

Статья поступила в редакцию 10.04.2022 г.

DOI: 10.24412/2687-0053-2022-2-25-29

EDN: ТСМОСК

Информация для цитирования:

Авагимян А.А. ВЛИЯНИЕ ТРИМЕТАЗИДИНА НА КАРИОМЕТРИЮ МИОКАРДА ПРИ ВВЕДЕНИИ ДОКСОРУБИЦИН-ЦИКЛОФOSФАМИДНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ // Медицина в Кузбассе. 2022. №2. С. 25–29.

Авагимян А.А.

Ереванский государственный медицинский университет им. Мх. Гераци,
г. Ереван, Армения,
«НИИМЧ им. акад. А.П. Авцына» ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского»,
г. Москва, Россия



ВЛИЯНИЕ ТРИМЕТАЗИДИНА НА КАРИОМЕТРИЮ МИОКАРДА ПРИ ВВЕДЕНИИ ДОКСОРУБИЦИН-ЦИКЛОФOSФАМИДНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ

Предмет исследования. Кардиотоксичность AC-режима химиотерапии, рациональность триметазидином опосредованной кардиопротекции.

Цель исследования – изучение состояния ядерного аппарата кардиомиоцитов крысы на хронической *in vivo* модели кардиотоксичности AC-режима химиотерапии, с одновременным изучением обоснования применения триметазида.

Методы исследования. Проведено фундаментальное, экспериментальное *in vivo*, рандомизированное и контролируемое исследование. Объект исследования – 120 самцов инбредных крыс линии Wistar. Введение химиопрепаратов проводилось внутривентриально. Введение триметазида – внутривентриально. Для оценки изменений был использован микроскоп Olympus IX51.

Основные результаты. Во 2-й группе на фоне AC-режима химиотерапии величина ядерного индекса была выше на 23,1 % и 24,2 % ($p < 0,05$), чем в 1-й и 4-й группах. Во 2-й группе на фоне AC-режима химиотерапии величина площади поперечного сечения кардиомиоцитов выше на 33,3 % и 36,2 % ($p < 0,05$), чем в 1-й и 4-й группах. В 3-й группе, на фоне триметазида, отмечается статистически достоверная и клинически значимая стабилизация структуры миокарда.

Область применения. Патологическая анатомия, кардиология.

Выводы. Триметазидин является патогенетически эффективным препаратом, стабилизирующим структуру кардиомиоцитов, повреждённую AC-режимом химиотерапии.

Ключевые слова: доксорубицин; циклофосфамид; кардиотоксичность; химиотерапия; кардио-онкология

Avagimyan A.A.

Yerevan State Medical University Mh. Heratsi, Yerevan, Armenia,
Avtsyn Research Institute of Human Morphology of Federal state budgetary scientific institution "Petrovsky National Research Centre of Surgery", Moscow, Russia

EFFECT OF TRIMETAZIDINE ON MYOCARDIAL KARYOMETRY DURING THE DOXORUBICIN-CYCLOPHOSPHAMIDE MODE OF CHEMOTHERAPY PRESCRIPTION

The subject of study. AC-mode of chemotherapy-induced cardiotoxicity, and rationality of trimetazidine prescription.

Purpose of the study – research the nuclear apparatus state of rats cardiomyocytes on chronic *in vivo* model of cancer therapy-driven cardiotoxicity, with a simultaneous assessment and justification for trimetazidine prescription.

Research methods. A fundamental, experimental, randomized, and controlled study was carried out. The object of the study was 120 male inbred Wistar rats. Chemotherapy was administered intraperitoneally. The introduction of trimetazidine - intragastrically. An Olympus IX51 microscope was used to assess the changes.

Main results. In 2th group on the background of the AC chemotherapy regimen, the value of the nuclear index was higher by 23.1 % and 24.2 % ($p < 0.05$) than in 1th and 4th groups. In 2th group on the background of AC chemotherapy, the value of the cross-sectional area of cardiomyocytes is higher by 33.3 % and 36.2 % ($p < 0.05$) than in 1th and 4th groups. In 3th group, against the background of trimetazidine, there is a statistically significant and clinically significant stabilization of the myocardial structure.

Application area. Pathological anatomy, cardiology.

Conclusions. Trimetazidine is a pathogenetically effective drug that prevent the cardiomyocytes from AC-mode of chemotherapy related damaged.

Key words: doxorubicin; cyclophosphamide; cardiotoxicity; chemotherapy; cardio-oncology

Кардиоонкология является динамично развивающейся и мультидисциплинарной отраслью современной медицины, лежащей на стыке кардиологии и онкологии [1, 2]. Сферой изучения кардиоонкологии является профилактика и лечение кардио-

логических осложнений химиотерапии [3-5]. Согласно данным регистра CARDIOTOX-2020, при сравнении с общей популяцией встречаемость заболеваний сердца и сосудов среди пациентов онкологического профиля в 3,6 раза выше [6].

Следовательно, пациенты, достигшие стабильного и продолжительного рецидива, сталкиваются с широко варьируемым спектром сердечно-сосудистых заболеваний, от синусовой аритмии до кардиосклероза и асистолии [7].

Проанализировав современные эпидемиологические данные, одной из наиболее часто встречающихся онкопатологий является рак молочной железы [8]. Примечательно, что золотым стандартом лечения такого рака является АС-режим химиотерапии, составными компонентами которого являются доксорубин и циклофосфамид [9]. В связи с чем было решено изучить кардиотоксическое воздействие именно данного режима химиотерапии. Примечательно, что при изучении методологии проведения аналогичных экспериментальных работ был отмечен факт: все экспериментальные исследования проведены путем изучения только одного химиопрепарата [10-12], в то время как монотерапия в современной онкологии перешла на второй план. Следовательно, полученные результаты можно считать более адаптированными к реальной клинической практике.

Стоит учесть, что на 2022 год дексразоксан является единственным препаратом, рекомендованным со стороны FDA [13] в качестве модификатора риска развития сердечной недостаточности, развившейся как исход химиотерапии. Однако вскоре со стороны Европейского медицинского агентства было выпущено предостережение, в котором указывалось, что дексразоксан снижает риск химиотерапевтического лечения [14], вновь выдвинув проблему профилактики заболеваний сердца и сосудов среди онкологических пациентов на принципиально новый уровень.

В качестве стабилизатора морфофункционального гомеостаза в настоящем экспериментальном исследовании был использован триметазидин. Данный препарат – единственный кардиопротектор, эффективность которого признана Российским кардиологическим обществом, и включен в рекомендации Минздрава РФ [15]. Оценка кардиопреventивного эффекта триметазидина была проведена посредством проведения патоморфологического исследования, а именно проведена окраска гематоксилином и эозином, наряду с морфометрическим подсчетом ядерных показателей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Настоящее исследование проведено в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986; ред. Страсбург, 2006), а также законодательством ЕС о защите животных, используемых в научных целях (Directive 2010/63/EU).

В качестве объекта исследования в работе задействованы 120 самцов инбредных крыс линии Wistar весом 280-300 г. Перед проведением исследования животные случайно разделены на 4 группы по 30 крыс в каждой:

1. Группа 1 (контроль) – крысам интраперитонеально вводили физиологический раствор хлорида натрия в разовой дозе 10 мл/кг, 3 раза в неделю, в течение 2-х недель.

2. Группа 2 (сравнение 1) – крысам моделировали АС-режим химиотерапии, путем интраперитонеального введения доксорубина гидрохлорида в разовой дозе 2,5 мг/кг [16] и циклофосфамида моногидрата в разовой дозе 25 мг/кг, 3 раза в неделю, в течение 2-х недель [17].

3. Группа 3 (опытная) – крысам аналогичным образом моделировали АС-режим химиотерапии (DOX + CY), с дополнительным введением триметазидина дигидрохлорида. Введение измельченного препарата крысам осуществлялось ежедневно, в течение 2-х недель, в виде суспензии внутривентрикулярно (посредством зонда), в разовой дозе 3,0 мг/кг [18].

4. Группа 4 (сравнение 2) – крысам вводили TMZ дигидрохлорид, а также физиологический раствор хлорида натрия, в течение 2-х недель.

Таким образом, курсовая доза доксорубина составила 15 мг/кг, циклофосфамида – 150 мг/кг и триметазидина – 42 мг/кг. Спустя 2 недели от начала эксперимента животных подвергали эвтаназии путем декапитации под зоветил-ксилазиновым наркозом. Выполняли забор и фиксацию миокарда левого желудочка в 10 % забуференном фосфатом формалине. Изготовление микропрепаратов проводили по классической технологии. Выполняли проводку образцов в парафин с использованием изопропанола и минерального масла при помощи гистопроцессора Leica TP1020 и заливочной станции Leica EG1150H. С помощью ротационного микротомы Leica RM2235 проводили нарезку парафиновых блоков на срезы толщиной 4 мкм, затем монтировали их на предметные стекла. Гистологическую окраску полученных микропрепаратов выполняли по протоколу для гематоксилин-эозина. Исследование микропрепаратов и их фотография проводились с помощью микроскопа Olympus IX51, полученные фотографии сохраняли в формате TIFF без сжатия. Для анализа сделанных фотографий применяли программу Image J 1.51j8.

Гистоморфометрический анализ микропрепаратов миокарда крысы выполнен по следующим параметрам: Nuclear Index, Nuclear Transsectional Area. С помощью программы Image J 1.51j8 по 10 полям зрения на фотографиях, сделанных при 10X увеличении объектива микроскопа, проводили оценку изменений. Вкратце, после проведения деконволюции изображений с использованием плагина color_deconvolution2.jar проводили ручное выставление порога чувствительности, затем по заданному порогу определяли долю выделенной площади.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с помощью программного обеспечения MS Excel 2016, Statistica 13 и GraphPadPrism 9. Проверка распределения исследуемых признаков на соответствие нормальному закону распределения проводилась с использованием критериев Шапиро-

Уилка, Лиллиефорса, а также дополнительно с помощью гистограмм распределения. С целью оценки статистической значимости межгрупповых различий при сравнении трех и более групп по исследуемому показателю применяли однофакторный дисперсионный анализ (one-way ANOVA). Предварительно для оценки равенства дисперсий в исследуемых группах использовали критерий Бартлетта. При $F > F_{крит}$. с $p < 0,05$ отклоняли нулевую гипотезу о равенстве средних. Последующее определение межгрупповых различий при попарном сравнении групп проводили с помощью апостериорного (post-hoc) теста Тьюки. Во всех случаях $p < 0,05$ принимали в качестве критического уровня значимости, при котором отклоняли нулевую гипотезу об отсутствии межгрупповых различий.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе исследования нами впервые проанализирован кардиотоксический потенциал режима химиотерапии, в то время как подобные работы проводились с использованием только одного химиопрепарата, хотя монотерапия в современной онкологии давно перешла на второй план и в подавляющем большинстве случаев применяется с паллиативной целью. Полученные результаты данного морфоло-

гического анализа обработаны вышеизложенными методами статистической обработки и представлены на таблице 1.

Ядерный индекс ткани миокарда 1-й и 4-й групп (контроль и TMZ) находится на уровне 3,63 у.е. и 3,59 у.е., без статистически значимых различий между ними ($p > 0,05$), что в целом характерно для интактного миокарда (рис.).

При этом во 2-й группе на фоне АС-режима химиотерапии величина ядерного индекса была выше на 23,1 % и 24,2 % ($p < 0,05$), чем в 1-й и 4-й группах. Полученные данные ядерного индекса указывают, что сочетанное применение доксорубина и циклофосфида сопровождается выраженной инфльтрацией ткани миокарда клеточными элементами немиоцитарного происхождения, предположительно воспалительного генеза.

На фоне применения триметазида в 3-й группе величина ядерного индекса статистически значимо ниже на 9,6 % ($p < 0,05$), по сравнению со 2-й группой. Таким образом, полученные на модели АС-режима химиотерапии результаты оценки ядерного индекса явно свидетельствуют об умеренном противовоспалительном влиянии триметазида на ткань миокарда. Во 2-й группе на фоне АС-режима химиотерапии величина площади поперечного сечения кардиомиоцитов выше на 33,3 % и 36,2 % ($p < 0,05$),

Таблица
Гистоморфометрический анализ миокарда крысы
Table
Histomorphometric analysis of rat's myocardium

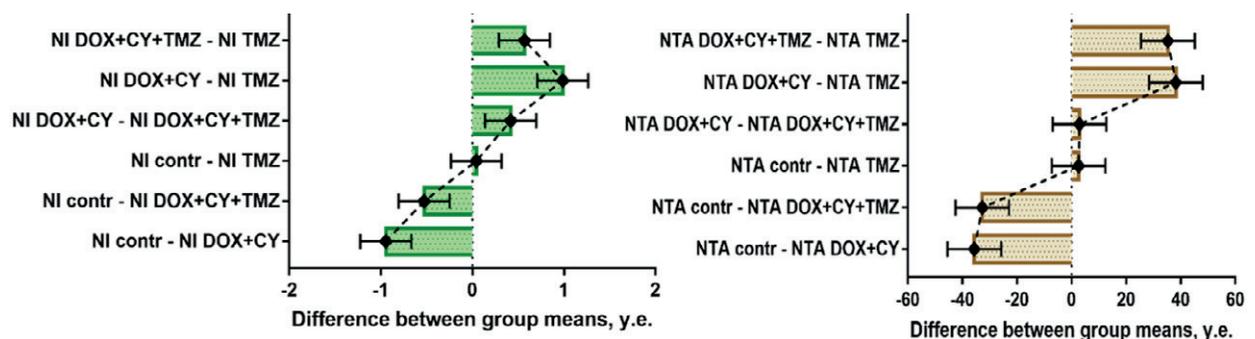
Группа / Показатель	Контроль	DOX + CY	DOX + CY + TMZ	TMZ
Ядерный индекс, у.е.	3,63 ± 0,29	4,58 ± 0,45	4,16 ± 0,31	3,59 ± 0,26
ANOVA, $p = 0,0001$	$P_{1-2} = 0,0001$	$P_{2-3} = 0,001$		
post-hoc Тьюки	$P_{1-3} = 0,0001$	$P_{2-4} = 0,0001$	$P_{3-4} = 0,0001$	-
	$P_{1-4} = 0,9752$			
Площадь поперечного сечения ядра, у.е.	89,27 ± 10,50	124,89 ± 12,91	121,97 ± 13,45	86,64 ± 10,12
ANOVA, $p = 0,0001$	$P_{1-2} = 0,0001$	$P_{2-3} = 0,8637$		
post-hoc Тьюки	$P_{1-3} = 0,0085$	$P_{2-4} = 0,0001$	$P_{3-4} = 0,0001$	-
	$P_{1-4} = 0,8958$			

Рисунок

Межгрупповые различия ядерного индекса и площади поперечного сечения кардиомиоцитов через 2 недели от начала АС-режима химиотерапии (разница средних, ± 95% ДИ, one-way ANOVA, post-hoc тест Тьюки)

Figure

Intergroup differences in the nuclear index and the cardiomyocytes transection area of 2 weeks after the start of the AC chemotherapy regimen (mean difference, ± 95% CI, one-way ANOVA, Tukey's post-hoc test)



чем в 1-й и 4-й группах. Полученные данные указывают, что сочетанное применение доксорубина и циклофосфида сопровождается выраженным набуханием кардиомиоцитов и деструкцией их ядер.

На фоне применения триметазида в 3-й группе величина площади поперечного сечения кардиомиоцитов ниже на 2,4 % ($p > 0,05$) и МТА статистически значимо ниже на 10,8 % ($p < 0,05$), по сравнению со 2-й группой. Таким образом, полученные на модели АС-режима химиотерапии результаты оценки ядерного индекса и площади поперечного сечения кардиомиоцитов свидетельствуют о кардиопротективном влиянии триметазида на ткань миокарда.

ВЫВОД

Подводя итог, следует сделать вывод, что триметазидин является патогенетически эффективным препаратом, стабилизирующим структуру кардиомиоцитов, поврежденную АС-режимом химиотерапии.

Информация о финансировании и конфликте интересов

Исследование не имело спонсорской поддержки. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES:

1. Avagimyan A, Kakturskiy L, Heshmat-Ghahdarjani K, Pogosova N, Sarrafzadegan N. Anthracycline Associated Disturbances of Cardiovascular Homeostasis. *Curr Probl Cardiol.* 2021. Article N: 100909. doi: 10.1016/j.cpcardiol.2021.100909.
2. Avagimyan A, Kakturskiy L. The impact of trimetazidine on the anthropometric parameters of doxorubicin-cyclophosphamide mode in chemotherapy-induced heart alteration. *Georgian Med News.* 2022; (322): 158-161.
3. Avagimyan AA, Mkrtchyan LH, Gevorkyan AA, Kononchuk NB, Kakturskiy LV, Djndoyan ZT. Relationship between chemotherapy and atrial fibrillation: clinical case. *Rational Pharmacotherapy in Cardiology.* 2021; 17(5): 785-791. <https://doi.org/10.20996/1819-6446-2021-10-17>
4. Avagimyan AA, Mkrtchyan LG, Kononchuk NB, Kakturskiy LV, Agati L. Chemotherapy as a possible trigger for the myocardial lipomatosis development. "Arterial'naya Gipertenziya" ("Arterial Hypertension"). 2021; 27(6): 706-712. <https://doi.org/10.18705/1607-419X-2021-27-6-706-712>
5. Bhagat A, Kleinerman ES. Anthracycline-Induced Cardiotoxicity: Causes, Mechanisms, and Prevention. *Adv Exp Med Biol.* 2020; 1257: 181-192. doi: 10.1007/978-3-030-43032-0_15
6. López-Sendón J, Álvarez-Ortega C, Zamora Auñón P, Buño Soto A, Lyon AR, et al. Classification, prevalence, and outcomes of anticancer therapy-induced cardiotoxicity: the CARDIOTOX registry. *Eur Heart J.* 2020; 41(18): 1720-1729. doi: 10.1093/eurheartj/ehaa006
7. Herrmann J. Adverse cardiac effects of cancer therapies: cardiotoxicity and arrhythmia. *Nat Rev Cardiol.* 2020; 17(8): 474-502. doi: 10.1038/s41569-020-0348-1
8. Kolak A, Kamińska M, Sygit K, Budny A, Surdyka D, Kukielka-Budny B, Burdan F. Primary and secondary prevention of breast cancer. *Ann Agric Environ Med.* 2017; 24(4): 549-553. doi: 10.26444/aaem/75943
9. Maughan KL, Lutterbie MA, Ham PS. Treatment of breast cancer. *Am Fam Physician.* 2010; 81(11): 1339-1346.
10. Hu C, Zhang X, Song P, Yuan YP, Kong CY, Wu HM, et al. Meteorin-like protein attenuates doxorubicin-induced cardiotoxicity via activating cAMP/PKA/SIRT1 pathway. *Redox Biol.* 2020; 37: 101747. doi: 10.1016/j.redox.2020.101747
11. Zhang YY, Yi M, Huang YP. Oxymatrine Ameliorates Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity in Rats. *Cell Physiol Biochem.* 2017; 43(2): 626-635. doi: 10.1159/000480471
12. Wu YZ, Zhang L, Wu ZX, Shan TT, Xiong C. Berberine Ameliorates Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity via a SIRT1/p66Shc-Mediated Pathway. *Oxid Med Cell Longev.* 2019; 2019: 2150394. doi: 10.1155/2019/2150394
13. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2014/020212s017bl.pdf
14. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/savene-epar-product-information_en.pdf
15. Kochetkova I.V., Chernykh T.M., Panyushkina G.M. An experience of trimetazidine usage in comorbidity. *Russian Journal of Cardiology.* 2018;(3):37-42. Russian (Кочеткова И.В., Черных Т.М., Панюшкина Г.М. Опыт применения триметазида у пациентов с коморбидной патологией //Российский кардиологический журнал. 2018. № 3. С. 37-42.) <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2018-3-37-42>
16. Shebani M, Nezamoleslami S, Faghir-Ghanesefat H, Emami AH, Dehpour AR. Cardioprotective effects of dapsone against doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2020; 85(3): 563-571. doi: 10.1007/s00280-019-04019-6
17. Omole JG, Ayoka OA, Alabi QK, Adefisayo MA, Asafa MA, Olubunmi BO, Fadeyi BA. Protective Effect of Kolaviron on Cyclophosphamide-Induced Cardiac Toxicity in Rats. *J Evid Based Integr Med.* 2018; 23: 2156587218757649. doi: 10.1177/2156587218757649
18. Albengres E, Tillement J, Le Louet H, Morin D. Trimetazidine: Experimental and Clinical Update Review. *Cardiovascular Drug Review.* 2007; 16(4): 359-390.

Корреспонденцию адресовать: АВАГИМЯН Ашот Арманович, 0025, г. Ереван, ул. Корьюна, д. 2а, Ереванский государственный медицинский университет им. Мх. Гераци. Тел. +3-749-331-84-27 E-mail: avagimyan.cardiology@mail.ru

Сведения об авторах:

АВАГИМЯН Ашот Арманович, преподаватель кафедры патологической анатомии и клинической морфологии, Ереванский государственный медицинский университет им. М. Гераци, г. Ереван, Армения; прикрепленный соискатель, «НИИМЧ» им. акад. А.П. Авцына» ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского», г. Москва, Россия.

Information about authors:

AVAGIMYAN Ashot Armanovich, lecturer, pathological anatomy and clinical morphology department, Yerevan State Medical University after M. Heratsi, Erevan, Armenia; PhD student, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of Federal state budgetary scientific institution "Petrovsky National Research Centre of Surgery", Moscow, Russia.