

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-ЦИКЛОФОСФАМИДНОЙ 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-ЦИКЛОФОСФАМИДНОЙ 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 2<sup>th</sup> 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 1<sup>th</sup> and 4<sup>th</sup> groups. In 2<sup>th</sup> 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 1<sup>th</sup> and 4<sup>th</sup> groups. In 3<sup>th</sup> 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 варибельным 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 фосфатами 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

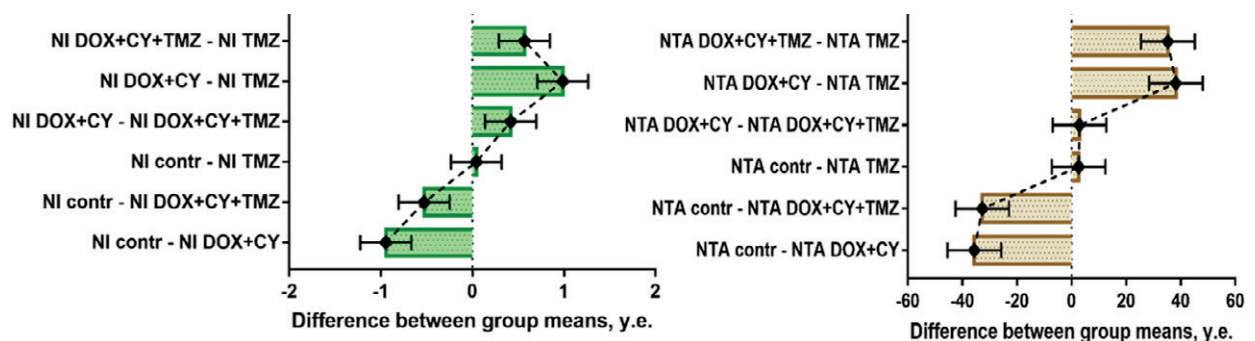
Группа / Показатель	Контроль	DOX + CY	DOX + CY + TMZ	TMZ
Ядерный индекс, у.е.	3,63 ± 0,29	4,58 ± 0,45	4,16 ± 0,31	3,59 ± 0,26
ANOVA, $p = 0,0001$	$P_{1-2} = 0,0001$	$P_{2-3} = 0,001$		
post-hoc Тьюки	$P_{1-3} = 0,0001$	$P_{2-4} = 0,0001$	$P_{3-4} = 0,0001$	-
	$P_{1-4} = 0,9752$			
Площадь поперечного 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, Gevorgyan 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](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](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.