медицины. Известно, что реактивные формы кислорода и окислительные процессы, которые они запускают, оказывают выраженное влияние на инициацию и течение апоптоза. В тоже время многокомпонентная система антиоксидантной защиты модифицирует активность прооксидантов, ингибируя повреждающее воздействие последних на клетку. При различных вариантах активации апоптоза выявлено снижение активности антиоксидантной защиты клеток [186]. Программированная гибель клеток часто сопровождается продукцией реактивных форм кислорода, которые могут принимать участие на любом этапе цепи регуляции процесса апоптоза [104]. В результате индукции апоптоза под действием активных форм кислорода происходит активация, прежде всего, каспаз [134]. Убедительно показано, что нейтрализация свободных радикалов кислорода предотвращает активацию каспаз, что убеждает в важном значении активных форм кислорода в качестве сигнальных молекул апоптоза [199].

Система антиоксидантной защиты нейтрализует активные радикалы кислорода, защищая, тем самым, клеточную мембрану от их деструктивного воздействия [18]. Система антиоксидантной защиты клеток представляет собой многокомпонентную сеть биологически активных веществ, состоящую как из ферментных так и неферментных компонентов. К антиоксидантным ферментам относятся: супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза, каталаза, глутатионтрансфераза, глутатионредуктаза. Кроме того, активными антиоксидантными свойствами обладают витамины С, Е и А, убихинон, бета-каротин, селен и т.д., низкомолекулярные (мочевая кислота, билирубин, глутатион) легкоокисляющиеся вещества, металлсвязывающие белки плазмы крови (ферритин, церулоплазмин, лактоферрин) и альбумин [18, 119]. При долговременной активации прооксидантной системы наблюдается истощение протективных влияний системы антиоксидантов, и появляется дисбаланс между системами про- и антиоксидантов в сторону прооксидантов, что в итоге приводит к развитию окислительного стресса. Понижение буферных свойств антиоксидантной системы или же ее несостоятельность приводит к активации процессов перекисного окисления липидов, что, в конечном результате, определяет активность мембранопатологических процессов [18]. Соответственно, исследования, нацеленные на изучения роли системы про- и антиоксидантов в инициации и последующем развитии антрациклин-индуцированной кардиотоксичности, являются актуальной научно-практической задачей.

Нами исследованы полиморфизмы rs1050450 гена глутатионпероксидазы (*GPX1*), rs4880 гена супероксиддисмутазы (*SOD2*) и rs4673 гена *NADPH-оксидазы*.

Глутатионпероксидаза - протеин, в составе активного центра которого находится селен; относится к семейству ферментов, обладающих защитным действием, предупреждающим окислительное повреждение клеток [17]. Основной функцией фермента является протекция мембран клеток и внутриклеточных органелл от повреждающего окислительного воздействия перекисями водорода,

гидроперекисями жирных кислот и фосфатидилхолина, органическими гидроперекисями [147].

Определено несколько изоферментов GPX, которые кодируются разными генами. Изоформы различаются по их локализации внутри клетки и субстратной специфичности. Глутатионпероксидаза-1 (GPX1) является самой распространенной формой фермента, которая функционирует в цитоплазме клеток практически всех тканей; субстратом для для взаимодействия GPX1 является пероксид водорода [165].

Ген *GPX1* расположен в 3-й хромосоме. Установлено, что вариант 198Leu (полиморфизм rs1050450) гена *GPX1*, характеризуется наличием аминокислоты лейцин в положении 198 полипептидной цепи протеина, что сопровождается снижением ферментативной активности на 40% по сравнению с активностью белка, кодируемого аллелем 198Pro (в 198 положении находится пролин) [9, 31]. Генетическая изменчивость *GPX1* может сопровождаться индивидуальными особенностями дезактивации высокотоксичных продуктов свободнорадикального окисления. На основании этих данных, можно предположить, что наличие фермента с лейцином в 198-й позиции может приводить только к частичной нейтрализации гидроперекисей как основных субстратов для глутатионпероксидазы-1 у носителей полиморфизма 198Leu.

Супероксиддисмутаза (SOD) относится к группе антиоксидантных ферментов. SOD осуществляет активацию превращения супероксида в кислород и перекись водорода, которая далее расщепляется под воздействием GPX1 и каталазы до воды [26]. В организме человека представлены три типа SOD. SOD1 локализуется в цитоплазме, SOD2 - в митохондриях, а SOD3 - это внеклеточная форма. SOD1 и SOD3 содержат медь в активном центре и цинк, являющийся структурным компонентом, а функциональная активность SOD2 предопределяется наличием марганца в активном центре белка [20].

На внутренней мембране клеток располагается электрон-транспортная дыхательная цепь, 5 процентов электронов которой генерируют образование супероксидных радикалов. Вследствие этого, митохондрии подвергаются

окислительному воздействию, и, следовательно, функциональная активность SOD2 играет важную роль в защите клеток от оксидативного стресса [20].

Ген *SOD2*, кодирующий данный белок, расположен на хромосоме 6q25.3 и представлен пятью экзонами. Показано, что активность SOD2 зависит от полиморфизма Ala16Val (rs4880), который определяет вторичную структуру фермента и приводит к нарушению его альфа-спирального участка и, следовательно, может оказывать влияние на перенос фермента из цитоплазмы в митохондриальный матрикс, что сопровождается скоплением супероксид-аниона в митохондриях и, следовательно, к повышенному повреждающему воздействию, индуцированных супероксидом. Данный полиморфизм может приводить к относительному или абсолютному внутримитохондриальному дефициту фермента [181]. Установлено, что активность SOD2, содержащей аланин в 16-й позиции (аллель С) выше, чем содержащей валин (аллель Т). Следовательно, наличие генотипов С/С и С/Т гена *SOD2* детерминирует повышенную активность фермента, чем носительство генотипа Т/Т [132].

Другим механизмом инициации апоптоза и развития эндотелиальной дисфункции является активация NADPH-оксидазы [89]. Известно, что активация NADPH-оксидазы ингибирует выработку NO посредством повышенной экспрессии AT1-рецепторов ангиотензина II, а также развития оксидативного стресса и накопления кислородных радикалов, что играет важную роль в развитии кардиомиопатии того или иного генеза.

Фермент NADPH-оксидаза связан с мембранами, состоит из 5 субъединиц, участвует в процессе катализации кислорода, используя электроны NADH или NADPH. Одна из его субъединиц, названная p22-phox, экспрессируется в гладких мышцах сосудов и эндотелиальных клетках, и активность этого компонента может быть ключевым фактором, определяющим образование супероксида сосудистой NADPH-оксидазой. Было обнаружено несколько полиморфизмов гена, расположенного на 16 хромосоме; некоторые из полиморфизмов взаимосвязаны с сердечно-сосудистыми заболеваниями. Наиболее изучен полиморфизм, который заключается в точечной мутации (C242T), приводящей к

замене гистидина тирозином в 72-й позиции, что меняет структурный компонент, определяющий активность NADPH-оксидазы. Данный полиморфный локус может влиять на продукцию активных форм кислорода, изменяя риск развития сердечно-сосудистых заболеваний [16, 100, 144, 221].

Распределение частот встречаемости генотипов гена *GPX1* (rs1050450), гена *SOD2* (rs4880) и гена *NADPH-оксидазы* (rs4673) в исследованных группах соответствовало ожидаемому при определении равновесия Харди–Вайнберга (табл. 17).

Таблица 17

Встречаемость генотипов генов *GPX1*, *SOD2* и *NADPH-оксидазы* в исследованных группах (n, %)

Ген	Генотип	Группа 1 (n=52)	Группа 2 (n=124)	χ^2 Пирсона	p-value
<i>GPX1</i> (rs1050450)	C/C	21 (40,4)	74 (59,7)	5,48	0,019
	C/T	25 (48,1)	44 (35,5)	2,43	0,118
	T/T	6 (11,5)	6 (4,8)	2,58	0,107
<i>SOD2</i> , rs4880	C/C	10 (19,2)	41 (33,1)	3,406	0,064
	C/T	25 (48,1)	59 (44,6)	0,003	0,952
	T/T	17 (32,7)	24 (19,4)	3,641	0,056
<i>NADPH-оксидаза</i> (rs4673)	C/C	13 (25,0)	43 (34,7)	1,34	0,246
	C/T	21 (40,4)	61 (49,2)	1,142	0,285
	T/T	18 (34,6)	20 (16,1)	7,395	0,006

Примечание. *GPX1* - глутатионпероксидаза, *SOD2* - супероксиддисмутаза.

При анализе распределения частот встречаемости генотипов гена *GPX1* установлены различия по сравнению в исследованных группах. Оказалось, что у больных с развившейся кардиотоксичностью по сравнению с группой женщин без проявлений сердечно-сосудистых осложнений ПХТ частота встречаемости генотипа C/C была достоверно ниже (40,4% против 58,1%, $p=0,019$). В то же время, генотип T/T гена *NADPH-оксидазы* существенно чаще (34,6% и 16,1%,

соответственно, $p=0,006$) встречался в группе 1 с развитием поражения миокарда после терапии с использованием антрациклинов.

Таким образом, наличие генотипа Т/Т полиморфизма rs4673 гена *NADPH-оксидазы* было ассоциировано с поражением миокарда при проведении полихимиотерапии ($OR=2,753$; $95\%C.I.=1,307-5,801$; $p=0,008$), тогда как генотип С/С гена *GPX1* (rs1050450) значимо чаще встречался во второй группе пациенток, что свидетельствовало о протективном влиянии ($OR=0,458$; $95\%C.I.=0,237-0,886$; $p=0,020$) данного генотипа на развитие кардиотоксического поражения сердца (табл. 18).

Таблица 18

Прогностическая значимость генотипов гена *GPX1*, *SOD2* и *NADPH-оксидазы* в оценке риска развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности

Ген	Генотип	Odds Ratio	95% CI	p-value
<i>GPX1</i> (rs1050450)	C/C	0,4577	0,2366-0,8856	0,0203
	C/T	1,6835	0,8730-3,2465	0,1200
	T/T	2,5652	0,7868-8,3630	0,1182
<i>SOD2</i> , rs4880	C/C	0,4820	0,2199-1,0563	0,0683
	C/T	1,0201	0,5335-1,9505	0,9520
	TT	2,0238	0,9744-4,2034	0,0587
<i>NADPH-оксидаза</i> (rs4673)	C/C	0,6508	0,3137-1,3499	0,2485
	C/T	0,6996	0,3629-1,3487	0,2861
	T/T	2,7529	1,3066-5,8005	0,0077

Примечание. *GPX1* - глутатионпероксидаза, *SOD2* - супероксиддисмутаза.

Проведенное исследование не выявило значимых различий в распределении частот встречаемости генотипов полиморфизма rs4880 *SOD2* в исследованных группах.

Оценка влияния различных генотипов полиморфизма rs1050450 гена *GPX1* на структурно-функциональные показатели ЛЖ по данным Эхо-КГ обнаружила различия таких показателей ремоделирования миокарда ЛЖ, как ФВ ЛЖ и КДР

ЛЖ. У больных с генотипом Т/Т ФВ ЛЖ оказалась сниженной (на 8,5%, $p=0,009$), а КДР - повышенным (на 3,4%, $p=0,044$) по сравнению с таковыми у женщин с генотипом С/С (табл. 19).

Таблица 19

Взаимосвязь нарушений внутрисердечной гемодинамики с генотипами гена *GPX1* через 12 месяцев после завершения ПХТ (Me [Q25; Q75])

Эхо-КГ показатели	Генотипы гена <i>GPX1</i> (rs1050450)			p-value
	Генотип С/С (n=95)	Генотип С/Т (n=69)	Генотип Т/Т (n=12)	
КДР (мм)	44,5 [42; 46,5]	45,5 [43,5; 48]	46 [43; 50]	0,0443
КСР (мм)	32 [29,5; 34]	32 [30; 33,5]	32 [30; 34]	0,342
ФВ %	64 [60,5; 68]	62 [57; 67]	59 [54,5; 64]	0,009
МЖП (мм)	10,5 [9,5; 11]	10,5 [9,5; 11,5]	10,5 [9; 11,5]	0,567
ЗСЛЖ (мм)	10,5 [9,5; 11]	10,5 [9,5; 11,5]	10,5 [9,5; 11,5]	0,634

Примечание. *GPX1* - глутатионпероксидаза, ПХТ - полихимиотерапия, КДР – конечный диастолический размер, КСР – конечный систолический размер, ФВ – фракция выброса, МЖП – межжелудочковая перегородка, ЗСЛЖ – задняя стенка левого желудочка.

Оценка влияния различных генотипов полиморфизма rs4673 гена *NADPH-оксидазы* на структурно-функциональные показатели ЛЖ по данным Эхо-КГ обнаружила незначимое различие ФВ ЛЖ: у больных с генотипом Т/Т ФВ ЛЖ оказалась сниженной (на 2,4%, $p=0,096$) по сравнению с таковой у женщин с генотипом С/С (табл. 20).

Таким образом, результаты исследования показывают четкие ассоциативные взаимосвязи генотипа Т/Т гена *NADPH-оксидазы* с развитием кардиотоксического ремоделирования миокарда, отягощенного развитием сердечной недостаточности. В то же время, генотип С/С гена *GPX1* снижал риск развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности.

Таблица 20

Взаимосвязь нарушений внутрисердечной гемодинамики с генотипами гена *NADPH-оксидазы* через 12 месяцев после завершения ПХТ (Me [Q25; Q75])

Эхо-КГ показатели	Генотипы гена <i>NADPH-оксидазы</i> (rs4673)			p-value
	Генотип C/C (n=56)	Генотип C/T (n=82)	Генотип T/T (n=38)	
КДР (мм)	44,5 [42; 46,5]	45 [43; 47]	45 [43; 48]	0,268
КСР (мм)	31,5 [29; 34,5]	32 [30,5; 34]	32,5 [31; 34,5]	0,139
ФВ %	63 [60; 66,5]	63 [59; 67]	61,5 [57; 65,5]	0,096
МЖП (мм)	10,5 [9; 11,5]	10,5 [9; 11,5]	10 [9; 11,5]	0,485
ЗСЛЖ (мм)	10,5 [9,5; 11,5]	10,5 [9,5; 11,5]	10,5 [9,5; 11,5]	0,846

Примечание. ПХТ - полихимиотерапия, КДР – конечный диастолический размер, КСР – конечный систолический размер, ФВ – фракция выброса, МЖП – межжелудочковая перегородка, ЗСЛЖ – задняя стенка левого желудочка.

Полученные выраженные различия по частотам встречаемости исследованных нами генетических признаков между группами пациенток после ПХТ с использованием антрациклинов позволяют рекомендовать более широкое применение в кардиологической практике разработанных критериев ранней диагностики – генетических факторов риска антрациклин-индуцированной кардиотоксичности, обеспечивая надежное выявление больных высокого риска для более активного профилактического терапевтического воздействия. Носители генотипа T/T полиморфного локуса гена *NADPH-оксидазы* (rs4673) представляют особую популяцию высокого риска развития кардиотоксического поражения миокарда, поэтому именно эти пациенты составляют, прежде всего, приоритетную группу интенсивного наблюдения с организацией целевых профилактических мероприятий, направленных на снижение риска развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности. При этом для носителей генотипа C/C гена *GPX1* (rs1050450) ПХТ с использованием антрациклинов является относительно безопасной.

3.2.3. Оценка роли полиморфных вариантов генов эндотелиальной NO-синтазы и рецептора эндотелина-1 в прогнозировании риска развития сердечной недостаточности, индуцированной кардиотоксичностью химиотерапии

Возможным патогенетическим механизмом развития кардиотоксичности химиотерапии и её осложнений является эндотелиальная дисфункция [30]. При эндотелиальной дисфункции снижается выработка оксида азота (NO), в связи с этим важным представляется изучение генетических механизмов, ответственных за эти нарушения на ранних и более поздних стадиях развития патологии. Известно, что выработка NO регулируется ферментами семейства NO-синтаз, которые представлены эндотелиальной NO-синтазой (NOS3), конституциональной NOS нервной ткани и индуцибельной NOS [5, 16, 21, 30].

Исследователями активно изучается патогенетическая роль полиморфного локуса Glu298Asp гена эндотелиальной NOS3, расположенного на 7 хромосоме, в развитии сердечно-сосудистых заболеваний. Ряд исследований показал, что у людей с генотипом T/T более высок риск ишемической болезни сердца, инфаркта миокарда и ишемического инсульта. Оценивалось влияние данного полиморфного варианта на развитие дисфункции эндотелия, гипертрофии миокарда при артериальной гипертензии, взаимосвязь такового с факторами риска ишемической кардиомиопатии и СН, с отдаленным прогнозом и смертностью [50, 58]. Установлены противоречивые данные исследований в различных популяциях пациентов.

Одним из главных патогенетических путей развития эндотелиальной дисфункции является увеличение образования и биологической активности мощного вазоконстриктора и провоспалительного пептида эндотелина-1 [45], который опосредует собственные эффекты посредством связывания с двумя подтипами рецепторов - рецептора эндотелина-1 типа А (EDNRA) и рецептора эндотелина-1 типа В) [169].

Функциональных исследований полиморфного локуса C+70G гена *EDNRA*, расположенного на 4 хромосоме, не существует, однако несколько клинических исследований продемонстрировали ассоциацию этого локуса с повышенным риском развития артериальной гипертензии [164] и уровнем эндотелина-1 в плазме крови [155]. Можно предположить, что изменения в нуклеотидной последовательности данного локуса гена *EDNRA* может определять стабильность мРНК и, таким образом, влиять на количество рецепторного белка [40].

В работе нами были исследованы полиморфизмы генов *NOS3* (Glu298Asp, rs1799983) и *EDNRA* (C+70G, rs5335).

Распределение частот встречаемости генотипов полиморфизма Glu298Asp (rs1799983) гена *NOS3* и полиморфизма C+70G (rs5335) гена *EDNRA* в исследованных группах соответствовало ожидаемому при определении равновесия Харди–Вайнберга (табл. 21).

Таблица 21

Встречаемость генотипов генов *NOS3* и *EDNRA* в исследованных группах (n, %)

Ген	Генотип	Группа 1 (n=52)	Группа 2 (n=124)	χ^2 Пирсона	p-value
<i>NOS3</i> (rs1799983)	G/G	22 (42,3)	72 (58,1)	3,65	0,058
	G/T	19 (36,5)	42 (34,7)	0,115	0,734
	T/T	11 (21,5)	10 (8,1)	5,97	0,014
<i>EDNRA</i> (rs5335)	G/G	10 (19,2)	22 (17,7)	0,102	0,775
	C/G	28 (53,8)	71 (57,3)	0,173	0,677
	C/C	14 (26,9)	31 (25,0)	0,123	0,702

Примечание. *NOS3* - эндотелиальная NO-синтаза, *EDNRA* - рецептор эндотелина-1 типа А.

Анализ распределения частот встречаемости генотипов гена *NOS3* (Glu298Asp) выявил различия в исследованных группах. Оказалось, что в у больных с развившейся кардиотоксичностью по сравнению с группой женщин без проявлений сердечно-сосудистых осложнений ПХТ частота встречаемости генотипа Т/Т была достоверно выше (21,5% против 8,1%, $p=0,014$).

Таким образом, наличие генотипа Т/Т полиморфного локуса Glu298Asp (rs1799983) гена *NOS3* было ассоциировано с поражением миокарда при проведении полихимиотерапии (OR=3,059; 95%С.І.=1,209-7,735; p=0,018) (табл. 22).

Таблица 22

Прогностическая значимость генотипов генов *NOS3* и *EDNRA* в оценке риска развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности

Ген	Генотип	Odds Ratio	95% CI	p-value
<i>NOS3</i> (rs1799983)	G/G	0,5296	0,2749-1,0203	0,0574
	G/T	1,1241	0,5718-2,2099	0,7345
	T/T	3,0585	1,2094-7,7348	0,0182
<i>EDNRA</i> (rs5335)	G/G	1,10	0,4826–2,5341	0,8242
	C/G	0,8709	0,4542-1,6700	0,6773
	C/C	1,1154	0,5372 – 2,3156	0,8176

Примечание. *NOS3* - эндотелиальная NO-синтаза, *EDNRA* - рецептор эндотелина-1 типа А.

Проведенное исследование не выявило значимых различий в распределении частот встречаемости генотипов полиморфизма С+70G (rs5335) гена *EDNRA* в исследованных группах.

Оценка влияния различных генотипов полиморфного локуса Glu298Asp гена *NOS3* на структурно-функциональные показатели ЛЖ по данным Эхо-КГ обнаружила различия таких показателей ремоделирования миокарда ЛЖ, как ФВ ЛЖ, КДР ЛЖ и КСР ЛЖ. У больных с генотипом Т/Т ФВ ЛЖ оказалась сниженной на 6,7% (p=0,019), а КДР и КСР, напротив, были повышены на 9,1% (p=0,001) и 8,1% (p=0,006), соответственно, по сравнению с таковыми у женщин с генотипом G/G (табл. 23).

Механизм токсического действия антрациклинов обусловлен множественным воздействием на кардиомиоциты, включая апоптоз, нарушение кальциевого гомеостаза и митохондриальную дисфункцию [117]. Еще важными механизмами повреждения сердца антрациклинами является активация

перекисного окисления липидов [43] и дисфункция эндотелия [30]. Влиянии последней на развитие кардиотоксического повреждения миокарда косвенно подтверждают установленные корреляционные взаимосвязи между ростом биомаркеров эндотелиальной дисфункции и снижением сократительной способности сердца [25].

Таблица 23

Взаимосвязь нарушений внутрисердечной гемодинамики с генотипами гена *NOS3* через 12 месяцев после завершения ПХТ (Me [Q25; Q75])

Эхо-КГ показатели	Генотипы гена <i>NOS3</i> (Glu298Asp)			p-value
	Генотип G/G (n=94)	Генотип G/T (n=61)	Генотип T/T (n=21)	
КДР (мм)	44 [41; 46,5]	45 [41; 48]	48 [45; 50,5]	0,0014
КСР (мм)	31 [29,5; 33,5]	32 [30; 33,5]	33,5 [32; 35]	0,0055
ФВ %	63,5 [61; 67]	62 [58; 66,5]	59,5 [54; 64,5]	0,0191
МЖП (мм)	10,5 [9; 11,5]	10 [9; 11]	10,5 [9,5; 11,5]	0,182
ЗСЛЖ (мм)	10,5 [9,5; 11,5]	10,5 [9,5; 11]	10,5 [10,5; 11,5]	0,426

Примечание. *NOS3* - эндотелиальная NO-синтаза, ПХТ - полихимиотерапия, КДР – конечный диастолический размер, КСР – конечный систолический размер, ФВ – фракция выброса, МЖП – межжелудочковая перегородка, ЗСЛЖ – задняя стенка левого желудочка.

Нами изучен ген *NOS3*, на характер работы которого может влиять замена азотистого основания гуанина (G) на тимин (T) в позиции 894 последовательности ДНК (полиморфный локус Glu298Asp). В результате такого замещения в аминокислотной последовательности белка глутаминовая аминокислота в позиции 298 заменяется на аспарагиновую. Маркер связан с изменением продукции NO. Генотипы G/T и T/T, ассоциированные со снижением активности NO-синтазы, предрасполагают к развитию сердечно-сосудистых заболеваний и их осложнений [30, 50]. Соответственно, можно предположить, что в нашем исследовании у носителей генотипа T/T нарушена выработка NO, в результате чего развивается дисфункция эндотелия, способствующая развитию антрациклин-индуцированного повреждения миокарда.

Таким образом, результаты проведенного исследования позволили установить важные детерминанты функционирования сердца после лечения опухолевого процесса антрациклинами в условиях нарастания кардиотоксического ремоделирования миокарда. Так, носительство генотипа T/T полиморфного локуса Glu298Asp гена *NOS3* ассоциируется с повышенным риском развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности, патогенетически сопряженной с прогрессивно нарастающим ремоделированием миокарда, клинически детерминировавших нарастание эндотелиальной дисфункции с систолической дисфункцией.

Полученные фундаментальные данные имеют исключительно важное теоретическое и большое практическое значение, поскольку на основе разрабатываемых новых более точных, эффективных и безопасных генетических протоколов прогнозирования развития антрациклиновой кардиомиопатии, характеризующейся весьма низкой эффективностью первичной и вторичной профилактики и высокой летальностью, сопоставимой с онкологической патологией, возможна необходимая ранняя персонифицированная диагностика развития патологии, предусматривающая дальнейшую своевременную эффективную целевую профилактику и лечение с использованием новейших достижений инновационной медицины, направленных на существенное улучшение качества жизни и выживаемости пациенток с РМЖ.

3.2.4. Роль полиморфных вариантов генов ФНО- α и интерлейкина-1 β при развитии антрациклин-индуцированной кардиотоксичности

В настоящее время в современной клинической кардиологии не вызывает сомнений участие системы провоспалительных цитокинов в патогенезе поражения миокарда при различных патологических процессах [29, 63, 224].

Интерлейкин 1 (ИЛ-1) – один из основных регуляторных факторов, обладающий не менее 50 различными биологическими функциями, а его мишенями служат клетки практически всех органов и тканей [74]. Интерлейкин - 1 β (ИЛ-1 β), входящий в состав семейства ИЛ-1, представляет собой секреторный

цитокин, осуществляющий как локальное действие на ткани, так и функционирующий на системном уровне.

Одним из наиболее изученных полиморфизмов гена *ИЛ-1 β* является полиморфизм в позиции +3953 в 5 экзоне гена (rs1143634). Аллель С (+3953) представляет собой более распространенный вариант в большинстве популяций [114]. Менее часто встречаемый аллель Т ассоциирован с повышенной секрецией ИЛ-1 β [73].

ФНО- α - еще один провоспалительный цитокин, который может играть важную патогенетическую роль в развитии сердечно-сосудистой патологии. Ген *ФНО- α* расположен в хромосоме 6p21.3. Установлены более 30 полиморфных вариантов гена, но только около половины из них влияют на экспрессию ФНО- α *in vitro* [219]. Наибольший интерес исследователей связан с полиморфизмом – 308G/A (rs1800629), который локализован в промоторной части гена. Замена гуанидина на аденин в данном случае приводит к повышению экспрессии гена *in vitro*. Носительство аллеля 308А связано с более высоким уровнем ФНО- α , по сравнению с гомозиготами по аллелю G [129, 220].

Распределение частот встречаемости генотипов полиморфизма 308G/A (rs1800629) гена *ФНО- α* и полиморфизма +3953 (rs1143634) гена *ИЛ-1 β* в исследованных группах соответствовало ожидаемому при равновесии Харди–Вайнберга. Проведенное исследование не выявило значимых различий в распределении частот встречаемости генотипов полиморфизма 308G/A (rs1800629) гена *ФНО- α* и полиморфизма +3953 (rs1143634) гена *ИЛ-1 β* в исследованных группах (табл. 24-25).

Складывается мнение, что полиморфизмы 308G/A (rs1800629) гена *ФНО- α* и +3953 (rs1143634) гена *ИЛ-1 β* не взаимосвязаны с выраженностью нарушений сосудодвигательной функции эндотелия, а также с показателями внутрисердечной гемодинамики и структурными изменениями ЛЖ ишемического генеза на этапах развития ХСН. Вместе с тем, для окончательного решения этого сложного вопроса, важного для клинической практики, необходимы более солидные хорошо спланированные рандомизированные, клинически и

молекулярно-генетически контролируемые длительные проспективные исследования.

Таблица 24

Частоты встречаемости генотипов генов *ФНО-α* и *ИЛ-1β* в исследованных группах (n, %)

Ген	Генотип	Группа 1 (n=52)	Группа 2 (n=124)	χ ² Пирсона	p-value
<i>ФНО-α</i> (rs1800629)	G/G	41 (78,8)	95 (76,6)	0,104	0,747
	G/A	9 (17,3)	25 (20,2)	0,114	0,661
	A/A	2 (3,8)	4 (3,2)	0,428	0,836
<i>ИЛ-1β</i> (rs1143634)	C/C	29 (55,8)	61 (49,2)	0,634	0,425
	C/T	18 (34,6)	48 (38,7)	0,262	0,608
	T/T	5 (9,6)	15 (12,1)	0,224	0,636

Примечание. *ФНО-α* - фактор некроза опухоли-α, *ИЛ-1β* - интерлейкин-1β.

Таблица 25

Прогностическая значимость генотипов генов *ФНО-α* и *ИЛ-1β* в оценке риска развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности

Ген	Генотип	Odds Ratio	95% CI	p-value
<i>ФНО-α</i> (rs1800629)	G/G	1,1378	0,5191-2,4939	0,7471
	G/A	0,8288	0,3572-1,9234	0,6620
	A/A	1,2000	0,2129-6,7633	0,8363
<i>ИЛ-1β</i> (rs1143634)	C/C	1,3022	0,6793-2,4963	0,4264
	C/T	0,8382	0,4264-1,6480	0,6089
	T/T	0,7730	0,2656-2,2501	0,6368

Примечание. *ФНО-α* - фактор некроза опухоли-α, *ИЛ-1β* - интерлейкин-1β.

3.3. Прогностическое и патогенетическое значение биомаркеров при развитии кардиотоксичности антрациклиновой химиотерапии

3.3.1. Влияние растворимого Fas-лиганда на развитие антрациклин-индуцированной кардиотоксичности и его прогностическое значение

В естественных условиях растворимая форма Fas-L (sFas-L) образуется в процессе ферментативного расщепления, с участием металлопротеиназы [200]. Образующаяся в результате этого процесса форма sFas-L, стимулирует запрограммированную гибель клеток, имеющие специфические рецепторы к sFas-L. Выявлено, что внешний путь индукции апоптоза начинается с кооперации экспрессированных на поверхности клеточной мембраны белков, относящихся к семейству Fas-рецепторов (Fas-R) со специальными лигандами (Fas-L) [4]. В функционировании системы Fas-R/Fas-L существенным является уровень их экспрессии на клеточной мембране, а также способность клеток синтезировать данные протеины и аккумулировать их в цитоплазме [38].

Работ по изучению плазменной активности системы Fas-L с показателями структурно-функционального состояния сердца у больных с антрациклин-индуцированной кардиотоксичностью, свидетельствующими об уровне активности процессов программируемой гибели клеток крайне мало. Кроме того, на сегодняшний день роль Fas-L в процессах апоптоза кардиомиоцитов в патогенезе антрациклиновой кардиомиопатии пока не ясна.

В связи с этим, оценка тонких патогенетических механизмов дисфункции сердца на фоне кардиотоксического действия антрациклинов во взаимосвязи с молекулярными механизмами апоптоза кардиомиоцитов по сывороточному уровню sFas-L представляется исключительно актуальной и важной с практической и теоретической точек зрения.

Концентрация sFas-L после окончания противоопухолевой ПХТ у больных 1-й группы была значимо выше по сравнению с аналогичным показателем во 2-й группе (125,3 пг/мл [111,85; 133,95] против 69,8 пг/мл [59,8; 77,6], $p=0,001$), а также по сравнению с исходным показателем (125,3 пг/мл [111,85; 133,95] против 72,2 пг/мл [63,1; 81,95], $p=0,001$) (табл. 26-27).

Таблица 26

Динамика уровней sFas-L в исследованных группах (Me [Q25; Q75])

Показатель	До начала ПХТ			После окончания ПХТ			Через 12 месяцев после окончания ПХТ		
	Группа 1 (n=52)	Группа 2 (n=124)	p-value U- критери и Манна- Уитни	Группа 1 (n=52)	Группа 2 (n=124)	p-value U- критерии Манна- Уитни	Группа 1 (n=52)	Группа 2 (n=124)	p-value U- критерии Манна- Уитни
sFas-L (пг/мл)	72,2 [63,1; 81,95]	70,7 [59,5; 81,1]	0,149	125,3 [111,85; 133,95]	69,8 [59,8; 77,6]	<0,000001	107,75 [99,1; 114,7]	56,85 [48,85; 65,9]	<0,000001

Примечание. ПХТ – полихимиотерапия, sFas-L - растворимый Fas-лиганд.

Таблица 27

Результаты межгруппового сравнительного анализа уровней sFas-L у участников исследования на этапах проспективного наблюдения

Показатель	Критерий Фридмана		p-value (Wilcoxon Matched Pairs) с поправкой Бонферрони					
	Группа 1 (n=52)	Группа 2 (n=124)	1-2		2-3		1-3	
			Группа 1 (n=52)	Группа 2 (n=124)	Группа 1 (n=52)	Группа 2 (n=124)	Группа 1 (n=52)	Группа 2 (n=124)
sFas-L (1-3)	<0,000001	<0,000001	<0,000001	0,957	0,000002	<0,000001	<0,000001	<0,000001

Примечание. ПХТ – полихимиотерапия, sFas-L - растворимый Fas-лиганд, 1 - точка до начала ПХТ, 2 - точка после окончания ПХТ, 3 - точка через 12 месяцев после окончания ПХТ.

Через 12 месяцев после окончания ПХТ уровень sFas-L в 1-группе женщин с развившейся антрациклин-индуцированной кардиотоксичностью сохранялся на высоком уровне, значимо превышая аналогичный показатель до начала ПХТ (107,75 пг/мл [99,1; 114,7] против 72,2 пг/мл [63,1; 81,95], $p=0,001$), а также уровень данного маркера в группе 2 через 12 месяцев после окончания ПХТ (107,75 пг/мл [99,1; 114,7] против 56,85 пг/мл [48,85; 65,9], $p=0,001$).

Такая динамика уровня sFas-L являлась показателем высокой активности апоптоза в организме у пациенток 1-й группы, отражая высокий риск необратимой гибели кардиомиоцитов. У пациенток 2-й группы произошло снижение концентрации sFas-L по отношению к исходному показателю и по отношению к уровню после окончания ПХТ, что, вероятно, связано с уменьшением активности апоптоза в связи с отсутствием выраженных стимулирующих воздействий ФНО- α , уровень которого повышается при опухолевых заболеваниях, и, соответственно, концентрация которого оказалась повышенной у больных до начала ПХТ, и поддерживалась на высоком уровне у больных в группе 1 после окончания ПХТ. (см. раздел 3.3.2.).

По данным ROC-анализа чувствительности (88,5%) и специфичности (32,3%) показатель концентрации sFas-L до начала курса ПХТ не отражал достаточную прогностическую значимость для прогноза риска развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности с ограниченной площадью под кривой - 0,569 (95%С.І.=0,492-0,643; $p=0,124$) (рис. 1).

Тогда как пациентки, получавшие антрациклины, у которых уровень sFas-L был значительно повышен после окончания ПХТ, имели высокий риск развития сердечной патологии в течение 12 месяцев наблюдения после введения антрациклинов (рис. 2). Уровень sFas-L более 95,8 пг/мл после окончания курса ПХТ позволил с наибольшей вероятностью (чувствительность – 92,1%, специфичность – 92,2%, $AUC=0,951$; 95%С.І.=0,910-0,991; $p=0,0001$) прогнозировать развитие сердечно-сосудистых осложнений у женщин, получавших терапию антрациклинами.

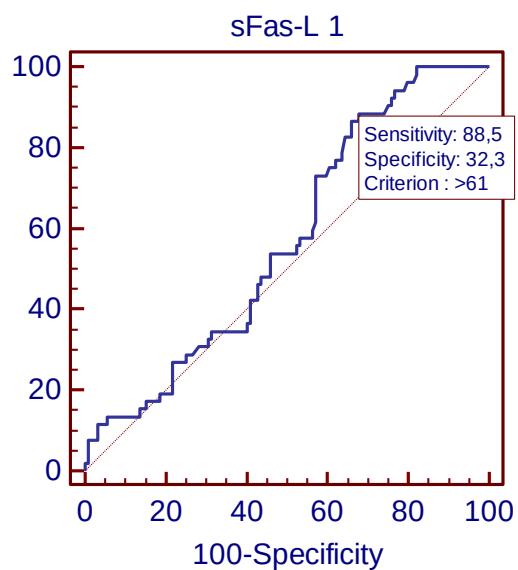


Рисунок 1. ROC-анализ определения чувствительности и специфичности значений в крови sFas-L до начала курса ПХТ в прогнозе риска развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности.

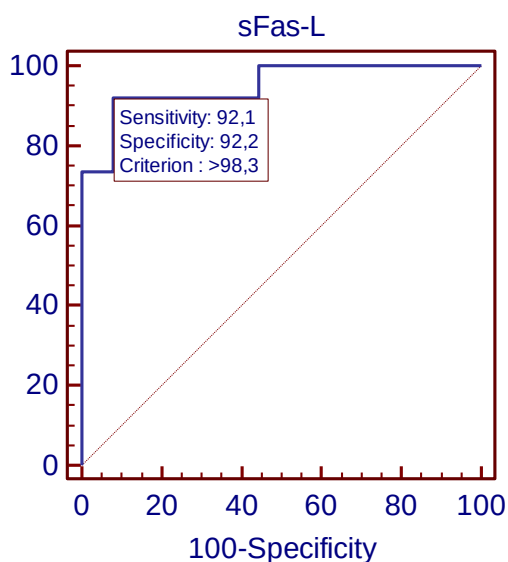


Рисунок 2. ROC-анализ определения чувствительности и специфичности значений в крови sFas-L после окончания ПХТ в прогнозе развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности.

У пациентов с уровнем sFas-L более 95,8 пг/мл после завершения ПХТ значительно увеличивался риск развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности (OR=8,754; 95%С.I.=7,451-9,138; $p<0,001$).

Прогностическая значимость показателя ФВ ЛЖ как критерия риска развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности оказалась крайне низкой как до начала курса ПХТ (чувствительность – 9,7%, специфичность – 96,2%, AUC=0,521; 95%С.I.=0,444-0,597; $p=0,659$), так и после завершения ПХТ (чувствительность – 18,5%, специфичность – 92,3%, AUC=0,514; 95%С.I.=0,437-0,590; $p=0,772$) (рис. 3-4).

Таким образом, оценка содержания белка апоптоз-опосредуемого фактора - растворимого Fas-лиганда после завершения ПХТ является ранним предиктором стратификации риска развития кардиотоксического повреждения препаратами антрациклинового ряда, приводящего к инициации механизма апоптоза кардиомиоцитов и ремоделирования сердца.

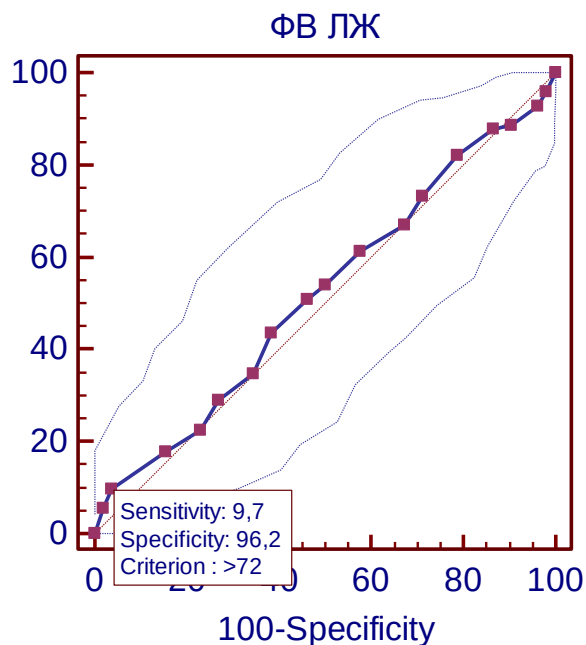


Рисунок 3. ROC-анализ определения чувствительности и специфичности значений ФВ ЛЖ до начала курса ПХТ в прогнозе риска развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности.

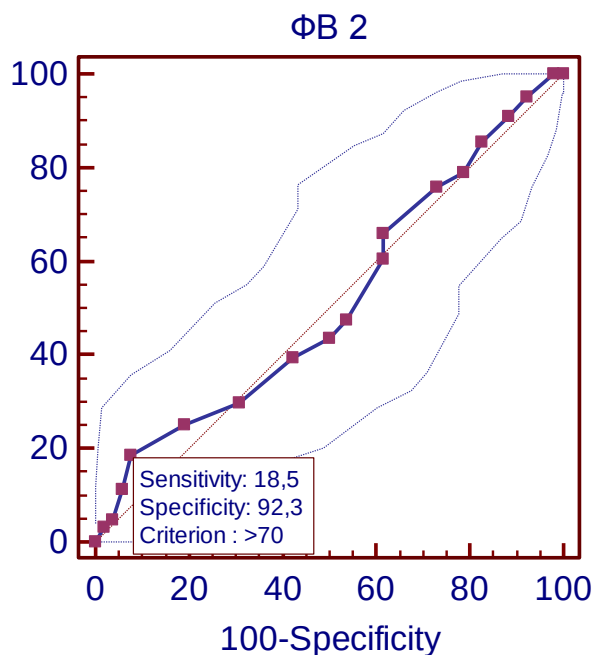


Рисунок 4. ROC-анализ определения чувствительности и специфичности значений ФВ ЛЖ после окончания ПХТ в прогнозе развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности.

Способы прогнозирования сердечной недостаточности у пациенток, страдающих раком молочной железы получавших антрациклиновые антибиотики в составе схем полихимиотерапевтического лечения по анализу содержания sFas-L и по определению полиморфизма гена белка p53 иллюстрируется следующими клиническими примерами, свидетельствующими о том, что определение sFas-L в сыворотке крови и определение полиморфизма rs1042522 гена белка p53 обеспечивает объективную оценку риска развития патологического процесса в миокарде при терапии антрациклиновыми антибиотиками.

ПРИМЕР 1.

Пациентка Г., 56 лет (70 кг)

По поводу рака молочной железы проведена терапия доксорубицином 60 мг/м² и циклофосфамидом 600 мг/м². Введение препаратов каждые 3 недели. Суммарная доза 360 мг/м² доксорубицина и циклофосфамида 3600 мг /м².

Исходно жалобы активно не предъявляет. Тolerантность к нагрузке умеренная, ходит в быстром темпе, свободно понимается на 4 этаж. При

объективном исследовании: кожные покровы бледные, чистые, обычной окраски, влажности. Язык влажный, чистый. АД - 120/70, ЧСС - 68 в минуту, тоны сердца ясные, ритмичные. Дыхание везикулярное, проводится по всем отделам, хрипов нет. Живот не увеличен, при пальпации мягкий, безболезненный, перистальтика кишечника выслушивается. Печень, селезенка не увеличены. Периферических отёков нет. Мочеиспускание свободное (табл. 28).

Таблица 28

Основные клинико-лабораторные характеристики пациентки

Показатели	До начала ПХТ	Через 12 месяцев после окончания ПХТ
ХС (ммоль/л)	4,6	4,7
ТГ (ммоль/л)	1,82	1,57
ЛПНП (ммоль/л)	2,7	3,18
ЛПВП (ммоль/л)	0,8	1,1
6 мин тест ходьбы (м)	600	468
ШОКС (баллы)	0	3
ФВ ЛЖ (%)	68,1	53,9
КДР ЛЖ (мм)	42,9	49,8
КСР ЛЖ (мм)	30,1	36,8
МЖП (мм)	9,1	9,41
ЗСЛЖ (мм)	9,2	9,6

Примечание. ХС – холестерин, ТГ – триглицериды, ЛПНП – липопротеиды низкой плотности, ЛПВП – липопротеиды высокой плотности, КДР – конечный диастолический размер, КСР – конечный систолический размер, МЖП – межжелудочковая перегородка, ЗСЛЖ – задняя стенка левого желудочка, ФВ ЛЖ - фракция выброса левого желудочка, ШОКС - шкала оценки клинического состояния.

Уровень sFas-L в сыворотке крови после завершения курса полихимиотерапии составил 105,4 пг/мл. При генотипировании выявлен генотип Arg/Arg гена белка *p53* (rs1042522).

Через 12 мес. после проведенной ПХТ состояние больной клинически ухудшилось. Толерантность к нагрузке снизилась на 22%, появилась слабость, одышка больше инспираторного характера, при подъеме на 2-й этаж. Темп

ходьбы медленный - 50-60 шагов в 1 минуту. При объективном исследовании: кожные покровы бледные, чистые, обычной окраски, влажности, умеренный цианоз губ. Язык влажный, чистый. АД 100/60 мм рт. ст., тоны сердца приглушенные, ритмичные 82 уд/мин. Дыхание жесткое, проводится по всем отделам, частота дыхания 20 в минуту, Живот не увеличен, при пальпации мягкий, безболезненный, перистальтика выслушивается. Отеки на уровне нижней трети голени. Мочеиспускание свободное. ФК ХСН – до I по NYHA. По данным Эхо-КГ: уменьшилась ФВ ЛЖ, увеличились КДР и КСР ЛЖ, параметры толщины ЗСЛЖ и МЖП.

ПРИМЕР 2.

Пациентка Г., 57 лет (71 кг)

По поводу рака молочной железы назначена целевая терапия доксорубицином 60 мг/м^2 и циклофосфамидом 600 мг/м^2 . Введение препаратов каждые 3 недели. Суммарная доза 360 мг/м^2 доксорубицина и циклофосфамида 3600 мг/м^2 .

Исходно жалобы пациенткой активно не предъявлялись. Толерантность к физической нагрузке умеренная. При объективном исследовании: кожные покровы бледные, чистые, обычной окраски, влажности. Язык влажный, чистый. АД - 110/70 мм рт. ст., ЧСС 72 в минуту, тоны сердца ясные, ритмичные. Дыхание везикулярное, проводится по всем отделам, хрипов нет. Живот не увеличен, при пальпации мягкий, безболезненный, перистальтика кишечника выслушивается. Печень, селезенка не увеличены. Периферических отеков нет. Мочеиспускание свободное (табл. 29).

Уровень sFas-L в сыворотке крови после завершения курса полихимиотерапии составил 75,6 пг/мл. При генотипировании выявлен генотип Pro/Pro гена белка *p53* (rs1042522).

Через 12 мес. после проведенной ПХТ состояние больной стабильное, субъективно без ухудшения самочувствия. Толерантность к физической нагрузке осталась на прежнем уровне. При объективном исследовании: кожные покровы бледные, чистые, обычной окраски, влажности. Язык влажный, чистый. АД - 110/60 мм рт. ст., тоны сердца приглушенные, ритмичные, 78 уд/мин. Дыхание

жесткое, проводится по всем отделам, хрипы не выслушиваются, частота дыхания 18 в минуту, Живот не увеличен, при пальпации мягкий, безболезненный, перистальтика выслушивается. Печень по краю реберной дуги, размеры по Курлову 10-9-8 см. Отеков нет. Мочеиспускание свободное. По данным Эхо-КГ: параметры ФВ ЛЖ значимо не изменились по сравнению с исходными параметрами, КДР и КСР ЛЖ, также как и толщина ЗСЛЖ и МЖП соответствуют исходным значениям.

Таблица 29

Основные клинико-лабораторные характеристики пациентки

Показатели	До начала ПХТ	Через 12 месяцев после окончания ПХТ
ХС (ммоль/л)	5,3	5,6
ТГ (ммоль/л)	1,19	1,82
ЛПНП (ммоль/л)	3,71	3,54
ЛПВП (ммоль/л)	1,05	1,23
6 мин тест ходьбы (м)	610	605
ШОКС (баллы)	0	0
ФВ ЛЖ (%)	68,4	68,3
КДР ЛЖ (мм)	42,7	42,9
КСР ЛЖ (мм)	29,9	30,1
МЖП (мм)	9,2	9,2
ЗСЛЖ (мм)	9,2	9,2

Примечание. ХС – холестерин, ТГ – триглицериды, ЛПНП – липопротеиды низкой плотности, ЛПВП – липопротеиды высокой плотности, КДР – конечный диастолический размер, КСР – конечный систолический размер, МЖП – межжелудочковая перегородка, ЗСЛЖ – задняя стенка левого желудочка, ФВ ЛЖ - фракция выброса левого желудочка, ШОКС - шкала оценки клинического состояния.

Таким образом, результаты нашего исследования убедительно продемонстрировали, что развитие антрациклиновой кардиомиопатии на фоне лечения рака молочной железы в соответствии со схемами полихимиотерапевтического лечения, сопровождающееся кардиотоксическим ремоделированием миокарда с явными нарушениями инотропной функции

сердца, наблюдалось у больных с генотипом Arg/Arg гена белка *p53* (rs1042522), сопровождалось повышенным (более 95,8 пг/мл) уровнем растворимого Fas-лиганда и имело явное ($p=0,001$) прогностическое значение.

Предложенный способ прогнозирования антрациклиновой кардиомиопатии с использованием одного растворимого Fas-лиганда основан на идентификации Fas-индуцированного механизма апоптоза, индуцированного антрациклиновой кардиотоксичностью. Данный механизм потенцируется экспрессией провоспалительных цитокинов, активность которых растет при лечении антрациклинами [30]. В настоящее время установлено важное значение апоптоза, играющего ключевую роль в регуляции деятельности сердечно-сосудистой системы. Согласно современным представлениям, при ХСН апоптоз индуцируется рядом патогенетических факторов, в частности ишемией миокарда, реперфузией, активацией цитокинов, нейрогормонов [192]. Гибель кардиомиоцитов путем запрограммированной их смерти происходит также при уменьшении кровоснабжения органа [115, 166, 198]. В силу того, что кардиомиоциты являются клетками конечно детерминированными, их гибель в результате кардиотоксического действия антрациклинов в существенной мере определяет степень нарушения сократительной способности оставшегося неповрежденным миокарда [146]. Отмечена прямая зависимость между выраженностью хронической сердечной недостаточности и количеством погибших кардиомиоцитов. Апоптоз кардиомиоцитов может запускаться и по внешнему (рецепторному) пути [146]. Причиной для этого может служить как повышение концентрации проапоптотических протеинов (sFas-L), ФНО- α в плазме крови, так и повышенная экспрессия рецепторов к соответствующим патогенным факторам на поверхности кардиомиоцитов (Fas-R, ФНО-R1) [88]. Вместе с тем, механизмы апоптоза кардиомиоцитов, последовательность биохимических изменений при антрациклин-индуцированной кардиотоксичности на настоящий момент до конца не изучены, а литературные данные по этому вопросу весьма противоречивы.

3.3.2. Оценка прогностической значимости предшественника мозгового натрийуретического пептида в развитии ремоделирования миокарда, ассоциированного с терапией антрациклинами

Одним из доказанных эталонных "золотых стандартов" диагностики ХСН является повышение концентрации натрийуретических пептидов в плазме крови, начиная со стадии асимптоматичной дисфункции желудочков. В настоящее время определение уровня натрийуретических пептидов как маркеров прогноза и показателей эффективности лечения, является рекомендуемым методом диагностики сердечной недостаточности [19]. Многими исследователями показано, что степень повышения концентрации натрийуретических пептидов в крови строго коррелирует с тяжестью ХСН [68, 216]. Установлено, что уровень натрийуретических гормонов в сыворотке крови коррелирует со структурно-функциональным ремоделированием миокарда как по типу систолической [42], так и диастолической дисфункции [152].

В связи с этим, крайне важной является задача по изучению патогенетической роли и прогностической значимости NT-proBNP в развитии антрациклин-индуцированного поражения сердца.

Концентрация NT-proBNP после окончания противоопухолевой ПХТ у больных 1-й группы была значимо выше по сравнению с аналогичным показателем во 2-й группе (113,0 пг/мл [101,8; 126,15] против 53,8 пг/мл [43,4; 63,0], $p=0,001$), а также по сравнению с исходным показателем (113 пг/мл [101,8; 126,15] против 49,65 пг/мл [41,65; 56,9], $p=0,001$) (табл. 30-31).

Через 12 месяцев после окончания ПХТ уровень NT-proBNP в 1-группе женщин с развившейся антрациклин-индуцированной кардиотоксичностью значимо повысился по отношению к концентрации этого пептида после окончания ПХТ (295,3 пг/мл [197,9; 370,4] против 113 пг/мл [101,8; 126,15], $p=0,001$). Вариабельность NT-proBNP в группе 2 после окончания ПХТ оказалась значимо менее существенной (57,4 пг/мл [45,7; 70,3] против 53,8 пг/мл [43,4; 63,0], $p=0,001$).

Таблица 30

Динамика уровней NT-proBNP в исследованных группах (Me [Q25; Q75])

Показатель	До начала ПХТ			После окончания ПХТ			Через 12 месяцев после окончания ПХТ		
	Группа 1 (n=52)	Группа 2 (n=124)	p-value U- критери и Манна- Уитни	Группа 1 (n=52)	Группа 2 (n=124)	p-value U- критери и Манна- Уитни	Группа 1 (n=52)	Группа 2 (n=124)	p-value U-критери и Манна- Уитни
NT-proBNP (пг/мл)	49,65 [41,65; 56,9]	46,95 [40,6; 56,35]	0,604	113 [101,8; 126,15]	53,8 [43,4; 63,0]	<0,000001	295,3 [197,9; 370,4]	57,4 [45,7; 70,3]	<0,000001

Примечание. ПХТ – полихимиотерапия, NT-proBNP - предшественник мозгового натрийуретического пептида.

Таблица 31

Результаты межгруппового сравнительного анализа уровней NT-proBNP у участников исследования на этапах
проспективного наблюдения

Показатель	Критерий Фридмана		p-value (Wilcoxon Matched Pairs) с поправкой Бонферрони					
	Группа 1 (n=52)	Группа 2 (n=124)	1-2		2-3		1-3	
			Группа 1 (n=52)	Группа 2 (n=124)	Группа 1 (n=52)	Группа 2 (n=124)	Группа 1 (n=52)	Группа 2 (n=124)
NT-proBNP (1-3)	<0,000001	0,00003	<0,000001	0,005	<0,000001	0,002	<0,000001	0,000001

Примечание. ПХТ – полихимиотерапия, NT-proBNP - предшественник мозгового натрийуретического пептида, 1 - точка до начала ПХТ, 2 - точка после окончания ПХТ, 3 - точка через 12 месяцев после окончания ПХТ.

Такая динамика уровня NT-proBNP у пациенток с РМЖ во 2-й группе являлась доказательством развития бессимптомной дисфункции миокарда, развивавшейся после окончания ПХТ, но неуклонно прогрессирующей, сопровождаясь дальнейшим повышением концентрации NT-proBNP в крови.

По данным ROC-анализа показатель концентрации в крови NT-proBNP до начала курса ПХТ не обеспечивал достаточный уровень прогностической значимости для стратификации риска развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности при чувствительности теста – 61,5%, специфичности – 51,6% и $AUC=0,525$ (95%С.І.=0,448-0,601; $p=0,598$) (рис. 5).

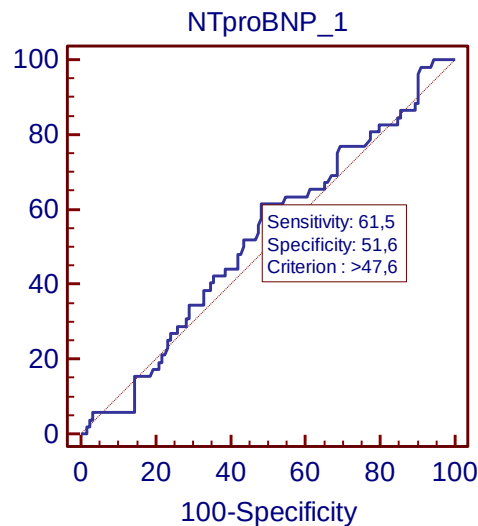


Рисунок 5. ROC-анализ определения чувствительности и специфичности значений в крови NT-proBNP до начала курса ПХТ в прогнозе риска развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности.

Тогда как у пациенток, получавших антрациклины, у которых уровень NT-proBNP был значительно повышен после окончания ПХТ, определялся высокий риск развития сердечной патологии в течение 12 месяцев наблюдения после введения антрациклинов (рис. 6). Уровень NT-proBNP более 71,5 пг/мл после окончания курса ПХТ позволил с наибольшей вероятностью (чувствительность – 100%, специфичность – 91,9%, $AUC=0,994$; 95%С.І.=0,969-1,000; $p=0,0001$) прогнозировать развитие сердечно-сосудистых осложнений у женщин, получавших терапию антрациклинами.

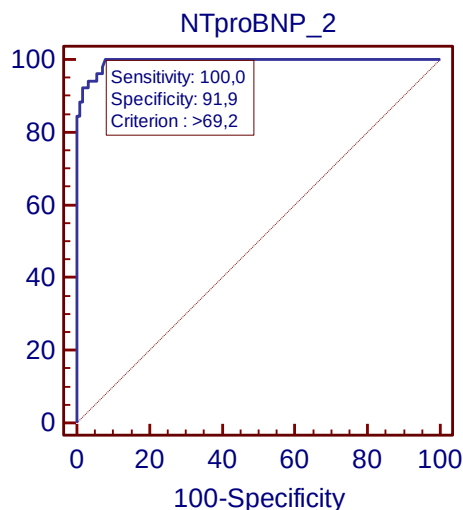


Рисунок 6. ROC-анализ определения чувствительности и специфичности значений в крови NT-proBNP после окончания ПХТ в прогнозе риска развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности.

У пациентов с уровнем NT-proBNP более 60,2 пг/мл после завершения ПХТ значительно увеличивался риск развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности (OR=6,184; 95%С.І.=5,762-7,238; $p<0,001$).

Анализ данных, касающихся оценки взаимосвязи уровня экспрессии мозгового натрийуретического пептида с развитием антрациклин-индуцированной кардиотоксичности, выявил важную закономерность, согласно которой у больных 1-й группы с развитием кардиотоксического ремоделирования миокарда выработка NT-proBNP существенно преобладала над таковой во 2-й группе женщин с РМЖ без явных признаков поражения сердца. При этом уровень NT-proBNP в сыворотке крови у пациенток 1-й группы существенно возрастал (в 5 раз, $p<0,001$) по мере прогрессирования патологии сердца.

Установлены важные прогностические маркеры течения заболевания: у больных 1-й группы с развитием антрациклин-индуцированной кардиотоксичности экспрессия мозгового натрийуретического пептида оказалась значительно повышенной по сравнению с пациентками 2-й группы, у которых отсутствовали манифестные клинко-инструментальные признаки поражения сердца.

Серийное определение уровня NT-proBNP в крови обеспечивает надежную стратификацию риска развития антрациклин-индуцированного поражения миокарда уже на ранней стадии асимптомной дисфункции сердца, что особенно актуально, поскольку такие симптомы ХСН как одышка, утомляемость, периферические отеки проявляются, когда уже произошло повреждение и гибель миокарда в результате апоптоза значительной части кардиомиоцитов. В такой клинической ситуации повторное динамическое определение уровня NT-proBNP в плазме крови позволяет выделить особые группы больных с повышенным риском развития кардиоваскулярных осложнений и смертности для более интенсивного персонифицированного наблюдения пациентов и оптимизации патогенетической терапии.

3.3.3. Роль провоспалительных цитокинов в стратификации риска развития антрациклин-индуцированной дисфункции сердца

В основе одной из признанных концепций прогрессирования ХСН лежит представление об иммунной активации и системном воспалении как о важных патофизиологических механизмах высокого кардиоваскулярного риска и неблагоприятного течения патологии. Согласно этой концепции, неспецифическая активация макрофагов и моноцитов, реализующаяся при действии различных этиологических факторов на миокард, является индуктором синтеза провоспалительных цитокинов (ФНО- α , ИЛ-1 β , интерлейкин-6 и др.), определяющих прогрессирование дисфункции ЛЖ [8, 212].

Активация провоспалительных цитокинов происходит не только при взаимодействии с инфекционными агентами, но и при атеросклерозе, при ишемии, токсических воздействиях на миокард, являющихся причиной развития как диастолической, так и систолической дисфункции сердца [1].

Содержание цитокинов в сыворотке крови больных с сердечной недостаточностью независимо от причин ее развития значительно превышает нормальные значения [2, 3, 8]. При этом степень повышения концентрации

цитокинов напрямую связана с клинической тяжестью ХСН и тесно коррелирует с концентрацией натрийуретических пептидов и некоторых других нейрогормонов [96].

Негативное кардиотропное действие цитокинов приводит к развитию таких характерных гемодинамических признаков ХСН, как низкий сердечный выброс и высокое внутрисердечное давление, а в комбинации с нарушением сосудодвигательной функции эндотелия резистивных сосудов – может явиться причиной гипотонии, свойственной поздним стадиям сердечной недостаточности, а также снижения физической толерантности.

В настоящее время до конца не ясно, является ли основным механизмом развития антрациклин-индуцированного поражения миокарда повышение концентрации в сыворотке провоспалительных цитокинов и возможно ли однозначно судить о нарушении инотропной функции сердца и прогнозе у пациента, основываясь на концентрациях данных биомаркеров.

В связи с этим, представляется актуальным изучение патогенетической и прогностической значимости активации провоспалительных цитокинов ФНО- α и ИЛ-1 β при развитии антрациклин-индуцированной кардиотоксичности.

Концентрация ФНО- α после окончания противоопухолевой ПХТ у больных 1-й группы существенно не отличалась от исходных показателей, но была значимо выше таковых по сравнению со 2-й группой (8,1 пг/мл [6,5; 9,5] против 7,3 пг/мл [5,8; 8,4], $p=0,036$) (табл. 32-33). Также у женщин 2-группы концентрация данного цитокина существенно снижалась по сравнению с исходным уровнем (7,3 пг/мл [5,8; 8,4] против 8,7 пг/мл [6,95; 9,8], $p=0,001$).

Через 12 месяцев происходило существенное снижение концентрации ФНО- α в исследованных группах по отношению к уровням до начала и после завершения ПХТ. Однако, в 1-й группе женщин с развившейся антрациклин-индуцированной кардиотоксичностью уровень изученного цитокина существенно превышал таковой во 2-группе с сохраненной функцией сердца (5,1 пг/мл [4,65; 5,4] против 2,57 пг/мл [2,1; 2,9], $p=0,001$).

Таблица 32

Динамика уровней ФНО-α и ИЛ-1β в исследованных группах (Me [Q25; Q75])

Показатель	До начала ПХТ			После окончания ПХТ			Через 12 месяцев после окончания ПХТ		
	Группа 1 (n=52)	Группа 2 (n=124)	p-value U- критери и Манна- Уитни	Группа 1 (n=52)	Группа 2 (n=124)	p-value U- критерии Манна- Уитни	Группа 1 (n=52)	Группа 2 (n=124)	p-value U- критерии Манна- Уитни
ФНО-α (пг/мл)	8,1 [7,05; 10,05]	8,7 [6,95; 9,8]	0,933	8,1 [6,5; 9,5]	7,3 [5,8; 8,4]	0,036	5,1 [4,65; 5,4]	2,5 [2,1; 2,9]	<0,000001
ИЛ-1β (пг/мл)	26,7 [21,35; 34,0]	25,95 [18,15; 34,6]	0,551	22,8 [18,6; 28,35]	20,45 [15,5; 25,9]	0,069	14,55 [12,15; 16,85]	8,0 [6,95; 8,7]	<0,000001

Примечание. ПХТ – полихимиотерапия, ФНО-α - фактор некроза опухоли-α, ИЛ-1β - интерлейкин-1β.

Таблица 33

Результаты межгруппового сравнительного анализа уровней NT-proBNP у участников исследования на этапах проспективного наблюдения

Показатель	Критерий Фридмана		p-value (Wilcoxon Matched Pairs) с поправкой Бонферрони					
	Группа 1 (n=52)	Группа 2 (n=124)	1-2		2-3		1-3	
			Группа 1 (n=52)	Группа 2 (n=124)	Группа 1 (n=52)	Группа 2 (n=124)	Группа 1 (n=52)	Группа 2 (n=124)
ФНО-α	<0,000001	<0,000001	0,108	<0,000001	<0,000001	<0,000001	<0,000001	<0,000001
ИЛ-1β	<0,000001	<0,000001	0,004	0,00001	<0,000001	<0,000001	<0,000001	<0,000001

Примечание. ПХТ – полихимиотерапия, ФНО-α - фактор некроза опухоли-α, ИЛ-1β - интерлейкин-1β, 1 - точка до начала ПХТ, 2 - точка после окончания ПХТ, 3 - точка через 12 месяцев после окончания ПХТ.

Концентрации ИЛ-1 β после окончания противоопухолевой ПХТ в исследованных группах существенно снизились по сравнению с показателями, зафиксированными до начала лечения антрациклинами. При этом полученные значения ИЛ-1 β в группах 1 и 2 значимо не отличались.

Через 12 месяцев произошло дальнейшее существенное снижение концентрации ИЛ-1 β в исследованных группах по отношению к уровню после завершения ПХТ. Однако, в 1-й группе женщин с развившейся антрациклин-индуцированной кардиотоксичностью уровень ИЛ-1 β существенно превышал таковой во 2-группе с сохраненной функцией сердца (14,55 пг/мл [12,15; 16,85] против 8,0 пг/мл [6,95; 8,7], $p=0,001$).

Повышенная концентрация ФНО- α и ИЛ-1 β до начала ПХТ была обусловлена, вероятнее всего, высокой активностью опухолевого процесса, при котором активизировалась выработка провоспалительных цитокинов. В 1-й группе более высокий уровень цитокинов ассоциировался с развитием бессимптомной дисфункции миокарда после окончания ПХТ, которая неуклонно прогрессировала в дальнейшем после прекращения химиотерапии антрациклинами.

По данным ROC-анализа показатель концентрации ФНО- α до начала лечения опухолевого процесса антрациклинами не обеспечивал достаточную прогностическую значимость для стратификации риска развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности в связи с низкой чувствительностью теста – 51,6% и специфичностью – 59,6% ($AUC=0,496$; 95%С.І.=0,420-0,572; $p=0,933$) (рис. 7).

Тогда как у пациенток, получавших антрациклины, у которых уровень ФНО- α был значительно повышен после окончания ПХТ, имели высокий риск развития сердечной патологии в течение 12 месяцев наблюдения после введения антрациклинами (рис. 8). Уровень ФНО- α более 7,5 пг/мл после завершения курса ПХТ позволил с наибольшей вероятностью (чувствительность – 44,2%, специфичность – 75,8%, $AUC=0,600$; 95%С.І.=0,524-0,673; $p=0,035$) прогнозировать развитие сердечно-сосудистых осложнений у женщин, получавших терапию антрациклинами. Однако, чувствительность и

специфичность прогностической значимости концентрации ФНО- α значительно уступала таковым в отношении NT-proBNP и sFas-L.

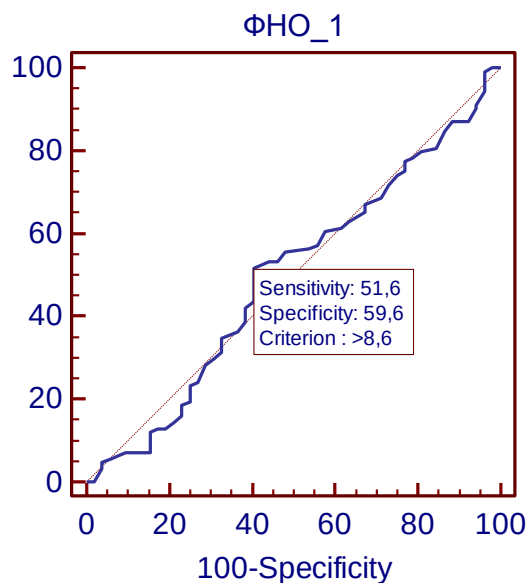


Рисунок 7. ROC-анализ определения чувствительности и специфичности значений в крови ФНО- α до начала курса ПХТ в прогнозе риска развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности.

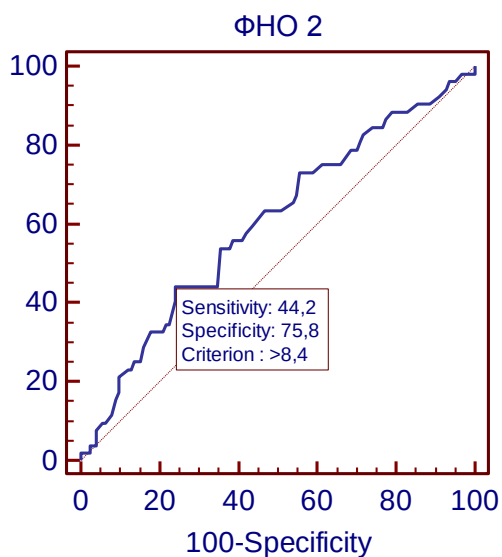


Рисунок 8. ROC-анализ определения чувствительности и специфичности значений в крови ФНО- α после завершения ПХТ в прогнозе риска развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности.

У пациентов с уровнем ФНО- α более 7,5 пг/мл после завершения ПХТ значительно увеличивался риск развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности (OR=5,357; 95%С.І.=3,982-6,674; $p<0,001$).

По данным ROC-анализа чувствительности и специфичности показатель концентрации ИЛ-1 β обладал слабой прогностической значимостью в отношении риска развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности как до начала лечения опухолевого процесса антрациклинами (чувствительность – 76,9%, специфичность – 37,1%, AUC=0,529; 95%С.І.=0,452-0,604; $p=0,547$) (рис. 9), так и после окончания ПХТ (чувствительность – 76,9%, специфичность – 42,7%, AUC=0,587; 95%С.І.=0,511-0,661; $p=0,067$) (рис. 10).

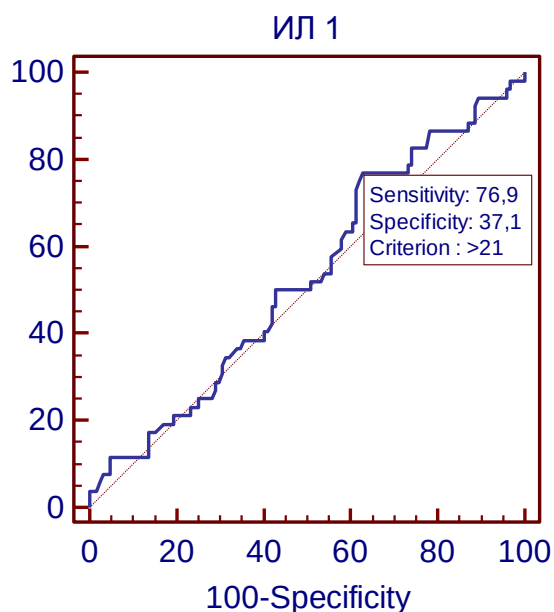


Рисунок 9. ROC-анализ определения чувствительности и специфичности значений в крови ИЛ-1 β до начала курса ПХТ в прогнозе риска развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности.

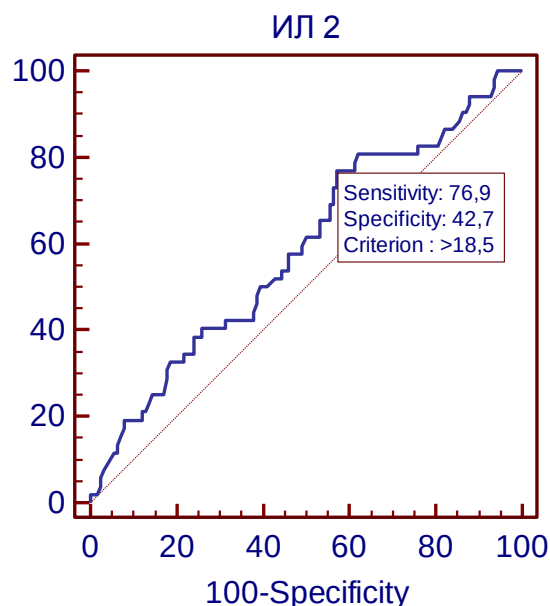


Рисунок 10. ROC-анализ определения чувствительности и специфичности значений в крови ИЛ-1 β после завершения ПХТ в прогнозе риска развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности.

Таким образом, высокая активность ФНО- α и ИЛ-1 β отражает патогенетическую роль провоспалительных цитокинов при развитии антрациклин-индуцированной кардиотоксичности.

Уровень цитокиновой агрессии не только подтверждает воспалительный механизм развития токсической дисфункции миокарда, но и отражает активность воспалительной реакции по мере прогрессирования заболевания. Полученные нами данные позволяют отнести ФНО- α и ИЛ-1 к важным биомаркерам как развития антрациклин-индуцированного поражения сердца. Однако, роль цитокинов ФНО- α и ИЛ-1 в качестве раннего предиктора риска развития антрациклиновой кардиомиопатии, на наш взгляд, окончательно не определена.

3.3.4. Значение эндотелина-1 в патогенезе антрациклин-индуцированной кардиотоксичности

Эндотелин-1 является одним из наиболее выраженных вазоконстрикторов, что может приводить к нарушению инотропной функции сердца. Помимо того,

эндотелин-1 может способствовать ремоделированию миокарда, стимулировать гипертрофию сердца и развитие фиброза миокарда, индуцировать апоптоз кардиомиоцитов [13]. Установлено, что повышенная экспрессия эндотелина-1 является прогностически важным фактором выживаемости для таких пациентов [14, 99]. На настоящий момент патогенетическая и диагностическая значимость эндотелина-1 в отношении тяжести развития сердечно-сосудистой патологии, а также для прогноза течения антрациклиновой кардиомиопатии остается мало изученной. Для понимания роли эндотелина-1 в патогенезе развития кардиотоксического поражения миокарда необходима комплексная оценка патогенетической значимости эндотелина-1 в инициации и прогрессировании процессов ремоделирования миокарда и сосудов при развитии антрациклин-индуцированной кардиотоксичности.

Нами установлено, что концентрация эндотелина-1 в крови в группе 2 в динамике проспективного наблюдения существенно не изменялась (табл. 34-35). Тогда как в группе 1 после окончания противоопухолевой ПХТ и через 12 месяцев уровень этого биомаркера был существенно выше по сравнению с группой 2. При этом после завершения курса ПХТ в 1-й группе женщин с развившейся в последствии антрациклин-индуцированной кардиотоксичностью концентрация эндотелина-1 существенно превышала исходный уровень (0,79 пг/мл [0,6; 1,07] против 0,54 пг/мл [0,43; 0,72], $p=0,0002$). Через 12 месяцев отмечалось значимое ($p=0,008$) снижение уровня эндотелина-1 до 0,67 пг/мл [0,51; 0,85], но данный показатель существенно ($p=0,009$) превышал таковой до начала ПХТ лечения.

Такая динамика уровня эндотелина-1 у пациенток 1-й группы является показателем дисфункции эндотелия с преобладанием вазоконстрикторных влияний, способствующих антрациклин-индуцированному ремоделированию миокарда.

Таблица 34

Динамика уровней эндотелина-1 в исследованных группах (Me [Q25; Q75])

Показатель	До начала ПХТ			После окончания ПХТ			Через 12 месяцев после окончания ПХТ		
	Группа 1 (n=52)	Группа 2 (n=124)	p-value U- критери и Манна- Уитни	Группа 1 (n=52)	Группа 2 (n=124)	p-value U- критерии Манна- Уитни	Группа 1 (n=52)	Группа 2 (n=124)	p-value U- критерии Манна- Уитни
Эндотелин-1 (нг/мл)	0,54 [0,43; 0,72]	0,62 [0,46; 0,8]	0,212	0,79 [0,6; 1,07]	0,64 [0,53; 0,77]	0,00003	0,67 [0,51; 0,85]	0,63 [0,44; 0,78]	0,025

Примечание. ПХТ – полихимиотерапия.

Таблица 35

Результаты межгруппового сравнительного анализа уровней эндотелина-1 у участников исследования на этапах
перспективного наблюдения

Показатель	Критерий Фридмана		p-value (Wilcoxon Matched Pairs) с поправкой Бонферрони					
	Группа 1 (n=52)	Группа 2 (n=124)	1-2		2-3		1-3	
			Группа 1 (n=52)	Группа 2 (n=124)	Группа 1 (n=52)	Группа 2 (n=124)	Группа 1 (n=52)	Группа 2 (n=124)
Эндотелин-1 (1-3)	0,00002	0,202	0,00002	-	0,008	-	0,009	-

Примечание. ПХТ – полихимиотерапия, 1 - точка до начала ПХТ, 2 - точка после окончания ПХТ, 3 - точка через 12 месяцев после окончания ПХТ.

По данным ROC-анализа чувствительности и специфичности показатель концентрации эндотелина-1 до начала курса ПХТ не обладал достаточной прогностической значимостью в отношении риска развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности (чувствительность – 45,2%, специфичность – 71,2%, AUC=0,560; 95%С.І.=0,483-0,634; p=0,212) (рис. 11).

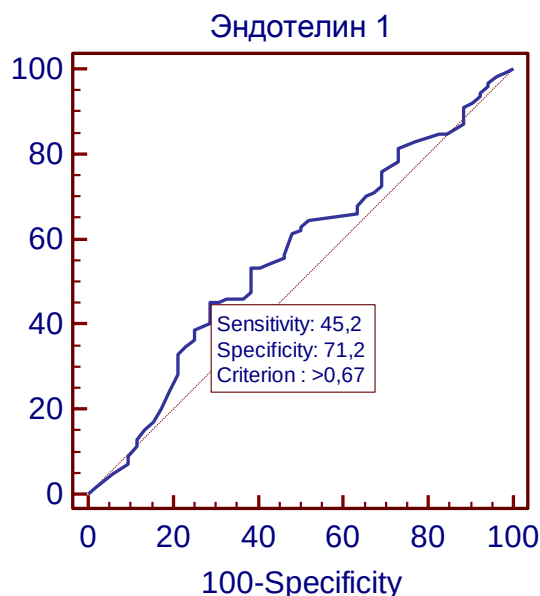


Рисунок 11. ROC-анализ определения чувствительности и специфичности значений в крови эндотелина-1 до начала курса ПХТ в прогнозе риска развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности.

Тогда как пациентки, получавшие антрациклины, у которых уровень эндотелина-1 был значительно повышен после окончания ПХТ, имели высокий риск развития сердечной патологии в течение 12 месяцев наблюдения после введения антрациклинов (рис. 12). Уровень эндотелина-1 после окончания курса ПХТ более 0,68 пг/мл позволил с наибольшей вероятностью (чувствительность – 38,5%, специфичность – 100%, AUC=0,699; 95%С.І.=0,626-0,766; p=0,0001) прогнозировать риск развития сердечно-сосудистых осложнений у женщин, получавших терапию антрациклинами.

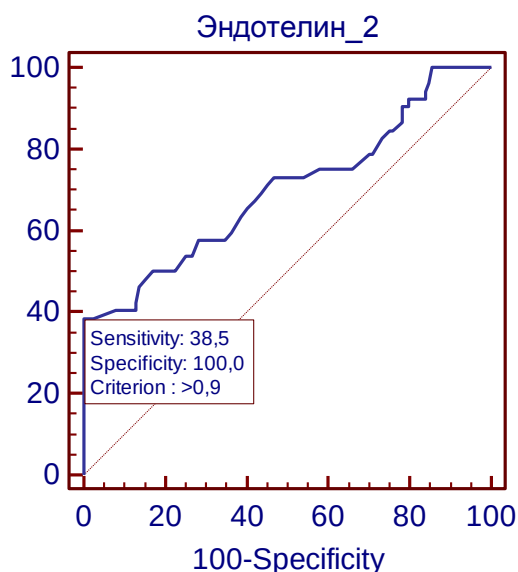


Рисунок 12. ROC-анализ определения чувствительности и специфичности значений в крови эндотелина-1 после завершения ПХТ в прогнозе риска развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности.

У пациентов с уровнем эндотелина-1 более 0,68 пг/мл после завершения ПХТ значительно увеличивался риск развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности ($OR=4,345$; $95\%C.I.=2,964-5,788$; $p<0,001$).

Таким образом, оценка содержания эндотелина-1 после завершения ПХТ позволяет использовать данный маркер в качестве раннего предиктора стратификации риска развития кардиотоксического ремоделирования сердца в условиях антрациклин-индуцированного повреждения миокарда и развития сердечной недостаточности у пациенток с РМЖ.

Результаты многих исследований свидетельствуют о тесной корреляции между выраженностью дисфункции ЛЖ, с одной стороны, и активностью эндотелиновой системы – с другой. Эндотелин-1, являясь сильнейшим вазоконстриктором и ухудшая перфузию миокарда, способствует развитию антрациклин-индуцированного поражения сердца. Следовательно, ранняя оценка уровня в крови данного протеина важна для надежного прогнозирования развития антрациклин-индуцированной кардиомиопатии. Дальнейшее накопление клинических и экспериментальных данных по этому важному и социально-

значимому направлению кардиоонкологии позволит уточнить физиологическую и патологическую роль эндотелинов в развитии и прогрессировании поражения миокарда на фоне лечения опухолевых процессов антрациклинами.

Из исследованных нами биомаркеров (sFas-L, NT-proBNP, ФНО- α , ИЛ-1 β и эндотелина-1) наибольшей прогностической значимостью в отношении оценки риска развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности по данным ROC-анализа обладают плазменные уровни sFas-L и NT-proBNP.

Для разработки наиболее информативной модели прогнозирования развития антрациклиновой кардиомиопатии в нашем исследовании использовался модуль «Нелинейное оценивание» (Nonlinear Estimation) с функцией Quick logit regression пакета статистических программ STATISTICA. В результате применения данного метода моделирования была получена логистическая модель оценки вероятности развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности через 12 месяцев после окончания ПХТ.

Процедура моделирования включала первоначально выбор наиболее значимого предиктора из всех исследованных - им оказался уровень NT-proBNP (2), пг/л ($\chi^2=179,689$; $p=0,0012$). Затем методом пошагового включения был выбран второй предиктор – наличие генотипа Arg/Arg гена *p53* (Arg72Pro экзон 4, rs1042522). Модель (mod-1), включающая в себя эти две переменные, обладала более высокой статистической значимостью по сравнению с монопараметрической ($\chi^2=187,414$; $p<0,0001$). Перебор остальных независимых переменных не позволил включить другие переменные.

Для того чтобы получить индивидуальные значения полученного интегрального показателя вероятности развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности вначале необходимо рассчитать значение Y по формуле:

$$Y = -20,19 + 0,22 * \text{NT-proBNP (пмоль/л)} + 3,16 * \text{наличие Arg/Arg}$$

Затем применяется формула:

$$P = \frac{e^Y}{1 + e^Y}, \text{ где}$$

P - расчетная вероятность наступления неблагоприятного сердечно-сосудистого события;

e – число Эйлера = 2,718281828459045.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Прогресс в диагностике и лечении злокачественных новообразований, в частности, рака молочной железы, привели к значительному улучшению качества жизни и отдаленного прогноза, снижению смертности в экономически развитых странах. Однако, химиотерапия часто приводит к кардиотоксичности, ассоциируемой с дисфункцией миокарда, развитием опасных для жизни желудочковых аритмий и сердечной недостаточности. В связи с этим разработка стратегии раннего прогнозирования факторов риска, обеспечивающей оптимальный баланс между благоприятным эффектом противоопухолевой химиотерапии и низким кардиоваскулярным риском, является исключительно актуальной, социально значимой проблемой.

Несколько стратегий было предложено для уменьшения риска антрациклин-индуцированной кардиотоксичности, хотя ни одна из них не имеет надежных подтверждений, полученных в контролируемых клинических исследованиях или стандартизированной клинической практике. Обычные стратегии включают в себя оценку ФВ в начале химиотерапии, после введения половины общего объема накопленной дозы антрациклинов, и перед каждой последующей дозой. Во время наблюдения оценка ФВ ЛЖ рекомендуется через 3, 6 и 12 месяцев после окончания лечения. И снижение ФВ ЛЖ более чем на 10% от показателей до лечения либо снижение абсолютного значения ФВ менее 50% предлагается в качестве критериев для приостановления химиотерапии [6, 34, 226]. При этом в нашем исследовании после завершения ПХТ не было существенных изменений в динамике Эхо-КГ и клинико-функциональных показателей по сравнению с исходными данными, тогда как через 12 месяцев после завершения ПХТ у 29,5% женщин развились признаки хронической сердечной недостаточности, соответствующие 1 функциональному классу по данным ШОКС и теста 6-минутной ходьбы.

Проблемы, связанные с использованием вышеупомянутого подхода, включают высокие затраты, так как не каждый пациент требует частых

повторных Эхо-КГ-исследований. Кроме того, Эхо-КГ не является чувствительным и специфичным методом для прогнозирования раннего развития сердечной дисфункции. Другими словами, она позволяет только идентифицировать повреждение сердца после того, как уже возникла дисфункция, что не является идеальным скрининговым инструментом для предотвращения развития кардиотоксичности, так как это не дает возможности осуществить раннее вмешательство.

Альтернативным подходом к ранней диагностике кардиотоксичности является использование сывороточных биомаркеров, которые могут обнаружить повреждение миокарда, прежде чем дисфункция миокарда проявится эхокардиографически, и до того, как появятся клинические симптомы СН. Эта диагностическая модель может быть предпочтительнее из-за простоты проведения (взятие крови), снижения затрат, а самое главное, из-за более ранних сроков выявления дисфункции миокарда. Тенденция к малоинвазивной медицине ведет к исследованию роли биомаркеров для раннего прогнозирования развития кардиотоксичности. Существует необходимость в создании панели биомаркеров для разработки инновационного способа обнаружения сердечно-сосудистых осложнений у больных раком молочной железы, получающих химиотерапию. В качестве возможных биомаркеров возможно определение NT-proBNP в плазме крови.

По данным Lipshultz S.E. et al. (2012) увеличение концентрации в NT-proBNP в плазме крови, выявленные в течение первых 90 дней после начала лечения антрациклином (доксорубицин), ассоциировались со структурно-функциональными изменениями миокарда через 4 года после окончания ПХТ, в то время как повышенные уровни маркера, обнаруженные во время последних 90 дней лечения доксорубицином не были значимо взаимосвязаны с какими-либо эхокардиографическими изменениями через 4 года [125]. Gimeno E. et al. (2011) показали, что уровень NT-proBNP выше 900 пг/мл является предиктором высокого риска смерти от любых причин у пациентов, получавших терапию по поводу неходжкинской лимфомы, и предположили, что измерение уровней NT-

proBNP следует учитывать при проведении оценки риска у пациентов с неходжкинской лимфомой до начала химиотерапии [91]. De Iuliis F. et al. (2016) показали, что у пациентов, получавших антрациклины, у которых уровень NT-proBNP был значительно повышен через 3 месяца, 6 месяцев и 1 год, имелся высокий риск развития кардиальной патологии в течение 12 месяцев наблюдения после введения антрациклинов [67].

В нашем исследовании обнаружение высокой концентрации NT-proBNP после окончания курса ПХТ является диагностическим предиктором сердечно-сосудистых осложнений даже при отсутствии снижения ФВ, и данный метод диагностики является более чувствительным, чем ЭхоКГ для выявления ранних изменений со стороны сердца. Соответственно, NT-proBNP может являться важным биомаркером развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности до появления эхокардиографических или клинических признаков СН.

Определение натрийуретических пептидов облегчает диагностику кардиотоксичности на ранних стадиях, что особенно актуально, поскольку одышка, утомляемость и отеки, часто являются неспецифическими симптомами, сопутствующих другим заболеваниям. В ходе исследования установлена важная роль NT-proBNP в качестве независимого прогностического маркера развития антрациклиновой кардиотоксичности у больных с раком молочной железы. В такой ситуации повторное динамическое определение уровня NT-proBNP в плазме крови позволяет выделить пациентов повышенного риска для более интенсивного наблюдения и оптимизации терапии.

Панель биомаркеров с использованием NT-proBNP может быть предпочтительнее, чем последовательная эхокардиография, потому что информация, полученная на панели биомаркеров, позволит онкологам корректировать химиотерапевтические режимы и/или позволяет кардиологам профилактировать развитие СН [193]. Другими словами, соответствующее вмешательство может быть осуществлено до того как произошло серьезное повреждение миокарда. В целом, эффективная панель биомаркеров необходима

для снижения заболеваемости и смертности в результате сердечно-сосудистых осложнений при проведении химиотерапии.

Механизм токсического действия антрациклинов обусловлен множественным воздействием на кардиомиоциты, включая апоптоз, нарушение кальциевого гомеостаза и митохондриальную дисфункцию [117]. Еще важными механизмами повреждения сердца антрациклинами является активация перекисного окисления липидов [Bird B.R. et al., 2008] и дисфункция эндотелия [25]. Влиянии последней на развитие кардиотоксического повреждение миокарда косвенно подтверждают установленные корреляционные связи между ростом маркеров эндотелиальной дисфункции и снижением сократительной способности сердца [25].

Большинство экспериментальных исследований, сопровождающихся гистологическим исследованием биопсийного материала, предоставили доказательства того, что кардиотоксичность, вызванная антрациклинами, связана с апоптозом и некрозом кардиомиоцитов [175, 228].

Активация окислительного стресса, вызванного антрациклинами, является наиболее изученной причиной кардиотоксичности, и считается, что он является основным триггером смерти кардиомиоцитов [77, 95, 141, 190]. Кроме того, повреждение митохондрий, вызванное АФК, может дополнительно привести к нарушению дыхательной цепи [229]. Дополнительно, при окислительном стрессе возникает превращение оксида азота в пероксинитрит, который обладает выраженным цитотоксическим действием [84].

Митохондрии кардиомиоцитов являются ключевыми мишенями для повреждающего действия антрациклинов [215]. Повреждение митохондрий, вызванное АФК или непосредственно антрациклинами, включает: повреждение митохондриальной мембраны из-за перекисного окисления липидов, нарушение окислительного фосфорилирования и синтеза аденозинтрифосфата, ухудшение митохондриального гомеостаза кальция, приводящих к потере стабильности мембраны [215], увеличение мутаций митохондриальной ДНК [150], нарушение

активности митохондриальной креатинкиназы [206], нарушение биогенеза митохондрий сердца [194] и митохондриальную фрагментацию [158].

Все эти события могут вызвать смерть кардиомиоцитов, активируя митохондриальный апоптотический путь или некроз. Например, перегрузка митохондрий кальцием вызывает повышение их проницаемости, что приводит к набуханию митохондрий и разрыву наружной мембраны, и, следовательно, высвобождению цитохрома С - фактора, индуцирующего апоптоз. После выделения из митохондрий цитохром С образует комплекс с белками Аraf-1, dATP и каспазой 9, что приводит к образованию апоптосомы. Формирование апоптосомы приводит к протеолитическому расщеплению и сопутствующей активации каспазы 9. Активная каспаза 9 непосредственно расщепляет и активирует каспазу 3. Когда количество активированной каспазы 3 достигнет критического значения, в клетке, происходит апоптоз [108].

Антрациклин-индуцированный апоптоз кардиомиоцитов связан с увеличением отношения Bax/Bcl-2 и снижением антиапоптотических факторов, которые могут возникнуть в результате многочисленных механизмов, включающих: 1) активацию белка супрессора опухоли p53, приводящего к увеличению экспрессии Bax [182]; 2) снижение регуляции транскрипционного фактора GATA-4, что приводит к уменьшению экспрессии Bcl-XL [109].

В дополнение к активации апоптотического механизма, связанного с повреждением митохондрий, активация внешнего апоптотического пути также способствует развитию антрациклин-индуцированной гибели кардиомиоцитов. Во внешнем пути лиганды, такие как Fas-L и ФНО- α , связывают их рецепторы и стимулируют активацию ассоциированных лигандов смерти [151].

Хотя в большинстве исследований было зафиксировано участие апоптоза кардиомиоцитов в антрациклин-индуцированной кардиотоксичности, некоторые результаты оспаривают участие данного механизма в реализации токсического действия антрациклинов [120, 140]. Это противоречие может быть объяснено широким спектром экспериментальных условий, используемых в исследованиях, включая различия в дозе и частоте применения антрациклинов [136].

Повышение продукции sFas-L у пациентов с антрациклин-индуцированной кардиотоксичностью указывает на Fas-индуцированный путь апоптоза, который в свою очередь потенцируется провоспалительными цитокинами, концентрация которых была повышена в нашем исследовании у женщин с развившейся дисфункцией миокарда через 12 месяцев после окончания ПХТ. Взаимосвязь между фактором некроза опухоли- α (ФНО- α) и sFas/APO-1 показана в работе Esonomou E, et al. (1998). Авторы отмечают, что незначительное повышение концентрации этого комплекса можно определить даже на самых ранних стадиях развития дисфункции левого желудочка. Доказано, что изменяющийся при дисфункции ЛЖ уровень ФНО- α может стать потенциальным индуктором программируемой гибели кардиомиоцитов [4]. Увеличение концентрации ФНО- α в плазме у пациентов с дисфункцией левого желудочка ведет к повышению содержания его клеточного рецептора и готовности к запуску апоптотического стимула. При этом ФНО- α через повышение реактивных форм кислорода индуцирует ядерные факторы гибели клетки, а также показано, что синтез растворимого Fas-L запускается при участии металлопротеиназ, активность которых повышается у больных с СН [38, 192].

Также к ключевым механизмам реализации повреждающего действия цитокинов при терапии антрациклинами можно отнести: 1) отрицательное инотропное действие; 2) патологическое ремоделирование сердца, проявляющееся, необратимой дилатацией полостей и гипертрофией кардиомиоцитов; 3) развитие дисфункции эндотелия, характеризующееся нарушением эндотелийзависимой дилатации артериол; 4) усиление процесса апоптоза кардиомиоцитов и гладкомышечных клеток артериол [1].

По результатам нашего исследования определение высокой концентрации sFas-L после окончания курса ПХТ, как и в случае с NT-proBNP, является диагностическим предиктором развития кардиотоксического ремоделирования миокарда на фоне лечения антрациклинами. Таким образом, целесообразно включение sFas-L в панель биомаркеров, наряду с NT-proBNP, для прогнозирования развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности.

Выявленные закономерности являются важными для клинической кардиологии, поскольку намечают новые перспективные пути эффективной профилактики, используя в качестве мишеней лекарственных воздействий новые, сравнительно мало изученные факторы риска развития сердечно-сосудистых осложнений при лечении опухолевых заболеваний антрациклинами.

Сывороточные биомаркеры в качестве предикторов риска развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности возможно использовать, когда ПХТ уже проводится или завершена. Соответственно, уже были активированы механизмы повреждающего действия антрациклинов. Альтернативным подходом к ранней диагностике кардиотоксичности является использование генетического тестирования еще до начала ПХТ.

Нами изучен ген *NOS3*, на характер работы которого может влиять замена азотистого основания гуанина (G) на тимин (T) в позиции 894 последовательности ДНК (полиморфный локус *Glu298Asp*). В результате такого замещения в аминокислотной последовательности белка глутаминовая аминокислота в позиции 298 заменяется на аспарагиновую. Маркер связан с изменением продукции NO. Генотипы G/T и T/T, ассоциированные со снижением активности NO-синтазы, предрасполагают к развитию сердечно-сосудистых заболеваний и их осложнений [50, 58]. Соответственно, можно предположить, что у носителей генотипа T/T нарушена выработка NO, в результате чего развивается дисфункция эндотелия, способствующая развитию антрациклин-индуцированного повреждения миокарда.

Было установлено, что терапия антрациклинами приводит к развитию дисфункции эндотелия, что проявляется нарушением эндотелийзависимой и эндотелийнезависимой вазодилатации, а также повышенным уровнем эндотелина-1 в плазме крови у больных с развившейся антрациклин-индуцированной кардиотоксичностью.

Еще одним механизмом, регулирующим выработку NO, является взаимосвязь между ангиотензином 2 и NO через фермент NADPH-оксидаза [89]. Ангиотензин 2 способствует активации фермента NADPH-оксидаза, что, в свою

очередь, приводит к развитию оксидативного стресса и накоплению кислородных радикалов - активных кислородных частиц [221]. В норме NO противостоит данному процессу в эндотелии. При активации NADPH-оксидазы выработка NO нарушается [89].

Изученный нами полиморфный локус C242T гена *NADPH-оксидазы* связан с изменением активности фермента [16, 89]. Генотип T/T может способствовать увеличению продукции активных форм кислорода, повышая риск развития сердечно-сосудистых осложнений при проведении ПХТ. С этим связаны возможные механизмы повреждения кардиомиоцитов при терапии антрациклинами, обусловленные образованием свободных радикалов, вызывающих перекисное окисление мембран кардиомиоцитов, индукцию окислительного стресса, а также способствуя развитию дисфункции эндотелия.

Также нами был изучен полиморфизм Arg72Pro экзона 4 гена белка транскрипционного гена ДНК-активированного протеина p53. Результаты проведенного нами исследования убедительно продемонстрировали, что данный полиморфизм у пациентов с раком молочной железы ассоциирован с высоким индивидуальным риском развития кардиотоксического поражения миокарда при проведении ПХТ с использованием антрациклинов. Так, генотип Arg/Arg полиморфного локуса Arg72Pro экзон 4 гена p53 ассоциировался с высокой интенсивностью процессов ремоделирования миокарда, вероятно вызывая повышенную индукцию апоптоза, как механизма, определяющего развитие систолической и диастолической дисфункции миокарда. В тоже время, генотип Pro/Pro проявил себя как протективный фактор в отношении развития патологии. Это может иметь важное значение для использования данного полиморфизма в качестве маркера риска развития антрациклиновой кардиотоксичности.

Полиморфизм p53 в 72 кодоне расположен в богатой пролином области, необходимой для белка, чтобы осуществлять свою проапоптотическую функцию. Продукт гена p53 - белок, содержащий аргинин в позиции 72, в большей степени индуцирует апоптоз, чем белок с пролином в данной позиции, тогда как Pro/Pro форма индуцирует клеточный цикл в фазе G1, определяя тем самым клеточную

пролиферацию [80]. Повышенной индукцией апоптоза, скорее всего, и объясняется ассоциация генотипа Arg/Arg полиморфного локуса Arg72Pro экзон 4 гена *p53* с высоким риском развития поражения сердца при применении антрациклинов.

Leong S.L. et al. (2017) представили мета-анализ по влиянию генетических полиморфизмов на риск развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности. Было показано, что полиморфизмы только трех (3,6%) из 84 генов-кандидатов достоверно ассоциировались с повышенным риском развития кардиотоксичности у лиц, получавших лечение антрациклинами. Однако индивидуальный риск, обеспечиваемый любым из этих генов-кандидатов, был умеренным (OR=1,55-2,20) [116]. У исследованных нами генов кандидатов носителей относительный риск был выше (генотип Arg/Arg гена белка *p53* (rs1042522) (OR=2,972, $p=0,001$), генотип T/T гена *NADPH-оксидазы* (rs4673) (OR=2,753, $p=0,008$) и генотип T/T гена *NOS3* (rs1799983) (OR=3,059, $p=0,018$)).

Информация о возможном высоком индивидуальном риске кардиотоксического действия антрациклинов, полученная при генотипировании, позволит онкологам корректировать химиотерапевтические режимы еще до начала лечения опухолевого заболевания и/или позволит кардиологам профилактировать развитие СН. Другими словами, соответствующее вмешательство может быть осуществлено до того как произошло серьезное повреждение миокарда, что необходимо для снижения заболеваемости и смертности в результате сердечно-сосудистых осложнений при проведении химиотерапии.

Носители генотипа Arg/Arg гена *p53* (rs1042522), генотипа T/T гена *NOS3* rs1799983 и генотипа T/T гена *NADPH-оксидазы* rs4673 представляют особую группу высокого генетического риска развития ХСН, поэтому именно эти пациенты с опухолевым заболеванием, которым планируется терапия антрациклинами, составляют, прежде всего, приоритетную группу диспансерного наблюдения с организацией эффективных целевых профилактических

мероприятий, направленных на улучшение качества жизни пациентов и снижение у них исключительно высокой преждевременной смертности.

Резюмируя полученные данные, следует особо подчеркнуть, что выраженные различия по частоте встречаемости разработанных нами генетических признаков между группами пациентов получавших антрациклины при проведении ПХТ позволяют рекомендовать более широкое использование в кардиологической практике разработанных критериев прогнозирования – генетических маркеров предрасположенности пациента к развитию антрациклиновой кардиомиопатии.

Возможным кардиопротективным действием при терапии антрациклинами могут обладать ингибиторы АПФ, антагонисты рецепторов ангиотензина 2, β -адреноблокаторы. Так, добавление эналаприла или рамиприла к ПХТ с использованием эпирубина приводило к повышению ФВ ЛЖ с 18–30% до практически нормальных величин [131]. Некоторые исследования показали положительное влияние ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента, если они были назначены во время ПХТ [24].

Kalay N. с соавт. продемонстрировали, что у пациентов, получавших карведилол в дозе 50 мг в сутки после проведенной химиотерапии антрациклинами, фракция выброса сохранялась и при этом не наблюдалось отрицательной динамики КДР и КСР левого желудочка. В то же время у пациентов, получавших плацебо, регистрировали снижение ФВ ЛЖ и значительное увеличение КДР и КСР левого желудочка [103]. Возможными механизмами кардиопротекторного эффекта карведилола при антрациклин-индуцированной ремоделировании миокарда, возможно, являются его антиоксидантные и антиапоптотические свойствами.

Селективный β 1-адреноблокатор небиволол показал выраженное кардиопротекторное действие, стимулируя синтез NO и, тем самым улучшая вазодилаторную функцию эндотелия при терапии антрациклинами [11].

Показано, что хелатор железа декстразоксан снижает продукцию АФК и тяжесть антрациклин-индуцированной кардиотоксичности [123]. Однако,

несмотря на обнадеживающие кардиопротекторные эффекты, отношение к широкому клиническому применению декстразоксана настороженное, вследствие его выраженного побочного действия, проявляющегося тяжелой миелосупрессией, которая потенцируется доксорубицином [65].

На схеме 1 представлен возможный алгоритм обследования больных с РМЖ с целью прогнозирования риска развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности.

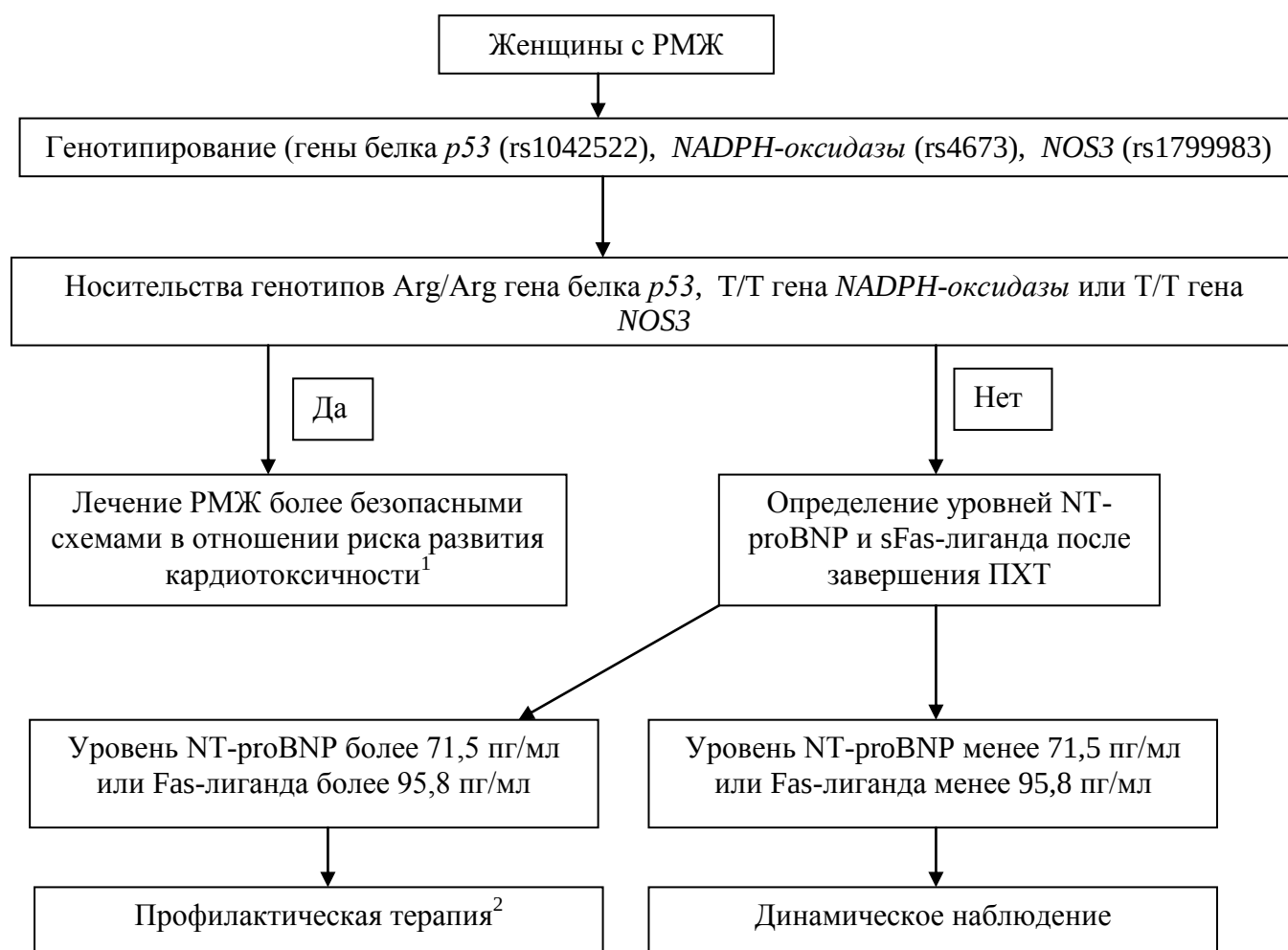


Схема 1. Рекомендованный алгоритм обследования больных с РМЖ.

Примечание. 1 - использование липосомальной формы доксорубицина или применение схем ПХТ, исключающих использование антрациклинов [226], 2 - профилактическая терапия с использованием ингибиторов АПФ, антагонистов рецепторов ангиотензина 2, β -адреноблокаторов [11, 103, 131, 226].

Основываясь на знаниях о механизмах развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности, необходимо проведение тщательной спланированных клинически контролируемых исследований по изучению возможностей первичной профилактики развития патологии в группах высокого риска, установленных на основании данных генетического тестирования и динамики биомаркеров кардиотоксического ремоделирования миокарда.

ВЫВОДЫ

1. У пациенток с раком молочной железы через 12 месяцев после завершения полихимиотерапии, включающей антрациклины, в 29,5% случаев диагностируется кардиотоксичность химиотерапии, характеризующаяся снижением фракции выброса левого желудочка, повышением конечного систолического и конечного диастолического размеров левого желудочка более 10% от исходной, а также развитием признаков ХСН.
2. К развитию антрациклин-индуцированной кардиотоксичности у женщин с раком молочной железы предрасполагает носительство генотипов Arg/Arg гена белка *p53* (rs1042522) (OR=2,972; p=0,001), T/T гена *NADPH-оксидазы* (rs4673) (OR=2,753; p=0,008) и T/T гена *NOS3* (rs1799983) (OR=3,059; p=0,018). Полиморфизмы генов белка *p53* (rs1042522) (генотип Pro/Pro - OR=0,360; p=0,028) и *GPX1* (rs1050450) (генотип C/C - OR=0,458; p=0,020) оказывают протективный эффект на сердце при полихимиотерапии с использованием антрациклинов у женщин с раком молочной железы.
3. Повышение содержания растворимого Fas-лиганда в крови у больных с раком молочной железы через 12 месяцев после окончания полихимиотерапии и носительство генотипа Arg/Arg гена белка *p53* (rs1042522) свидетельствуют об активации апоптоза при токсическом поражении миокарда на фоне терапии антрациклинами.
4. У больных с раком молочной железы и развившейся антрациклин-индуцированной кардиотоксичностью через 12 месяцев после окончания полихимиотерапии выявляется повышенный уровень ФНО- α и ИЛ-1 β , что свидетельствует о патогенетической роли провоспалительных цитокинов в развитии поражения сердца при терапии антрациклинами.
5. Кардиоваскулярные повреждения, возникающие при химиотерапии антрациклинами рака молочной железы, сопровождаются дисфункцией эндотелия через 12 месяцев после окончания полихимиотерапии, что подтверждается нарушением эндотелийзависимой и эндотелийнезависимой вазодилатации, а также повышенным уровнем эндотелина-1 в плазме крови.

6. Определение уровня предшественника мозгового натрийуретического пептида более 71,5 пг/мл (чувствительность – 100%, специфичность – 91,9%; AUC=0,994; $p=0,0001$) и уровня растворимого Fas-лиганда более 95,8 пг/мл (чувствительность – 92,1%, специфичность – 92,2%; AUC=0,951; $p=0,0001$) после завершения полихимиотерапии с антрациклинами позволяет прогнозировать развитие антрациклин-индуцированной кардиотоксичности через 12 месяцев после завершения полихимиотерапии у женщин с раком молочной железы.
7. Наиболее информативной моделью прогноза развития кардиотоксического поражения миокарда через 12 месяцев после завершения полихимиотерапии у женщин с раком молочной железы является модель на основе многофакторной оценки, включающей уровень NT-proBNP в крови и носительство генотипа Arg/Arg гена белка *p53* (rs1042522).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. До начала полихимиотерапии рака молочной железы пациенткам рекомендуется проводить определение полиморфизмов генов *p53* (rs1042522), *NADPH-оксидазы* (rs4673), а также *NOS3* (rs1799983), и при подтверждении носительства даже одного из них считать риск развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности повышенным.
2. Для прогноза развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности у женщин с раком молочной железы рекомендуется после завершения полихимиотерапии определять содержание NT-proBNP и sFas-лиганда в плазме крови.
3. Для оптимизации персонифицированной ранней диагностики сердечной недостаточности на фоне антрациклин-индуцированной кардиотоксичности целесообразно шире использовать модель многофакторной оценки, включающей уровень NT-proBNP и наличие генотипа Arg/Arg гена белка *p53* (rs1042522).

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АГ – артериальная гипертония

АФК – активные формы кислорода

ДАД - диастолическое артериальное давление

ЗСЛЖ – задняя стенка левого желудочка

ИА – индекс атерогенности

ИАПФ – ингибитор ангиотензинпревращающего фермента

ИБС – ишемическая болезнь сердца

ИЛ-1 β – интерлейкин-1 β

ИМ- инфаркт миокарда

ИМТ – индекс массы тела

КДР – конечный диастолический размер

КСР – конечный систолический размер

ЛЖ – левый желудочек

ЛПВП - липопротеиды высокой плотности

ЛПНП – липопротеиды низкой плотности

Me – медиана

МЖП – межжелудочковая перегородка

НАДФ - никотинамидадениндинуклеотидфосфат

НУП – натрийуретический пептид

ОХС – общий холестерин

ПА - плечевая артерия

ПДРФ – полиморфизм длин рестрикционных фрагментов

ПОЛ – перекисное окисление липидов

ПХТ - полихимиотерапия

ПЦР – полимеразная цепная реакция

РМЖ - рак молочной железы

РФ – Российская Федерация

САД - систолическое артериальной давление

СН – сердечная недостаточность

ТГ – триглицериды

ТШХ – тест 6-минутной ходьбы

ФВ – фракция выброса

ФК – функциональный класс

ФНО- α – фактор некроза опухоли- α

ХС – холестерин

ХСН – хроническая сердечная недостаточность

ЧСС – частота сердечных сокращений

ШОКС – шкала оценки клинического состояния

ЭЗД – эндотелийзависимая дилатация

ЭКГ - электрокардиограмма

ЭНЗД – эндотелийнезависимая дилатация

Эхо-КГ – эхокардиография

BNP - мозговой натрийуретический пептид

CNP - натрийуретический пептид Ц

EDNRA – рецептор эндотелина-1 типа А

ELISA - иммуноферментный твердофазный анализ

eNOS – эндотелиальная синтаза окиси азота

Fas-R - Fas-рецептор

GPX – глутатионпероксидаза

NO – оксид азота

NT-proBNP – предшественник мозгового натрийуретического пептида

NYHA - Нью-Йоркская кардиологическая ассоциация

OR – отношение шансов

sFas-L – растворимый Fas-лиганд

SOD – супероксиддисмутаза

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Беленков, Ю.Н. Хроническая сердечная недостаточность. Избранные лекции по кардиологии / Ю. Н. Беленков, В. Ю. Мареев, Ф. Т. Агеев // М.: ГЭОТАР-Медиа. - 2006. – 432 с.
2. Березикова, Е.Н. Цитокиновый профиль при хронической сердечной недостаточности / Е. Н. Березикова, М. Г. Пустоветова, С.Н. Шилов и др. // Патология кровообращения и кардиохирургия. - 2012. - №3. - С. 57-60.
3. Березикова, Е.Н. Роль цитокиновой агрессии в развитии хронической сердечной недостаточности / Е. Н. Березикова, С. Н. Шилов, А. Т. Тепляков и соавт. // Кубанский научный медицинский вестник. – 2011. – Т. 127, № 4. – С. 29-31.
4. Бойчук, С.В. Fas-рецептор и его роль при atopических заболеваниях / С. В. Бойчук, И. Г. Мустафин // Иммунология. – 2001. - № 3. – С. 24–29.
5. Бражник, В.А. Наследственные факторы и гипертрофия левого желудочка / В.А. Бражник, Д. А. Затейщиков, Б. А. Сидоренко // Кардиология. - 2003. – Т. 43, №1. - С. 78-86.
6. Васюк, Ю. А. Кардиоонкология: современные аспекты диагностики сердечно-сосудистых осложнений при противоопухолевой терапии / Ю. А. Васюк, Е. Л. Школьник, В. В. Несветов и др. //Журнал Сердечная Недостаточность. - 2016. - Т.17, № 6. – С. 383-387.
7. Васюк, Ю. А. Кардиоонкология: современные аспекты профилактики антрациклиновой кардиотоксичности / Ю. А. Васюк, Е. Л. Школьник, В. В. Несветов, Л Д. Школьник // Кардиология. - 2016. - Т.56, №12. - С.72-79.
8. Визир, В. А. Иммуновоспалительная активация как концептуальная модель формирования и прогрессирования сердечной недостаточности / В. А. Визир, А. Е. Березин // Терапевтический архив. – 2000. – № 4. – С. 77–80.
9. Жейкова, Т.В. Полиморфизм Pro198Leu гена глутатионпероксидазы (GPX1): связь с продолжительностью жизни и ишемической болезнью сердца / Т. В.

- Жейкова, М. В. Голубенко, С. В. Буйкин и др. // Молекулярная биология. - 2012. - № 3. – С. 481-486.
10. Состояние онкологической помощи населению России в 2017 году / Под ред. А.Д.Каприна, В.В.Старинского, Г.В.Петровой // М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России. - 2018. - 236 с.
 11. Калинкина, Н. В. Влияние небиволола на систолическую функцию левого желудочка у пациентов, получающих антрациклиновые антибиотики / Н. В. Калинкина // Український медичний альманах. – 2008. – №1. – С. 1–12.
 12. Калюжин, В.В. Патогенез хронической сердечной недостаточности: изменение доминирующей парадигмы / В. В. Калюжин, А. Т. Тепляков, Ю. Ю. Вечерский, Н. В. Рязанцева, А. П. Хлапов // Бюллетень сибирской медицины. – 2007. – Т. 6, № 4. – С. 71-79.
 13. Карпов, Ю.А. Роль нейрогуморальных систем в развитии и прогрессировании хронической сердечной недостаточности: эндотелиальные факторы / Ю. А. Карпов // Сердечная недостаточность. - 2002. - Т.3, №1. - С. 22-25.
 14. Князькова, И. И. Влияние каптоприла на изменение эндотелиальных факторов у больных с острым инфарктом миокарда / И. И. Князькова, А. И. Цыганков, С. Р. Далашзаде // Украинский кардиологический журнал. – 2004. – № 7. – С. 34-38.
 15. Кротова, Ю. Н. Роль апоптоза в патологии миокарда / Ю. Н. Кротова, В. Н. Каркищенко, Д. П. Хлопонин // Биомедицина. – 2005. - Т.1, № 1. – С. 17-24.
 16. Кузнецова, Т.Ю. Хроническая сердечная недостаточность у пациентов с артериальной гипертензией и полиморфизмы Glu298Asp гена эндотелиальной NO-синтазы и C242Trp22 рhox гена NADPH-оксидазы / Т. Ю. Кузнецова, И. П. Дуданов, Д. И. Гаврилов и др. // Журнал Сердечная недостаточность. – 2007. – Т.8, № 6. – С. 274-277.
 17. Кулинский, В. И. Структура, свойства, биологическая роль и регуляция глутатионпероксидазы / В. И. Кулинский, Л. С. Колесниченко // Успехи современной биологии. - 1993. - Т. 3, № 1. - С.107-122.

18. Ланкин, В. З. Антиоксиданты в комплексной терапии атеросклероза: pro et contra / В. З. Ланкин, А. К. Тихазе, Ю. Н. Беленков // Кардиология. – 2004. - № 2. – С. 72–81.
19. Мареев, В.Ю. Клинические рекомендации ОССН - РКО - РНМОТ. Сердечная недостаточность: хроническая (ХСН) и острая декомпенсированная (ОДСН). Диагностика, профилактика и лечение / В. Ю. Мареев, И. В. Фомин, Ф. Т. Агеев и др. // Кардиология. – 2018. - Т. 58, № 6. – С. 8-158.
20. Меньщикова, Е. Б. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты / Е. Б. Меньщикова, В. З. Ланкин, Н. К. Зенков и др. // М.: Слово. - 2006. – 556 с.
21. Минушкина, Л. О. Генетические аспекты регуляции эндотелиальной функции при артериальной гипертензии. / Л. О. Минушкина, Д. А. Затейщиков, Б. А. Сидоренко // Кардиология. 2000. – Т. 40, №3. – С.68-76.
22. Непомнящих, Л. М. Регенераторно-пластическая недостаточность сердца: молекулярно-биологические механизмы и морфологические основы / Л. М. Непомнящих // Архив патологии. - 2007. – Т. 69, №3. – С.3-12.
23. Овчинников, А. Г. Роль кардиолога в ведении больных, получающих антрациклины. Раннее выявление и профилактика антрациклиновой кардиомиопатии / А. Г. Овчинников, М. В. Виценя, Ф.Т. Агеев // Журнал Сердечная недостаточность. - 2015. -Т. 16, № 6. – С. 396-404.
24. Правдивцева, Е. В. Профилактика кардиотоксического действия антрациклинового антибиотика доксорубицина: роль ингибитора ангиотензинпревращающего фермента периндоприла / Е. В. Правдивцева, Н. Г. Потешкина, А. М. Сванадзе, Д. С. Рыльский // Клиницист. - 2011. - №3. – С. 55–61.
25. Радюкова, И. М. Эндотелиальная дисфункция как патогенетический фактор повреждения внутренних органов при полихимиотерапии рака молочной железы / И. М. Радюкова, Г. И. Нечаева, О. Ю. Кореннова и др. // Сибирский медицинский журнал. - 2012. – Т. 27, № 1. – С. 85-89.

26. Саенко, Ю. В. Роль оксидативного стресса в патологии сердечно-сосудистой системы у больных с заболеваниями почек. Сообщение I. Патофизиология оксидативного стресса / Ю. В. Саенко, А. М. Шутов // Нефрология и диализ. - 2004. – Т 1, № 6. - С. 47-53.
27. Селиверстова, Д. В. Кардиотоксичность химиотерапии / Д. В. Селиверстова, О. В. Евсина // Сердце: журнал для практикующих врачей. - 2016. – Т. 15, № 1. – С. 50-57.
28. Семенова, А. И. Кардио- и нейротоксичность противоопухолевых препаратов (патогенез, клиника, профилактика, лечение) / А.И. Семенова // Практическая онкология. – 2009. – Т.10, №3. – С. 168-176.
29. Тепляков, А. Т. Роль цитокинов в рестенозировании коронарных стентов и эффективность вторичной профилактики статинами / А. Т. Тепляков, Е. В. Рыбальченко // Клиническая медицина. – 2008. - №8. – С. 32-39.
30. Тепляков, А.Т. Молекулярно-генетические механизмы развития сердечной недостаточности. Новые персонифицированные технологии в медицине / А. Т. Тепляков, С. Н. Шилов, С. Д. Маянская //Томск: Издательство Томского университета. - 2014. - 232 с.
- 31.Шувалова, Ю. А. Полиморфизм Prol98Leu гена GPX-1 и активность эритроцитарной глутатионпероксидазы и продуктов перекисного окисления липидов / Ю. А. Шувалова, А. И. Каминный, А. Н. Мешков, В. В. Кухарчук // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2010. - № 6. - С. 682-685.
32. Albini, A. Cardiotoxicity of anticancer drugs: the need for cardio-oncology and cardio-oncological prevention / A. Albini, G. Pennesi, F. Donatelli, R. Cammarota, S. De Flora, D. M. Noonan //Journal of the National Cancer Institute. – 2010. Vol. 102. – P. 14-25.
33. Almuwaqqat, Z. Breast Cancer and Heart Failure / Z. Almuwaqqat, JL. Meisel, A. Barac, S. Parashar // Heart Fail Clin. – 2019. – Vol.15, N 1. – P. 65-75.

34. Anqi, Y. Use of echocardiography to monitor myocardial damage during anthracycline chemotherapy / Y. Anqi, Z. Yu, X. Mingjun et al. // Echocardiography. – 2019. – Vol. 36, N 3. – P. 495-502.
35. Arima, Y. Transcriptional blockade induces p53-dependent apoptosis associated with translocation of p53 to mitochondria / Y. Arima, M. Nitta, S. Kuninaka, D. Zhang, T. Fujiwara, Y. Taya al. // J Biol Chem. - 2005. - Vol. 280, N 19. - P. 19166-19176.
36. Armstrong, G.T. Aging and risk of severe, disabling, life-threatening, and fatal events in the Childhood Cancer Survivor Study / G. T. Armstrong, T. Kawashima, W. Leisenring et al. // J Clin Oncol. – 2014. – Vol. 32. – P. 1218-1227.
37. Aslam, S. Vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in metastatic renal cell cancer: latest results and clinical implications /S. Aslam, T. Eisen // Ther Adv Med Oncol. – 2013. - N 5. – P. 324-333.
38. Atasoy, P. Fas-mediated pathway and apoptosis in normal, hyperplastic, and neoplastic endometrium / P. Atasoy, O. Bozdogan, S. Erekul et al. // Gynecologic Oncology. – 2003. - Vol. 91, N 2. – P. 309–317.
39. Auner, H.W. Prolonged monitoring of troponin T for the detection of anthracycline cardiotoxicity in adults with hematological malignancies / H. W. Auner, C. Tinchon, W. Linkesch, A. Tiran, F. Quehenberger et al. // Ann Hematol. – 2003. – Vol. 82. – P. 218–222.
40. Aydin, A. F. The evaluation of endothelin 1 (EDN1) and endothelin receptor type A (EDNRA) gene polymorphisms in Hashimoto's thyroiditis / A.F. Aydin, P. Vural, C. U. Oruc et al. // Int Immunopharmacol. – 2014. – Vol. 21, N 1. – P. 181-185.
41. Baldus, S. Myeloperoxidase serum levels predict risk in patients with acute coronary syndromes / S. Baldus, C. Heeschen, T. Meinertz, AM. Zeiher, JP. Eiserich et al. // Circulation. – 2003. – Vol. 108. - P. 1440–1445.
42. Bay, M. NT-proBNP: a new diagnostic screening tool to differentiate between patients with normal and reduced left ventricular systolic function /M. Bay, V. Kirk, J. Parner et al. // Heart. - 2003. - Vol. 89. – P. 150–154.

43. Bird, B. R. Cardiac toxicity in breast cancer survivors: review of potential cardiac problems / B. R. Bird, S. M. Swain // Clin Cancer Res. – 2008. – Vol. 14, N 1. - P. 14-24.
44. Bodai, B.I. Breast cancer survivorship: a comprehensive review of long-term medical issues and lifestyle recommendations / B.I. Bodai, P. Tusso, J. Perm // - 2015. - Vol.19. – P. 48-79.
45. Böhm, F. The importance of endothelin-1 for vascular dysfunction in cardiovascular disease / F. Böhm, J. Pernow // Cardiovasc Res. – 2007. – Vol.76, N 1. – P. 8-18.
46. Bonow, R. O. ACC/AHA Clinical Performance Measures for Adults with Chronic Heart Failure: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Performance Measures (Writing Committee to Develop Heart Failure Clinical Performance Measures): endorsed by the Heart Failure Society of America / R. O. Bonow, S. Bennett, D. E. Casey et al. // Circulation. – 2005. – Vol. 112, N12. -P. 1853-1887.
47. Bovelli, D. Cardiotoxicity of chemotherapeutic agents and radiotherapy-related heart disease: ESMO Clinical Practice Guidelines / D. Bovelli, G. Plataniotis, F. Roila // Ann Oncol. – 2010. – Vol. 21, N 5. – P. 277-282.
48. Bronze-da-Roch, E. MicroRNAs expression profiles in cardiovascular diseases / E. Bronze-da-Roch // Biomed Res Int. - 2014. - 985408.
49. Cadeddu, C. Protective effects of the angiotensin II receptor blocker telmisartan on epirubicininduced inflammation, oxidative stress, and early ventricular impairment / C. Cadeddu, A. APiras, G. Mantovani et al. // Am. Heart Journal. – 2010. – Vol. 160. - P. 487.e1-487.e7.
50. Campedelli, F.L. Polymorphism of the gene eNOS G894T (Glu298Asp) in symptomatic patients with atherosclerosis / F. L. Campedelli, K. S. F. E Silva, D. A. Rodrigues et al. // Genet Mol Res. – 2017. - Vol. 16, №2. – gmr16029550.
51. Cardinale, D. Early detection of anthracycline cardiotoxicity and improvement with heart failure therapy / D. Cardinale, A. Colombo, G. Bacchiani, I. Tedeschi, CA. Meroni, F. Veglia et al. // Circulation. – 2015. – Vol. 131. – P. 1981–1988.

52. Cardinale, D. Prevention of high-dose chemotherapy-induced cardiotoxicity in high-risk patients by angiotensin-converting enzyme inhibition / D. Cardinale, A. Colombo, M.T. Sandri, G. Lamantia, N. Colombo et al. // *Circulation*. – 2006. – Vol. 114. – P. 2474–2481.
53. Cardinale, D. Troponin I and cardiovascular risk stratification in patients with testicular cancer / D. Cardinale, G. Lamantia, C. M. Cipolla // *J. Clin Oncol.* – 2006. Vol. 24. – P. 3508.
54. Cardinale, D. Prognostic value of troponin I in cardiac risk stratification of cancer patients undergoing high-dose chemotherapy / D. Cardinale, M.T. Sandri, A. Colombo, N. Colombo, M. Boeri M. et al. // *Circulation*. – 2004. – Vol.109. – P. 2749–2754.
55. Cardinale, D. Myocardial injury revealed by plasma troponin I in breast cancer treated with high-dose chemotherapy / D. Cardinale, M.T. Sandri, A. Martinoni et al. // *Ann Oncol.* – 2002. – Vol.13. – P. 710–715.
56. Cardinale, D. Left ventricular dysfunction predicted by early troponin I release after high-dose chemotherapy / D. Cardinale, M.T. Sandri, A. Martinoni et al. // *J Am Coll Cardiol.* – 2000. – Vol. 36. – P. 517–522.
57. Cardinale, D. Anthracycline-induced cardiomyopathy: clinical relevance and response to pharmacologic therapy / D. Cardinale, A. Colombo, G. Lamantia et al. // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2010. – Vol. 55. – P. 213-220.
58. Chen, X. J. The association between an endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism and coronary heart disease in young people and the underlying mechanism / X. J. Chen, C. G. Qiu, X. D. Kong et al. // *Mol Med Rep.* – 2018. – Vol. 17, N 3. – P. 3928-3934.
59. Chiosi, E. Change in TNF-alpha receptor expression is a relevant event in doxorubicin-induced H9c2 cardiomyocyte cell death / E. Chiosi, A. Spina, A. Sorrentino et al. // *J Interferon Cytokine Res.* - 2007. – Vol. 27. – P. 589-597.
60. Choi, J. Y. Transthoracic echocardiographic assessment of adriamycin-induced cardiomyopathy in rats with a 15 MHz transducer / J. Y. Choi, H. J. Youn, J. H. Kang et al. // *J Korean Soc Echocardiogr.* – 2000. – Vol. 8. – P. 78-86.

61. Choi, Y. S. The relation between acute adriamycin induced cardiomyopathy and apoptosis in rat: study using 15 MHz high frequency transducer / Y. S. Choi, C. S. Park, E. J. Cho et al. // J Korean Soc Echocardiogr. – 2002. – Vol.10. – P. 35-43.
62. Christenson, E. S. Use of biomarkers for the assessment of chemotherapy-induced cardiac toxicity / E. S. Christenson, T. James, V. Agrawal, B. H. Park. // Clin Biochem. – 2015. – Vol. 48. – P. 223–235.
63. Conraads, V. Pro-inflammatory cytokines and their receptors in chronic heart failure: do they really matter? / V. Conraads // Acta Cardiol. - 2006. - Vol. 61, N 2. - P. 161-168.
64. Cotton, J.M. Nitric oxide and myocardial function in heart failure: friend or foe? / J. M. Cotton, M. T. Kearney, A. M. Shah // Heart. - 2002. – Vol. 88, N 6. – P. 564-566.
65. Curran, C.F. Toxicity profile of dexrazoxane (Zinecard, ICRF-187, ADR-529, NSC-169780), a modulator of doxorubicin cardiotoxicity / C.F. Curran, P. K. Narang, R. D. Reynolds // Cancer Treat. Rev. – 1991. – Vol. 18. – P. 241–252.
66. de Geus-Oei, L.-F. Scintigraphic Techniques for Early Detection of Cancer Treatment – Induced Cardiotoxicity / L.-F. de Geus-Oei, A. M. C. Mavinkurve-Groothuis, L. Bellersen et al. // J. Nucl. Med. – 2011. - Vol. 52. - N 4. - P. 560-571.
67. De Iuliis, F. Serum biomarkers evaluation to predict chemotherapy-induced cardiotoxicity in breast cancer patients / F. De Iuliis, G. Salerno, L. Taglieri L. De Biase, R. Lanza et al. // Tumour Biol. – 2016. – Vol. 37. – P. 3379–3387.
68. Denu, S. Brain Natriuretic Peptide in the Management of Heart Failure / S. Denu, C. Pharand, D. Williamson // Chest – 2004. - Vol. 125. – P. 652–668.
69. Desai, V. G. Early biomarkers of doxorubicin-induced heart injury in a mouse model / V. G. Desai, J. C Kwekel, V. Vijay et al. // Toxicol Appl Pharmacol. – 2014. – Vol. 28. – P. 221–229.
70. Desai, V. G. Development of doxorubicin-induced chronic cardiotoxicity in the B6C3F1 mouse model / V. G. Desai, E. H. Herman, C. L. Moland et al. // Toxicol Appl Pharmacol. – 2013. – Vol. 266. – P. 109–121.

71. DeSantis, C. E. Cancer treatment and survivorship statistics, 2014 / C. E. DeSantis, C. C. Lin, A. B. Mariotto et al. // *CA Cancer J Clin.* - 2014. – Vol. 64. - P. 252-71.
72. Devaux, Y. MicroRNA-150: a novel marker of left ventricular remodeling after acute myocardial infarction / Y. Devaux, V. Vausort, G. P. McCann et al. // *Circ Cardiovasc Genet.* – 2013. – Vol. 6. – P. 290–298.
73. di Giovine, F. S. Single base polymorphism at IL-1B (-511) in the human interleukin-1 beta gene / F.S. di Giovine, E. Taknsh, A.F. Blakemore et al. // *Hum Mol Genet.* - 1992. - Vol. 1. - P. 353-357.
74. Dinarello, C.A. Interleukin-1 / C. A. Dinarello // *Cytokine and Growth Factor Reviews.* - 1997. - Vol. 8, N 4. - P. 253-265
75. Divakaran, V. The emerging role of microRNAs in cardiac remodeling and heart failure / V. Divakaran, D. L. Mann // *Circ Res.* – 2008. – Vol. 103. – P. 1072–1083.
76. Dolci, A. Biochemical markers for prediction of chemotherapy-induced cardiotoxicity: systematic review of the literature and recommendations for use / A. Dolci, R. Dominici, D. Cardinale, MT. Sandri, M. Panteghini // *Am J Clin Pathol.* – 2008. – Vol. 130. – P. 688–695.
77. Doroshov, J. H. Redox cycling of anthracyclines by cardiac mitochondria. II. Formation of superoxide anion, hydrogen peroxide, and hydroxyl radical / J. H. Doroshov, K. J. Davies // *J Biol Chem.* – 1986. – Vol. 261. – P. 3068–3074.
78. Dorosz, J. L. Performance of 3-dimensional echocardiography in measuring left ventricular volumes and ejection fraction: a systematic review and meta-analysis / J .L. Dorosz, D. C. Lezotte, D. A. Weitzenkamp et al. // *J Am Coll Cardiol.* – 2012. – Vol. 59, N 20. – P. 1799-1808.
79. Druker, B. J. Five-year follow-up of patients receiving imatinib for chronic myeloid leukemia / B. J. Druker et al. // *New England Journal of Medicine.* – 2006. – Vol. 355, N 23. – P. 2408–2417.
80. Dumont, P. The codon 72 polymorphic variants of p53 have markedly different apoptotic potential / P. Dumont, J. I. Leu, A. C. Della Pietra, D. L. George, M. Murphy // *Nat Genet.* – 2003. – Vol. 33, N 3. – P. 357-65.

81. Ewer, M. S. Cardiotoxicity of anticancer treatments. *Nature Reviews* / M. S. Ewer, S. M. Ewer // *Cardiology*. – 2015. – Vol. 12. – 620 p.
82. Ewer, M. S. Type II chemotherapy-related cardiac dysfunction: time to recognize a new entity / M. S. Ewer, S. M. Lippman // *J Clin Oncol*. – 2005.- Vol.13. – P. 2900–2902.
83. Florescu, M. Chemotherapy-induced Cardiotoxicity / M. Florescu, M. Cinteza, D. Vinereanu // *Maedica (Buchar)*. – 2013. – Vol. 8. – P. 59–67.
84. Fogli, S. The role of nitric oxide in anthracycline toxicity and prospects for pharmacologic prevention of cardiac damage / S. Fogli, P. Nieri, M. C. Breschi, J. Faseb // *FASEB J*. - 2004. – Vol.18. – P. 664–675.
85. Force, T. Cardiotoxicity of kinase inhibitors: the prediction and translation of preclinical models to clinical outcomes / T. Force, K. L. Kolaja // *Nat Rev Drug Discov*. – 2011. – Vol.10. – P. 111-126.
86. Funakoshi, T. Risk of hypertension in cancer patients treated with sorafenib: an updated systematic review and meta-analysis / T. Funakoshi, A. Latif, M. D. Galsky // *J Hum Hypertens*. – 2013. – Vol. 27. – P. 601-611.
87. Ganame, J. Acute cardiac functional and morphological changes after Anthracycline infusions in children / J. Ganame, P. Claus, B. Eyskens et al. // *American Journal of Cardiology*. – 2007. – Vol.99, N 7. – P. 974-977.
88. Garg, S. Apoptosis and heart failure: clinical relevance and therapeutic target / S. Garg, J. Narula, Y. Chandrashekar // *J of Molecular and Cellular Cardiology*. – 2005. – Vol. 38. – P. 73-79.
89. Gao, L. Sympathoexcitation by central ANG II: roles for AT-1 receptor upregulation and NAD(P)H oxidase in RVLM / L. Gao, W. Wang, Y. L. Li et al. // *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. – 2005. – Vol. 288, N 5. – P. 2271-2279.
90. Gealekman, O. Role of myocardial inducible nitric oxide synthase in contractile dysfunction and beta-adrenergic hyporesponsiveness in rats with experimental volume-overload heart failure / J. Gealekman, Z. Abassi, I. Rubinstein, J. Winaver, O. Binah // *Circulation*. – 2002. – Vol. 15, N 2. – P. 236-243.

91. Gimeno, E. NT-proBNP: a cardiac biomarker to assess prognosis in non-Hodgkin lymphoma / T. Gimeno, M. Gómez, J. R. González et al. // *Leuk Res.* – 2011. -Vol. 35. – P. 715-20.
92. Ginzac, A. Treatment-Induced Cardiotoxicity in Breast Cancer: A Review of the Interest of Practicing a Physical Activity / A. Ginzac, J. Passildas, T. Gadéa E et al. // *Oncology.* – 2019. – Vol. 96, N 5. – P. 223-234.
93. Green, D. R. The pathophysiology of mitochondrial cell death / D. P. Green, G. Kroemer // *Science.* - 2004. – Vol. 305, N 5684. – P. 626-629.
94. Hahn, V. S. Cancer therapy-induced cardiotoxicity: basic mechanisms and potential cardioprotective therapies [serial online] / V. S. Hahn, D. J. Lenihan, B. Ky // *J Am Heart Assoc.* – 2014. – Vol. 3., N 2. - e000665.
95. Hantson, P. Mechanisms of toxic cardiomyopathy / P. Hantson // *Clin Toxicol (Phila).* – 2019. – Vol.57, N 1. – P. 1-9.
96. Henriksen, P. A. Therapeutic inhibition of tumour necrosis factor α in patients with heart failure: cooling an inflamed heart / P. A. Henriksen, D. E. Newby // *Heart.* – 2003. – Vol. 89. – P. 14–18.
97. Hequet, O. Subclinical late cardiomyopathy after doxorubicin therapy for lymphoma in adults / O. Hequet, I. Le, Q. H, Moullet et al. // *J Clin Oncol.* – 2004. – Vol. 22. – P. 1864–1871.
98. Hershman, D. L. Doxorubicin, cardiac risk factors, and cardiac toxicity in elderly patients with diffuse B-cell non-Hodgkin's lymphoma / D. L. Hershman, R. B. McBride, A. Eisenberger et al. // *Journal of Clinical Oncology.* – 2008. – Vol. 26. – P. 3159-3165.
99. Horio, T. Heart failure and circulatory peptides / T. Horio // *Nippon Naika Gakkai Zasshi.* – 2005. – Vol. 94. – P. 201-207.
100. Ito, D. C242T polymorphism of NADPH oxidase p22 PHOX gene and ischemic cerebrovascular disease in the Japanese population / D. Ito, M. Murata, K. Watanabe et al. // *Stroke.* – 2000. – Vol. 31, N 4. – P. 936-939.

101. Jaworski, C. Cardiac complications of thoracic irradiation / C. Jaworski, J. A. Mariani, G. Wheeler, D. M. Kaye // *J Am Coll Cardiol.* – 2013. – Vol. 61. – P. 2319–2328.
102. Kalam, K. Role of cardioprotective therapy for prevention of cardiotoxicity with chemotherapy: a systematic review and meta-analysis / K. Kalam, T. H. Marwick // *Eur J Cancer.* – 2013. – Vol. 49. – P. 2900-2909.
103. Kalay, N. Protective effects of carvedilol against anthracycline-induced cardiomyopathy / N. Kalay, E. Basar, I. Ozdogru et al. // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2006. – Vol. 48. – P. 2258–2262.
104. Kannan, K. Oxidative stress and apoptosis / K. Kannan, S. K. Jain // *Pathophysiology.* – 2000. - Vol. 7, N 3. – P. 153-163.
105. Kantarjian, H. M. Ponatinib (PON) in patients (pts) with Philadelphia chromosome-positive (Ph+) leukemias resistant or intolerant to dasatinib or nilotinib, or with the T315I mutation: Longer-term follow up of the PACE trial / H. M. Kantarjian, Kim Dong-Wook, J. Pinilla-Ibarz et al. // *Journal of Clinical Oncology.* - 2014. – Vol. 32, N 15. - P. 7081-7081.
106. Kersting, G. Topoisomerase II beta expression level correlates with doxorubicin-induced apoptosis in peripheral blood cells / G. Kersting, M. V. Tzvetkov, K. Huse et al. // *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* – 2006. - Vol. 374. – P. 21–30.
107. Kilickap, S. cTnT can be a useful marker for early detection of anthracycline cardiotoxicity / S. Kilickap, I. Barista, E. Akgul et al. // *Ann Oncol.* – 2005. – Vol. 16. – P. 798–804.
108. Kim, R. Current status of the molecular mechanisms of anticancer drug-induced apoptosis. The contribution of molecular-level analysis to cancer chemotherapy / R. Kim, K. Tanabe, Y. Uchida, M. Emi et al. // *Cancer Chemother Pharmacol.* - 2002. – Vol. 50. – P. 343–352.
109. Kim, Y. Anthracycline-induced suppression of GATA-4 transcription factor: implication in the regulation of cardiac myocyte apoptosis / Y. Kim, A. G. Ma, K. Kitta et al. // *Mol Pharmacol.* – 2003. – Vol. 63. – P. 368–377.

110. Koutsoukis, A. Cardio-oncology: A Focus on Cardiotoxicity / A. Koutsoukis, A. Ntalianis, E. Repasos, E. Kastritis // *Eur Cardiol.* – 2018. – Vol. 13, N 1. – P. 64-69.
111. Kremer, L. C. Troponin T in the first 24 hours after the administration of chemotherapy and the detection of myocardial damage in children / L. C. Kremer, B. A. Bastiaansen, M. Offringa, et al. // *Eur J Cancer.* – 2002. – Vol. 38. – P. 686–689.
112. Ky, B. Early increases in multiple biomarkers predict subsequent cardiotoxicity in patients with breast cancer treated with doxorubicin, taxanes, and trastuzumab / B. Ky, M. Putt, H. Sawaya et al. // *J Am Coll Cardiol.* - 2014. – Vol. 63. – P. 809–816.
113. L'Ecuyer, T. DNA damage is an early event in doxorubicin-induced cardiac myocyte death / T. L'Ecuyer, S. Sanjeev, R. Thomas et al. // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* – 2006. – Vol. 291. – P. 1273-1280.
114. Latkovskis, G. C-reactive protein levels and common polymorphisms of the interleukin-1 gene cluster and interleukin-6 gene in patients with coronary heart disease / G. Latkovskis, N. Licis, U. Kalnins // *Eur J Immunogenet.* - 2004. - Vol. 31, N 5. - P. 207-213.
115. Lee, Y. Role of apoptosis in cardiovascular disease / Y. Lee, A. B. Gustafsson // *Apoptosis.* – 2009. – Vol. 14, N 4. – P. 536-548.
116. Leong, S. L. Candidate Gene Association Studies of Anthracycline-induced Cardiotoxicity: A Systematic Review and Meta-analysis / S. L. Leong, N. Chaiyakunapruk, S. W. Lee // *Sci Rep.* – 2017. – Vol. 7, N 1. – P. 39.
117. Levis, B. E. Cardiotoxic effects of anthracycline-based therapy: what is the evidence and what are the potential harms? / B. E. Levis, P. F. Binkley, C. L. Shapiro // *Lancet Oncol.* – 2017. – Vol. 18, N 8. – P. 445-456.
118. Levkau, B. Survivin determines cardiac function by controlling total cardiomyocyte number / B. Levkau, M. Schafers, J. Wohlschlaeger et al. // *Circulation* – 2008. – Vol. 117. – P. 1583-1593.
119. Levonen, A. Antioxidant gene therapy for cardiovascular disease: current status and future perspectives / A. Levonen, E. Vahakangas, J. K. Koponen, S. Yla-Herttuala // *Circulation.* – 2008. – Vol. 117, N 16. – P. 2142-2150.

120. Li, L. Preventive effect of erythropoietin on cardiac dysfunction in doxorubicin-induced cardiomyopathy / L. Li, G. Takemura, Y. Li et al. // *Circulation*. - 2006. – Vol. 113. – P. 535–543.
121. Licata, S. Doxorubicin metabolism and toxicity in human myocardium: role of cytoplasmic deglycosidation and carbonyl reduction / S. Licata, A. Saponiero, A. Mordente, G. Minotti // *Chem. Res. Toxicol.* - 2000. - Vol. 13, N 5. - P. 414–420.
122. Lim, C. C. Anthracyclines induce calpain-dependent titin proteolysis and necrosis in cardiomyocytes / C. C. Lim, C. Zuppinger, X. Guo et al. // *J Biol Chem.* – 2004. – Vol. 279. – P. 8290-8299.
123. Lipshultz, S. E. The effect of dexrazoxane on myocardial injury in doxorubicin-treated children with acute lymphoblastic leukemia / S. E. Lipshultz, N. Rifai, V. M. Dalton et al. // *New Engl. J. Med.* – 2004. – Vol. 351, N 2. – P. 145–153.
124. Lipshultz, S. E. The relevance of information generated by in vitro experimental models to clinical doxorubicin cardiotoxicity / S. E. Lipshultz, H. Cohen, S. D. Colan, E. H. Herman // *Leuk Lymphoma*. – 2006. – Vol. 47. – P. 1454–1458.
125. Lipshultz, S. E. Changes in cardiac biomarkers during doxorubicin treatment of pediatric patients with high-risk acute lymphoblastic leukemia: associations with long-term echocardiographic outcomes / S. E. Lipshultz, T. L. Miller, R. E. Scully et al. // *J Clin Oncol.* – 2012. – Vol. 30. – P. 1042-49.
126. Lipshultz, S. E. The effect of dexrazoxane on myocardial injury in doxorubicin-treated children with acute lymphoblastic leukemia / S. E. Lipshultz, N. Rifai, V. M. Dalton et al. // *N Engl J Med.* – 2004. – Vol. 351. – P. 145–153.
127. Lipshultz, S. E. Predictive value of cardiac troponin T in pediatric patients at risk for myocardial injury / S. E. Lipshultz, N. Rifai, S. E. Sallan et al. // *Circulation*. – 1997. – Vol. 96. – P. 2641–2648.
128. Liu, Z. MicroRNA-150 protects the heart from injury by inhibiting monocyte accumulation in a mouse model of acute myocardial infarction / Z. Liu, P. Ye, S. Wang, J. Wu, Y. Sun et al. // *Circ Cardiovasc Genet.* – 2015. – Vol. 8. – P. 11–20.
129. Louis, E. Tumour necrosis factor (TNF) gene polymorphism influences TNF-alpha production in lipopolysaccharide (LPS) stimulated whole blood cell culture in

- healthy humans / E. Louis, D. Franchimont, A. Piron et al. // Clin Exp Immunol. – 1998. – Vol. 113. – P. 401-406.
130. Lyu, Y. L. Topoisomerase IIbeta mediated DNA double-strand breaks: implications in doxorubicin cardiotoxicity and prevention by dexrazoxane / Y. L. Lyu, J. E. Kerrigan et al. // Cancer Res. – 2007. – Vol. 18. – P. 8839–8846.
 131. Ma, S. F. Effect of soybean isoflavones on heart function of rats with adriamycin-induced heart failure / S. F. Ma, S. D. Guan, Y. Zhu // Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao. – 2004. – Vol. 2. – P. 278–280.
 132. Martin, R. C. G. Manganese superoxide dismutase V16A single-nucleotide polymorphism in the mitochondrial targeting sequence is associated with reduced enzymatic activity in cryopreserved human hepatocytes / R. C. G. Martin, Y. Li, Q. Liu, et al. // DNA and Cell Biology. – 2009. – Vol. 28. – P. 3-7.
 133. Matsumoto, S. Circulating p53-responsive microRNAs are predictive indicators of heart failure after acute myocardial infarction / S. Matsumoto, Y. Sakata, S. Suna et al. // Circ Res. – 2013. – Vol. 113. – P. 322–326.
 134. Maulik, N. Differential regulation of Bcl-2, AP-1 and NK-kappa B on cardiomyocyte apoptosis during myocardial ischemic stress adaptation / N. Maulik, S. Goswami, N. Galang et al. // FEBS Lett. - 1999. - Vol. 443. - P. 331–336.
 135. Miller, K. D. Cancer treatment and survivorship statistics, 2016 / K. D. Miller, R. L. Siegel, C. C. Lin // CA Cancer J Clin. – 2016. – Vol. 66, N 4. – P. 271-89.
 136. Minotti, G. Anthracyclines: molecular advances and pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity / G. Minotti, P. Menna, E. Salvatorelli, G. Cairo, L. Gianni // Pharmacol Rev. – 2004. – Vol. 56. – P. 185–229.
 137. Minotti, G. Doxorubicin irreversibly inactivates iron regulatory proteins 1 and 2 in cardiomyocytes: evidence for distinct metabolic pathways and implications for iron-mediated cardiotoxicity of antitumor therapy / G. Minotti, R. Ronchi, E. Salvatorelli, P. Menna, G. Cairo // Cancer Res. – 2001. – Vol. 61. – P. 8422-8428.
 138. Misso, G. Mir-34: a new weapon against cancer? / G. Misso, M. T. Di Martino, G. De Rosa et al. // Mol Ther Nucleic Acids. – 2014. – Vol. 3. – P. 194.

139. Missov, E. Cardiac troponin I in patients with hematologic malignancies / E. Missov, C. Calzolari, J. M. Davy et al. // *Cardiac Coron Artery Dis.* – 1997. – Vol. 8. – P. 537–541.
140. Miyata, S. Anti-Fas gene therapy prevents doxorubicin-induced acute cardiotoxicity through mechanisms independent of apoptosis / S. Miyata, G. Takemura, K. Kosai et al. // *Am J Pathol.* – 2010. – Vol. 176. – P. 687–98.
141. Montañez-Valverde, R.A. Cardiotoxicity: Myocardium or Endothelium / R. A. Montañez-Valverde, D. Hurtado-de-Mendoza, A. Loaiza-Bonilla // *Cureus.* – 2018. – Vol. 18, N 7. – P. 2994.
142. Moore, R. A. High incidence of thromboembolic events in patients treated with cisplatin-based chemotherapy: a large retrospective analysis / R. A. Moore, N. Adel, E. Riedel et al. // *J Clin Oncol.* - 2011. - Vol. 29, N 25. - P. 3466–3473.
143. Mordente, A. Human heart cytosolic reductases and anthracycline cardiotoxicity / A. Mordente, E. Meucci, G. E. Martorana et al. // *IUBMB Life.* - 2001. Vol. 52, N 1–2. - P. 83–88.
144. Moreno, M. U. The C242T CYBA polymorphism of NADPH oxidase is associated with essential hypertension / M. U. Moreno, G. S. Jose, A. Fortuno et al. // *J Hypertens.* – 2006. – Vol. 24, N 7. – P. 1299-1306.
145. Moslehi, J. J. Tyrosine Kinase Inhibitor–Associated Cardiovascular Toxicity in Chronic Myeloid Leukemia / J. J. Moslehi, M. Deininger // *Journal of Clinical Oncology.* – 2015. – Vol. 62. – P. 4718.
146. Mughal, W. Striking a balance: autophagy, apoptosis, and necrosis in a normal and failing heart / W. Mughal, R. Dhingra, L. A. Kirshenbaum // *Curr Hypertens Rep.* – 2012. – Vol.14, N 6. – P. 540-547.
147. Muller, F. L. Trends in oxidative aging theories / F. L. Muller, M. S. Lustgarten, Y. Jang et al. // *Free Radic Biol Med.* – 2007. – Vol. 43, N 4. – P. 477–503.
148. Nebigil, C. G. Updates in Anthracycline-Mediated Cardiotoxicity / C. G. Nebigil, L. Désaubry // *Front Pharmacol.* – 2018. – Vol. 12, N 9. – P. 1262.
149. Ning, Y. S. Q. Cause of death in cancer survivors (abstr) / Y. S.Q. Ning, K. Herrick et al. // *Cancer Res.* – 2012. – Vol. 72. - LB-339.

150. Nithipongvanitch, R. Evidence for p53 as guardian of the cardiomyocyte mitochondrial genome following acute adriamycin treatment / R. Nithipongvanitch, W. Ittarat, J. M. Velez et al. // *J Histochem Cytochem.* – 2007. – Vol. 55. – P. 629–639.
151. Niu, J. Cardiac-targeted expression of soluble fas attenuates doxorubicin-induced cardiotoxicity in mice / J. Niu, A. Azfer, K. Wang, X. Wang, P. E. Kolattukudy // *J Pharmacol Exp Ther.* – 2009. – Vol. 328. – P. 740–748.
152. O'Donoghue, M. The effects of ejection fraction on N-terminal ProBNP and BNP levels in patients with acute CHF: analysis from the ProBNP Investigation of Dyspnea in the Emergency Department (PRIDE) Study / M. O'Donoghue, A. Chen, A. L. Baggish et al. // *J Card Fail.* – 2005. - Vol. 11, Suppl. 5. - P. 9-14.
153. O'Shaughnessy, J. Treatment for anthracyclinepretreated metastatic breast cancer / J. O'Shaughnessy, C. Twelves, M. Aapro M. // *Oncologist.* – 2002. – Vol. 7, (Suppl. 6). – P. 4-12.
154. Octavia, Y. Doxorubicin-induced cardiomyopathy: from molecular mechanisms to therapeutic strategies / Y. Octavia, C. G. Tocchetti, K. L. Gabrielson et al. // *J Mol Cell Cardiol.* - 2012. – Vol. 52. – P. 1213-1225.
155. Okan, G. G-231A and G+70C Polymorphisms of Endothelin Receptor Type-A Gene could Affect the Psoriasis Area and Severity Index Score and Endothelin 1 Levels / G. Okan, Z. Yıldız, G. Gökdemir et al. // *Indian J Dermatol.* – 2015. – Vol. 60, N 2. – P. 211.
156. Oliveira-Carvalho, V. Circulating mir-208a fails as a biomarker of doxorubicin-induced cardiotoxicity in breast cancer patients / V. Oliveira-Carvalho, L. R. Ferreira, E. A. Bocchi // *J Appl Toxicol.* – 2015. – Vol. 35. – P. 1071–1072.
157. Oliveira-Carvalho, V. Positive inotropic and lusitropic effects of HNO/NO- in failing hearts: independence from beta-adrenergic signaling / V. Oliveira-Carvalho, L. R. Ferreira, E. A. Bocchi // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* – 2003. – Vol. 100, N 9. – P. 5537-5542.

158. Parra, V. Changes in mitochondrial dynamics during ceramide-induced cardiomyocyte early apoptosis / V. Parra, V. Eisner, M. Chiong et al. // *Cardiovasc Res.* – 2008. – Vol. 77. – P. 387–397.
159. Pinder, M. C. Congestive heart failure in older women treated with adjuvant anthracycline chemotherapy for breast cancer / M. C. Pinder, Z. Duan, J. S. Goodwin, G. N. Hortobagyi, S. H. Giordano // *J Clin Oncol.* – 2007. – Vol. 25. – P. 3808-3815.
160. Plana, J. C. Expert consensus for multimodality imaging evaluation of adult patients during after cancer-therapy: a report from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging / J. C. Plana, M. Galderisi, A. Barac et al. // *Eur Heart J Cardiovasc Imagin.* – 2014. - Vol. 15, N 10. – P. 1063-1093.
161. Puri, A. Electrocardiographic and biochemical evidence for the cardioprotective effect of vitamin E in doxorubicin-induced acute cardiotoxicity in rats / A. Puri, S. K. Maulik, R. Ray et al. // *Eur. J. Pediatr. Surg.* – 2005. – Vol. 15, N 6. – P. 387–391.
162. Plana, J. C. Longitudinal Changes in Multiple Biomarkers Are Associated with Cardiotoxicity in Breast Cancer Patients Treated with Doxorubicin, Taxanes, and Trastuzumab / J. C. Plana, M. Galderisi, F. Barac et al. // *Clin Chem.* – 2015. – Vol. 61. – P. 1164–1172.
163. Rahman, A. Anthracycline-induced cardiotoxicity and the cardioprotective effect of liposomal formulation / A. Rahman, S. Wamique Yusuf, M. S. Ewer // *Int. J. Nanomedicine.* – 2007. - Vol. 2. - P. 567–583.
164. Rahman, T. Common genetic variation in the type A endothelin-1 receptor is associated with ambulatory blood pressure: a family study / T. Rahman, M. Baker, D. H. Hall et al. // *J Hum Hypertens.* – 2008. – Vol. 22, N 4. – P. 282-288.
165. Ran, Q. Reduction in glutathione peroxidase 4 increases life span through increased sensitivity to apoptosis / Q. Ran, H. Liang, Y. Ikeno et al. // *J Gerontol a Biol Sci Med Sci.* - 2007. – Vol. 62, N 9. – P. 932-942.

166. Ricci, C. Involvement of the mitochondrial permeability transition pore in angiotensin II mediated apoptosis / C. Ricci, V. Pastukh, S. W. Schaffer // *Exper and Clin Cardiology*/ - 2005. – Vol. 10, N 3. – P. 160–164.
167. Riddell, E. The role of cardiac biomarkers in cardio-oncology / E. Riddell, D. Lenihan // *Curr Probl Cancer*. – 2018. - Vol. 42, N 4. – P. 375-385.
168. Rochette, L. Anthracyclines/trastuzumab: new aspects of cardiotoxicity and molecular mechanisms / L. Rochette, C. Guenancia, A. Gudjoncik et al. // *Trends Pharmacol Sci*. – 2015. – Vol. 36. – P. 326-348.
169. Rubanyi, G. M. Endothelins: molecular biology, biochemistry, pharmacology, physiology, and pathophysiology / G. M. Rubanyi, M. A. Polokoff // *Pharmacol Rev*. – 1994. – Vol. 46, N 3. – P. 325-415.
170. Sabel, M. S. Is MUGA scan necessary in patients with low-risk breast cancer before doxorubicin-based adjuvant therapy? Multiple gated acquisition / M. S. Sabel, E. G. Levine, T. Hurd et al. // *Am J Clin Oncol*. – 2001. – Vol. 4. – P. 425–428.
171. Sacco, G. Chronic cardiotoxicity of anticancer anthracyclines in the rat: role of secondary metabolites and reduced toxicity by a novel anthracycline with impaired metabolite formation and reactivity / G. Sacco, R. Giampietro, E. Salvatorelli et al. // *Br. J. Pharmacol*. - 2003. - Vol. 139, N 3. - P. 641–651.
172. Sala, V. New avenues in cardio-oncology / V. Sala, M. Li A. Ghigo // *Aging (Albany NY)*. – 2019. – Vol. 11, N 4. – P. 1075-1076.
173. Salazar-Mendiguchia, J. Anthracycline-mediated cardiomyopathy: basic molecular knowledge for the cardiologist / J. Salazar-Mendiguchia, J. Gonzalez-Costello, J. Roca et al. // *Arch Cardiol Mex*. – 2014. – Vol. 84. – P. 218-223.
174. Sandri, M. T. Minor increases in plasma troponin I predict decreased left ventricular ejection fraction after high-dose chemotherapy / M. T. Sandri, D. Cardinale, L. Zorzino et al. // *Clin Chem*. – 2003. – Vol. 49. – P. 248–252.
175. Sawyer, D. B. Mechanisms of anthracycline cardiac injury: can we identify strategies for cardioprotection? / D. B. Sawyer, X. Peng, B. Chen B et al. // *Progress in Cardiovascular Diseases*. – 2012. – Vol. 53. – P. 105-113.

176. Sayed, D. MicroRNAs play an essential role in the development of cardiac hypertrophy / D. Sayed, C. Hong, I. Y. Chen, J. Lypowy, M. Abdellatif // *Circ Res.* – 2007. - Vol. 100. – P. 416–424.
177. Schubert, C. The association between fatigue and inflammatory marker levels in cancer patients: a quantitative review / C. Schubert, S. Hong, L. Natarajan, P. J. Mills, J. E. Dimsdale // *Brain Behav Immun.* – 2007. – Vol. 21. - P. 413-427.
178. Schulte, C. MicroRNA-based diagnostics and therapy in cardiovascular disease-Summing up the facts / C. Schulte, T. Zeller // *Cardiovasc Diagn Ther.* – 2015. – Vol. 5. – P. 17–36.
179. Schulte, C. Association between endothelial NO synthase polymorphisms and arterial properties in the general population / C. Schulte, T. Zeller // *Nitric Oxide.* – 2015. – Vol. 44. – P. 47-51.
180. Seidman, F. Cardiac dysfunction in the trastuzumab clinical trials experience / A. Seidman, C. Hudis, M. K. Pierri et al. // *J Clin Oncol.* – 2002. – Vol. 5. – P. 1215–1221.
181. Shimoda-Matsubayoshi, S. Structural dimorphism in the mitochondrial targeting sequence in the human manganese superoxide dismutase gene / S. Shimoda-Matsubayoshi, H. Matsumine, T. Kobayashi et al. // *Biochem Biophys Res Commun.* - 1996. – Vol. 226. - P. 561-565.
182. Shizukuda, Y. Targeted disruption of p53 attenuates doxorubicin-induced cardiac toxicity in mice / Y. Shizukuda, S. Matoba, O. Y. Mian, T. Nguyen, P. M. Hwang // *Mol Cell Biochem.* – 2005. – Vol. 273. – P. 25–32.
183. Siegel, R. Cancer treatment and survivorship statistics, 2012 / R. Siegel, C. DeSantis, K. Virgo et al. // *CA Cancer J Clin.* – 2012. – Vol. 62. – P. 220-241.
184. Siegel, R. L. Cancer statistics, 2015 / R. L. Siegel, K. D. Miller, A. Jemal // *CA Cancer J Clin.* – 2015. – Vol. 65. – P. 5-29.
185. Skála, M. MicroRNAs in the diagnosis and prevention of drug-induced cardiotoxicity / M. Skála, B. Hanousková, L. Skálová, P. Matoušková // *Arch Toxicol.* – 2019. - Vol. 93, N 1. – P. 1-9.

186. Slater, A. F. G. Intracellular redox changes during apoptosis / A. F. G. Slater, C. Stefan, I. Nobel et al. // *Cell Death and Differentiation*. - 1996. - Vol. 3. - P.57-62.
187. Small, E. M. Pervasive roles of microRNAs in cardiovascular biology / E. M. Small, E. N. Olson // *Nature*. – 2011. – Vol. 469. – P. 336–342.
188. Smit, L. A. Cardiotoxicity of anthracycline agents for the treatment of cancer: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials / L. A. Smith, V. R. Cornelius, C. J. Plummer et al. // *BMC Cancer*. – 2010. – Vol. 10. – P. 337.
189. Soignet, S. L. United States multicenter study of arsenic trioxide in relapsed acute promyelocytic leukemia / S. L. Soignet, S. R. Frankel, D. Douer et al. // *J Clin Oncol*. – 2001. – Vol. 19, N 18. – P. 3852–60.
190. Songbo, M. Oxidative stress injury in doxorubicin-induced cardiotoxicity / M. Songbo, H. Lang, C. Xinyong et al. // *Toxicol Lett*. – 2019. - Vol. 307. – P. 41-48.
191. Sparano, J. A. Predicting cancer therapy-induced cardiotoxicity: the role of troponins and other markers / J. A. Sparano, D. L. Brown, A. C. Wolff // *Drug Saf*. – 2002. – Vol. 25. – P. 301–311.
192. Stamatis, A. Growth hormone administration reduces circulating proinflammatory cytokines and soluble Fas/soluble Fas ligand system in patients with chronic heart failure secondary to idiopathic dilated cardiomyopathy / A. Stamatis, T. P. John G. Michael et al. // *Am Heart J*. – 2002. – Vol. 144, N 2. – P. 359–364.
193. Stevens, P. L. Cardiotoxicity due to Chemotherapy: The Role of Biomarkers / P. L. Stevens, D. J. Lenihan // *Curr Cardiol Rep*. – 2015. – Vol. 17. – P. 603.
194. Suliman, H. B. The CO/HO system reverses inhibition of mitochondrial biogenesis and prevents murine doxorubicin cardiomyopathy / H. B. Suliman, M. S. Carraway. A. S. Ali et al. // *J Clin Invest*. – 2007. – Vol. 117. – P. 3730–3741.
195. Suter, T. M. Cancer drugs and the heart: importance and management / T. M. Suter, M. S. Ewer // *European Heart Journal*. – 2013. – Vol. 34. – P. 1102-1111.
196. Swain, S. M. Congestive heart failure in patients treated with doxorubicin: a retrospective analysis of three trials / S. M. Swain, F. S. Whaley, M. S. Ewer // *Cancer*. – 2003. – Vol. 97. – P. 2869-2879.

197. Swain, S. M. Cardioprotection with dexrazoxane for doxorubicin-containing therapy in advanced breast cancer / S. M. Swain, F. S. Whaley, M. C. Gerber et al. // J Clin Oncol. – 1997. – Vol. 15. – P. 1318–1332.
198. Takemura, G. Cardiomyocyte apoptosis in the failing heart - a critical review from definition and classification of cell death / G. Takemura, M. Kanoh, S. Minatoguchi, H. Fujiwara // Int J Cardiol. – 2013. – Vol. 167, N 6. – P. 2373-2386.
199. Tan, S. The regulation of reactive oxygen species production during programmed cell death / S. Tan, Y. Sagara, Y. Liu et al. // J Cell Biol. – 1998. - Vol. 141, N 6. – P. 1423-1432.
200. Tanaka, M. Fas ligand in human serum / M. Tanaka, T. Suda, K. Haze et al. // Nature Med. - 1996. - Vol. 2. - P. 317-322.
201. Tan-Chiu, E. Assessment of cardiac dysfunction in a randomized trial comparing doxorubicin and cyclophosphamide followed by paclitaxel, with or without trastuzumab as adjuvant therapy in nodepositive, human epidermal growth factor receptor 2-overexpressing breast cancer: NSABP B-31 / E. Tan-Chiu, G. Yothers, E. Romond et al. // J Clin Oncol. – 2005. – Vol. 23, N 31. – P. 7811-7819.
202. Tang, W. H. Prognostic value and echocardiographic determinants of plasma myeloperoxidase levels in chronic heart failure / W. H. Tang, R. W. Tong, R. W. Troughton et al. // J Am Coll Cardiol. – 2007. – Vol. 49. – P. 2364–2370.
203. Tang, Y. MicroRNA-150 protects the mouse heart from ischaemic injury by regulating cell death / Y. Tang, Y. Wang, K. M. Park et al. // Cardiovasc Res. – 2015. – Vol. 106. – P. - 387–397.
204. Thavendiranathan, P. Reproducibility of echocardiographic techniques for sequential assessment of left ventricular ejection fraction and volumes: application to patients undergoing cancer chemotherapy / P. Thavendiranathan, A. D. Grant, T. Negishi et al. // J Am Coll Cardiol. - 2013. – Vol. 61. – P. 77–84.
205. Thomas, M. Two polymorphic variants of wild-type p53 differ biochemically and biologically /M. Thomas, A. Kalita, S. Labrecque, D. Pim, L. Banks, G. Matlashewski // Mol Cell Biol. – 1999. – Vol. 19, N 2. – P. 1092-100.

206. Tokarska-Schlattner, M. Multiple interference of anthracyclines with mitochondrial creatine kinases: preferential damage of the cardiac isoenzyme and its implications for drug cardiotoxicity / M. Tokarska-Schlattner, T. Wallimann, U. Schlattner // *Mol Pharmacol.* – 2002. – Vol. 61. – P. 516–523.
207. Uo, T. Apoptotic actions of p53 require transcriptional activation of PUMA and do not involve a direct mitochondrial/cytoplasmic site of action in postnatal cortical neurons / T. Uo, Y. Kinoshita, R. S. Morrison // *J Neurosci.* – 2007. – Vol. 27, N 45. – P. 12198-210.
208. Vacchi-Suzzi, C. Perturbation of microRNAs in rat heart during chronic doxorubicin treatment / C. Vacchi-Suzzi, Y. Bauer, B. R. Berridge et al. // *PLoS One.* – 2012. – Vol. 7. – P. 40395.
209. Van Rooij, E. MicroRNAs: powerful new regulators of heart disease and provocative therapeutic targets / E. Van Rooij, E.N. Olson // *J Clin Invest.* – 2007. – Vol. 117. – P. 2369–2376.
210. Vejpongsa, P. Topoisomerase 2 β : a promising molecular target for primary prevention of anthracycline-induced cardiotoxicity / P. Vejpongsa, E. T. Yeh // *Clin Pharmacol Ther.* – 2014. – Vol. 95. – P. 45-52.
211. Von Haehling, S. Statins and the role of nitric oxide in chronic heart / S. Von Haehling, S. D. Anker, E. Bassenge // *Heart Failure Reviews.* – 2003. – Vol. 8, N 1. – P. 99-106.
212. Von Haehling, S. Tumor necrosis factor-alpha and the failing heart: pathophysiology and therapeutic implications / S. Von Haehling, E. A. Jankowska, S. D. Anker // *Basic Res Cardiol.* - 2004. - Vol. 99. - P. 18-28.
213. Von Hoff, D. D. Risk factors for doxorubicin-induced congestive heart failure / D. D. Von Hoff, M. W. Layard, P. Basa et al. // *Ann Intern Med.* – 1979. – Vol. 91. – P. 710–7.
214. Walker, J. Role of three-dimensional echocardiography in breast cancer: comparison with two-dimensional echocardiography, multiple-gated acquisition scans, and cardiac magnetic resonance imaging / J. Walker, N. Bhullar, N. Fallah-Rad et al. // *J Clin Oncol.* – 2010. – Vol. 28, N 21. – P. 3429-3436.

215. Wallace, K. B. Adriamycin-induced interference with cardiac mitochondrial calcium homeostasis / K. B. Wallace // *Cardiovasc Toxicol.* – 2007. – Vol. 7. – P. 101–107.
216. Wang, T. J. Plasma natriuretic peptide levels and the risk of cardiovascular events and death / T. J. Wang, M. G. Larson, D. Levy et al. // *N Engl J Med.* – 2004. – Vol. 350. – P. 655–663.
217. Wang, Y. GCN2 deficiency ameliorates doxorubicin-induced cardiotoxicity by decreasing cardiomyocyte apoptosis and myocardial oxidative stress / Y. Wang, T. Lei, J. Yuan et al. // *Redox Biol.* – 2018. – Vol. 17. - P. 25-34.
218. Weber, J. A. The microRNA spectrum in 12 body fluids / J. A. Weber, D. H. Baxter, S. Zhang et al. // *Clin Chem.* – 2010. – Vol. 56. – P. 1733–1741.
219. Wilson, A. G. Single base polymorphism in the human tumor necrosis factor alpha (TNF alpha) gene detectable by NcoI restriction of PCR product / A. G. Wilson, F. S. di Giovine, A. I. Blakemore et al. // *Hum Mol Genet.* – 1992. – Vol. 1. – P. 353.
220. Wilson, A. G. Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor alpha promoter on transcriptional activation / A. G. Wilson, J. A. Symons, T. L. McDowell et al. // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 1997. – Vol. 94. - P. 3195-3199.
221. Wyche, K. E. C242T CYBA polymorphism of NADPH oxidase is associated with reduced respiratory burst in human neutrophils / K. E. Wyche, S. S. Wang, K. K. Griendling et al. // *Hypertension.* – 2004. – Vol. 43, N 960. – P. 1246-1251.
222. Yeh, E. T. Cardiovascular complications of cancer therapy: incidence, pathogenesis, diagnosis, and management / E. T. Yeh, C. L. Bickford // *J Am Coll Cardiol.* – 2009. – Vol. 53. – P. 2231-2247.
223. Yeh, E. T. Cardiovascular complications of cancer therapy: diagnosis, pathogenesis, and management / E. T. Yeh, A. T. Tong, D. J. Lenihan et al. // *Circulation.* – 2004. – Vol. 109. – P. 3122-3131.
224. Yndestad, A. Role of inflammation in the progression of heart failure / A. Yndestad, I. K. Damas, E. Oie et al. // *Curr Cardiol Rep.* - 2007. - Vol. 9, N 3. - P. 236-241.

225. Youn, H. J. Induction of caspase-independent apoptosis in H9c2 cardiomyocytes by adriamycin treatment / H. J. Youn, H. S. Kim, M. H. Jeon et al. // *Mol Cell Biochem.* – 2005. – Vol. 270. – P. 13-19.
226. Zamorano, J. L. European Society of Cardiology (ESC) (2016). 2016 ESC Position Paper on cancer treatments and cardiovascular toxicity developed under the auspices of the ESC Committee for Practice Guidelines / J. L. Zamorano, P. Lancellotti, Rodriguez Muñoz et al. // *European Heart Journal.* – 2016. – Vol. 37, N 36. – P. 2768-2801.
227. Zhang, S. Identification of the molecular basis of doxorubicin-induced cardiotoxicity / S. Zhang, X. Liu, T. Bawa-Khalfe et al. // *Nat Med.* – 2012. – Vol. 18. - P. 1639–1642.
228. Zhang, Y. W. Cardiomyocyte death in doxorubicin-induced cardiotoxicity / Y. W. Zhang, J. Shi, Y. J. Li, L. Wei // *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* – 2009. – Vol. 57. – P. 435–45.
229. Zhou, S. Cumulative and irreversible cardiac mitochondrial dysfunction induced by doxorubicin / S. Zhou, A. Starkov, M. K. Froberg, R. L. Leino, K. B. Wallace // *Cancer Res.* – 2001. – Vol. 61. – P. 771–777.
230. Zhu, W. P53 inhibition exacerbates late-stage anthracycline cardiotoxicity / W. Zhu. W. Zhang, W. Shou, L. J. Field // *Cardiovasc Res.* – 2014. – Vol. 103, N 1. – P. 81-89.