

На правах рукописи



Багдасарян Алина Арсеновна

Прогнозирование риска развития неблагоприятных побочных реакций доксорубицина у пациенток с HER2-негативным раком молочной железы на основании генотипирования и фенотипирования изоферментов цитохрома P-450 и P-гликопротеина

3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

3.1.6. Онкология, лучевая терапия

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2025 год

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор

доктор медицинских наук, профессор

Ших Евгения Валерьевна

Филоненко Елена Вячеславовна

Официальные оппоненты:

Якушева Елена Николаевна – доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра фармакологии, заведующий кафедрой

Семиглазова Татьяна Юрьевна – доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, научный отдел инновационных методов терапевтической онкологии и реабилитации заведующий отделом

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «24» июня 2025 г. в 12:00 на заседании диссертационного совета ДСУ 208.001.20 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2.

С диссертацией можно ознакомиться в Фундаментальной учебной библиотеке ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119034, г. Москва, Зубовский бул., д. 37/1 и на сайте организации <https://www.sechenov.ru>.

Автореферат разослан « ___ » _____ 2025 г.

Учёный секретарь диссертационного совета

доктор медицинских наук, профессор

Дроздов Владимир Николаевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Одним из самых встречаемых видов злокачественных опухолей среди женщин является рак молочной железы [Kim J et al, 2025]. Согласно действующим клиническим рекомендациям, лечение рака молочной железы включает использование химиотерапии (неoadъювантной и адъювантной), лучевой терапии, гормональной терапии и хирургического вмешательства [Министерство Здравоохранения РФ, 2021]. Одним из компонентов химиотерапии является доксорубин, препарат, относящийся к классу антрациклиновых антибиотиков.

Возможными нежелательными реакциями доксорубина являются миелосупрессия, диспептические явления, изъязвления желудочно-кишечного тракта, алоpecia, а также кардиотоксичность, которая может проявляться в виде возникновения аритмий, перикардита или миокардита, бессимптомного снижения фракции выброса левого желудочка, развития дилатационной или рестриктивной кардиомиопатии [Shafei A et al, 2017].

Полиморфизмы генов, принимающих участие в метаболизме лекарственных средств, могут влиять на фармакокинетические процессы и, тем самым, на уровень концентрации в плазме крови, и, соответственно, на эффективность и/или безопасность фармакотерапии. Актуальным является исследование ассоциации концентрации доксорубина в плазме крови пациентов и наличия полиморфизмов генов, кодирующих изоферменты цитохрома участвующие в метаболизме (CYP3A5, CYP2D6, CYP2C19), а также АТФ-связывающего кассетного транспортёра (ABC), который играет важную роль в множественной лекарственной устойчивости за счёт активного клеточного эффлюкса лекарственных средств.

Степень разработанности темы исследования

Фармакогенетика является активно развивающейся областью медицины и в настоящее время постепенно внедряется в клиническую практику. Обнаружение носительства определённых полиморфизмов генов может являться предиктором отсутствия терапевтического эффекта лекарственных средств или повышенного риска развития нежелательных лекарственных реакций. Особенно актуальна данная проблема в лечении онкологических заболеваний ввиду широкого ряда нежелательных реакций противоопухолевых препаратов и их тяжести.

В настоящее время не определены фармакогенетические маркёры увеличения риска нежелательных реакций доксорубина, что явилось основанием для проведения данного диссертационного исследования.

Цель и задачи исследования

Цель исследования:

Повышение безопасности фармакотерапии доксорубицином у пациенток с HER2-негативным раком молочной железы путём разработки подходов к прогнозированию нежелательных реакций на основе индивидуальных особенностей системы биотрансформации.

Задачи исследования:

- Изучить частоту и структуру неблагоприятных побочных реакций при применении доксорубицина у пациенток с раком молочной железы;
- Изучить частоту и проявления кардиотоксичности доксорубицина у пациенток с раком молочной железы с помощью ЭхоКГ, суточного холтеровского мониторирования ЭКГ, определения уровня тропонина I;
- Изучить влияние наличия полиморфизмов генов, кодирующих CYP2D6, CYP3A5, CYP2C19 и P-гликопротеин, на развитие нежелательных лекарственных реакций доксорубицина;
- Проанализировать взаимосвязь концентрации доксорубицина в плазме крови у пациенток с раком молочной железы и вероятности наступления нежелательных лекарственных реакций;
- Оценить возможность использования генотипирования изоферментов цитохрома P450 и P-гликопротеина для прогнозирования нежелательных лекарственных реакций при применении доксорубицина у пациенток с раком молочной железы.

Научная новизна

Впервые на российской популяции пациентов проведено фармакогенетическое исследование с целью прогнозирования возникновения неблагоприятных реакций доксорубицина у пациенток с HER2-негативным раком молочной железы.

Впервые установлена взаимосвязь между полиморфизмами генов CYP2D6, CYP3A5, CYP2C19, ABCB1 и вероятностью возникновения НЛР.

Впервые проанализирована взаимосвязь между концентрацией доксорубицина в плазме крови и вероятностью возникновения НЛР.

Теоретическая и практическая значимость работы

Впервые определены генотипы, которые сопряжены со статистически значимо более высокой минимальной равновесной концентрацией доксорубицина в плазме крови.

Обнаружена статистически значимая корреляция между более высокой минимальной равновесной концентрацией доксорубицина и увеличением риска развития алопеции.

Выявлена статистически значимая корреляция между более высокой минимальной равновесной концентрацией доксорубицина и увеличением риска развития тошноты.

Установлена статистически значимая корреляция между более высокой минимальной равновесной концентрацией доксорубицина и повышением концентрации тропонина I.

Методология и методы исследования

Диссертационная работа выполнена в соответствии с принципами и правилами доказательной медицины. В работе использовались клинические, инструментальные и лабораторные методы исследования. В исследовании приняли участие 69 пациенток в возрасте от 18 до 84 лет женского пола, которым был подтверждён диагноз рака молочной железы с использованием биопсийного материала и иммуногистохимического исследования с определением рецепторного статуса опухоли и классификации TNM.

Исследовательская работа проведена согласно Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2013 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266.

Проведение данного исследования одобрено на заседании Локального этического комитета ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (протокол № 01-20 заседания Локального этического Комитета от 22.01.2020.

Положения, выносимые на защиту

1. Наличие предшествующей сердечно-сосудистой патологии без снижения фракции выброса левого желудочка не увеличивает риск развития антрациклиновой кардиотоксичности;
2. Повышение уровня тропонина I является биомаркером возникновения острой кардиотоксичности доксорубицина;
3. Носительство гомозиготных генотипов 1236ТТ, 3435ТТ и 2677ТТ гена *ABCB1* ассоциировано со статистически значимо более высокой минимальной равновесной концентрацией доксорубицина в плазме крови по сравнению с носительством других генотипов;
4. Существует статистически значимая корреляция между более высокой минимальной равновесной концентрацией доксорубицина и увеличением риска развития тошноты, увеличением риска развития алопеции.

Степень достоверности и апробация результатов

Необходимая степень достоверности представленных результатов обусловлена достаточным объёмом группы пациентов, включённых в исследование, которым проводились необходимые диагностические методы клинического и лабораторного обследования в соответствии с требованиями текущего законодательства. Достоверность результатов исследования подтверждается современными методами научных исследований в рамках данной диссертационной работы: анализ полиморфизмов методом ПЦР в режиме реального времени с

помощью амплификатора CFX-96 с использованием флуоресцентных зондов FAM и HEX, и определение уровня доксорубина с помощью метода ВЭЖХ на жидкостном хроматографе Agilent 1290 Infinity II LC coupled with the 6470 Triple Quadrupole LC/MS.

Обработка полученных результатов исследования произведена в соответствии с рекомендуемыми методами статистического анализа медико-биологических исследований. Используемые методы научного анализа отвечают поставленной цели и задачам. Выводы и практические рекомендации соответствуют цели и задачам диссертационного исследования.

Апробация работы состоялась на заседании кафедры клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) 24.03.2025 г.

Личный вклад автора

Автору принадлежит основная роль в выполнении всех этапов диссертационного исследования: разработка дизайна исследования и методов его выполнения, формулировка актуальности исследования, анализ литературных данных, включение пациентов в исследование и ведение их на всех этапах, сбор образцов крови и участие в проведении исследований уровня доксорубина в крови и полиморфизма генов. На основании проведенных исследований и клинических данных автор самостоятельно сформировал базу полученных данных, провел ее статистическую обработку, сформулировал результаты и выводы исследования. Автором были подготовлены и опубликованы печатные работы в научных журналах.

Связь диссертации с основными научными темами

Диссертационная работа выполнена в соответствии с научно-исследовательской программой кафедры клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Утверждение темы диссертации осуществлено на заседании кафедры клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) протокол №4 от 25.11.2019 г.

Внедрение результатов в практику

Основные результаты диссертационного исследования нашли практическое применение в научной и учебной деятельности кафедры клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют паспорту научной специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности в соответствии с п 6. – Изучение фармакодинамики, фармакокинетики и метаболизма лекарственных средств. Установление связей между дозами, концентрациями и эффективностью лекарственных средств. Экстраполяция полученных данных с биологических моделей на человека; п. 10. – Проведение фармакогенетических исследований; п. 20 – Разработка и оптимизация методов фармакотерапии и профилактики заболеваний у различных групп пациентов с учетом индивидуальных особенностей, включая исследование приверженности фармакотерапии (комплаентности).

Научные положения диссертации соответствуют паспорту научной специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности в соответствии с п. 5 – Внедрение в клиническую практику достижений фармакологии в области создания и использования цитостатиков, гормонов, биологически активных препаратов.

Публикации по теме диссертации

По теме диссертации опубликовано 6 печатных работ, отражающих результаты диссертации: в изданиях из Перечня Университета/Перечня ВАК при Минобрнауки – 3 статьи; иные публикации по результатам исследования – 3 статьи.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа изложена на 147 страницах машинописного текста, состоит из введения, четырёх глав, содержащих актуальный обзор литературы, сведения о пациентах и методах исследования, результаты проведенных обследований и обсуждение полученных данных, выводы, практические рекомендации и список литературы. Работа иллюстрирована 31 таблицей и 10 рисунками. Библиографический указатель включает 236 работ, из них на русском языке 12 источников, 224 работы – на английском языке.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Материалы и методы исследования

Исследование проводилось на базе кафедры клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). Клинической базой для набора пациенток в исследование являлось отделение

противоопухолевой лекарственной терапии Университетской клинической больницы №4 Сеченовского университета.

В исследование включено 69 пациенток. У всех был подтверждённый диагноз рака молочной железы с использованием классификации TNM. Средний возраст пациенток составил $48,67 \pm 13,65$ лет. Основным диагнозом у всех пациенток, включенных в исследование, являлся рак молочной железы (N = 69; 100%). У всех пациенток был HER-2 негативный подтип (N = 69; 100%). У 36 пациенток был определён люминальный тип А (52,17 %), у 19 пациенток – люминальный тип В (27,54 %). У 14 пациенток был определён тройной негативный подтип (20,29 %). Наибольшее количество пациенток, включённых в исследование, имели стадию заболевания IIa (N = 26; 37,68%). У 21 пациентки была стадия IV (30,43 %). Стадия IIb была у 9 пациенток (13,04 %), IIIa – у 8 пациенток (11,59%), IIIb – у 3 (4,35 %), IIIc – у 2 (2,9 %). Ни у одной пациентки не было стадии заболевания 0, Ia или Ib (0 %).

Среди сопутствующих заболеваний наиболее часто диагностировалась гипертоническая болезнь 1-3 степени (N = 27; 39,13 %), при этом гипертоническая болезнь 2 стадии диагностирована у 19 пациенток (27,54 %), 3 стадии – у 8 (11,59 %). Железодефицитная анемия выявлена у 25 пациенток (36,23 %), дислипидемия – у 11 пациенток (15,94 %), ишемическая болезнь сердца в форме стенокардии напряжения – у 8 пациенток (11,59 %), хроническая сердечная недостаточность с сохранённой фракцией выброса – у 4 пациенток (5,8 %). Заболевания бронхолёгочной системы выявлены у 3 пациенток: у двух диагностирована хроническая обструктивная болезнь лёгких (2,9 %), у одной – бронхиальная астма (1,45 %). Две пациентки страдали сахарным диабетом 2 типа (2,9 %). Наименее распространённой сопутствующей патологией был гипотиреоз (N = 1; 1,45 %). Все хронические заболевания, имевшиеся у пациенток, были медикаментозно компенсированы.

Сведения о лекарственных препаратах, которые назначались пациенткам, включенным в исследование, представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Фармакотерапия пациенток, включенных в исследование

Фармакотерапия основного заболевания и его осложнений				
Препарат	Дозировка	Кол-во пациенток, N	Доля в группе, %	Показание
Доксорубицин	60 мг/м ²	69	100 %	Химиотерапия основного заболевания
Циклофосфамид	600 мг/м ²	69	100 %	Химиотерапия основного заболевания
Дексаметазон	8 мг	69	100 %	Премедикация
Хлоропирамин	50 мг	60	87 %	Премедикация
Дифенгидрамин	50 мг	9	13,04 %	Премедикация
Ондасетрон	16 мг	59	85,5 %	Профилактика рвоты
Метоклопрамид	10-40 мг	10	14,5 %	Профилактика рвоты
Золендроновая кислота	4 мг	5	7,25 %	Наличие костных метастазов
Гозерелин	3,6 мг	5	7,25 %	Гормональная терапия опухоли
Тримеперидин	10 мг	23	33,33 %	Обезболивание
Филграстим	5 мкг/кг	6	8,7 %	Нейтропения, индуцированная химиотерапией
Фармакотерапия сопутствующих заболеваний				
Группа препаратов			Количество пациенток, N	Доля в группе, %
Ингибиторы АПФ (эналаприл, лизиноприл, периндоприл)			23	33,33 %
Блокаторы рецепторов ангиотензина (валсартан)			6	8,7 %
Бета-блокаторы (бисопролол, метопролол)			5	7,25 %
Диуретики (гидрохлортиазид, индапамид)			11	15,94 %

Продолжение Таблицы 1

Ингибиторы кальциевых каналов (амлодипин)	5	7,25 %
Статины (аторвастатин, розувастатин)	19	27,54 %
Сахароснижающие препараты (метформин)	2	2,9 %
Ингаляционные ГКС (будесонид)	1	1,45 %
Ингаляционные бета-агонисты (сальбутамол)	2	2,9 %
Препараты железа (сульфат железа (II) + аскорбиновая кислота, железа (III) гидроксид полимальтозат)	9	13,04 %
Ингибиторы протонной помпы (омепразол, пантопразол)	8	11,6 %
Антиагреганты (аспирин)	8	11,6 %
L-тироксин	1	1,45 %

Методы исследования

Рутинное лабораторное и инструментальное обследование

До начала проведения курса химиотерапии пациенткам проводился общий клинический анализ крови на гематологическом анализаторе Sysmex XN-550 для определения уровня гемоглобина, эритроцитов, лейкоцитов, лейкоцитарной формулы, тромбоцитов; биохимический анализ крови на биохимическом анализаторе Olympus AU-400 с определением уровня глюкозы, общего белка, печёночных трансаминаз, общего билирубина, креатинина, общего холестерина. За референсные значения принимались показатели, принятые лабораторией.

Объём инструментальных методов определялся наличием показаний к их проведению и тяжестью основного заболевания. Методы исследования включали рентген органов грудной клетки, компьютерную томографию органов грудной клетки, ультразвуковое исследование органов малого таза, ультразвуковое исследование органов брюшной полости, компьютерную томографию органов брюшной полости, ЭКГ, ЭхоКГ.

Определение концентрации доксорубина

Исследование концентрации доксорубина в плазме крови проводилось с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на жидкостном хроматографе Agilent 1290 Infinity II LC coupled with the 6470 Triple Quadrupole LC/MS с использованием стандартных растворов с концентрациями 10 мкг/мл, 1 мкг/мл и 100 нг/мл, 98% муравьиной кислоты, ацетонитрила и воды очищенной Milli-Q для ВЭЖХ. Дополнительное оборудование включало аналитические весы ME54 МЕТТЛЕР ТОЛЕДО, одноканальные механические дозаторы с варьируемым объемом 100 – 1000 мкл и 20 – 200 мкл (Thermo Scientific Блэк), центрифуга Eppendorf, колонка C-18, размером 50 × 2,1 мм, 1,7 мкм.

Исследование полиморфизмов генов

Исследование полиморфизмов генов проводилось с помощью выделения ДНК и непосредственно анализа полиморфизма. Выделение ДНК проводилось из цельной крови с помощью набора AmpliSens ДНК-сорб-В с использованием ПЦР-бокса, микроцентрифуги Eppendorf, вортекса, твердотельного термостата Термит, автоматических дозаторов. Анализ полиморфизмов проводился с помощью коммерческих наборов реагентов (ООО «Синтол», Россия) методом ПЦР в режиме реального времени с помощью амплификатора CFX-96 с использованием флуоресцентных зондов FAM и HEX. Исследовались следующие полиморфизмы: полиморфизм гена G1846A (CYP2D6*4): аллели GG, GA, AA; полиморфизм CYP3A5*3: аллели GG, GA, AA; полиморфизм CYP2C19*2: аллели *1/*1, *1/*2, *2/*2; полиморфизм CYP2C19*3: аллели *1/*1, *1/*2, *2/*2. Исследовались несколько полиморфизмов

гена ABCB1, среди них полиморфизм 1236, аллели CC, CT, TT; полиморфизм 3435: аллели CC, CT, TT; полиморфизм 2677: аллели GG, GT, TT.

Определение уровня тропонина I

Проведён забор крови для определения уровня тропонина I в плазме крови, как признака неишемического повреждения миокарда вследствие применения у пациентов доксорубицина. Определение уровня тропонина I в плазме крови проводилось на экспресс-анализаторе PATHFAST® методом иммунохемилюминесцентного ферментного анализа. За референсные значения в отношении неишемического повреждения миокарда у женщин принимался результат 0-12 нг/мл [Spanuth E et al, 2015].

Холтеровское мониторирование ЭКГ

Всем пациенткам, принимавшим участие в исследовании, в день госпитализации для проведения курса химиотерапии был установлен 12-канальный аппарат холтеровского мониторирования ЭКГ «Кардиотехника-04-8 (М)» (ООО ТД «ИНКАРТ») на 24 часа. Чтение записанных данных происходило с помощью программного обеспечения medilog® DARWIN2. Исследование проводилось однократно. Интерпретация результатов выполнялась с консультацией врача-кардиолога.

Эхокардиография

Через три месяца после последнего курса химиотерапии пациентки были приглашены для выполнения ультразвукового исследования сердца. Исследование выполнялось врачом-кардиологом, владеющим методикой выполнения ультразвукового исследования сердца, на аппарате SonoScape S20. Исследование проводилось однократно. Интерпретация результатов эхокардиографии проводилось согласно критериям, указанных в действующих клинических рекомендациях.

Статистическая обработка данных

Математический статистический анализ данных диссертационного исследования проводился с использованием электронно-вычислительной техники, программного обеспечения Medcalc® версия 19.8.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Результаты исследования полиморфизмов генов пациенток

В таблице 2 представлены результаты исследования полиморфизмов генов, играющих роль в метаболизме доксорубицина.

Проведён расчёт соответствия частоты выявленных полиморфизмов по закону Харди-Вайнберга. Большинство выявленных полиморфизмов соответствовали возможному

популяционному распределению по закону Харди-Вайнберга, исключение составлял полиморфизм 2677 гена ABCB1, где распределение аллелей не соответствовало закону Харди-Вайнберга ($p=0,00027$).

Таблица 2 – Результаты исследования полиморфизмов генов, участвующих в метаболизме доксорубицина

Полиморфизм		Генотип	Количество пациенток (всего n=69)	Частота (95% ДИ), %	p
CYP2D6*4		GG	46	66,7(54,3-77,6)	$p<0,0001$
		GA	23	33,3 (22,4-45,7)	$p<0,0001$
		AA	0	-	-
CYP3A5*3		GG	55	79,7(68,3-88,4)	$p<0,0001$
		GA	13	18,9(10,5-30,1)	$p<0,0001$
		AA	1	1,4 (0,03-7,7)	$p=0,17$
ABCB1	1236	CC	23	33,3 (22,4-45,7)	$p<0,0001$
		CT	27	39,2 (27,7-51,7)	$p<0,0001$
		TT	19	27,5 (17,4-39,6)	$p<0,0001$
	3435	CC	13	18,8 (10,4-30,0)	$p<0,0001$
		CT	34	49,3 (37,0-61,6)	$p<0,0001$
		TT	22	31,9 (21,2-44,2)	$p<0,0001$
	2677	GG	25	36,2(25,0-48,7)	$p<0,0001$
		GT	22	31,9 (21,2-44,2)	$p<0,0001$
		TT	22	31,9 (21,2-44,2)	$p<0,0001$
CYP2C19*2		1*/1*	49	71,0 (58,8-81,3)	$p<0,0001$
		1*/2*	17	24,6 (15,0-36,5)	$p<0,0001$
		2*/2*	3	4,4 (0,93-12,6)	$p=0,82$

Структура нежелательных явлений

Нежелательные явления наблюдались у 45 пациенток (65,22 %), включённых в исследование, при этом у 35 пациенток наблюдалось развитие 2 и более нежелательных явлений (50,72 %). Нежелательные явления не были обнаружены у 24 пациенток (34,78 %).

Структура нежелательных явлений (НЯ) у пациенток, включенных в исследование, представлена в таблице 3.

Результаты определения концентрации доксорубина в плазме крови

На рисунке 1 представлено частотное распределение полученных результатов определения минимальной равновесной концентрации доксорубина в плазме крови у пациенток, принявших участие в исследовании. Минимальная концентрация доксорубина составляла 29,81 нг/мл, а максимальная – 301,84 нг/мл. Согласно результатам, среднее значение концентрации доксорубина составило 141,661 нг/мл при 95% доверительном интервале 127,367 - 155,954, в то время как медианное значение равнялось 132,4 (126,118-144,029; 95% ДИ).

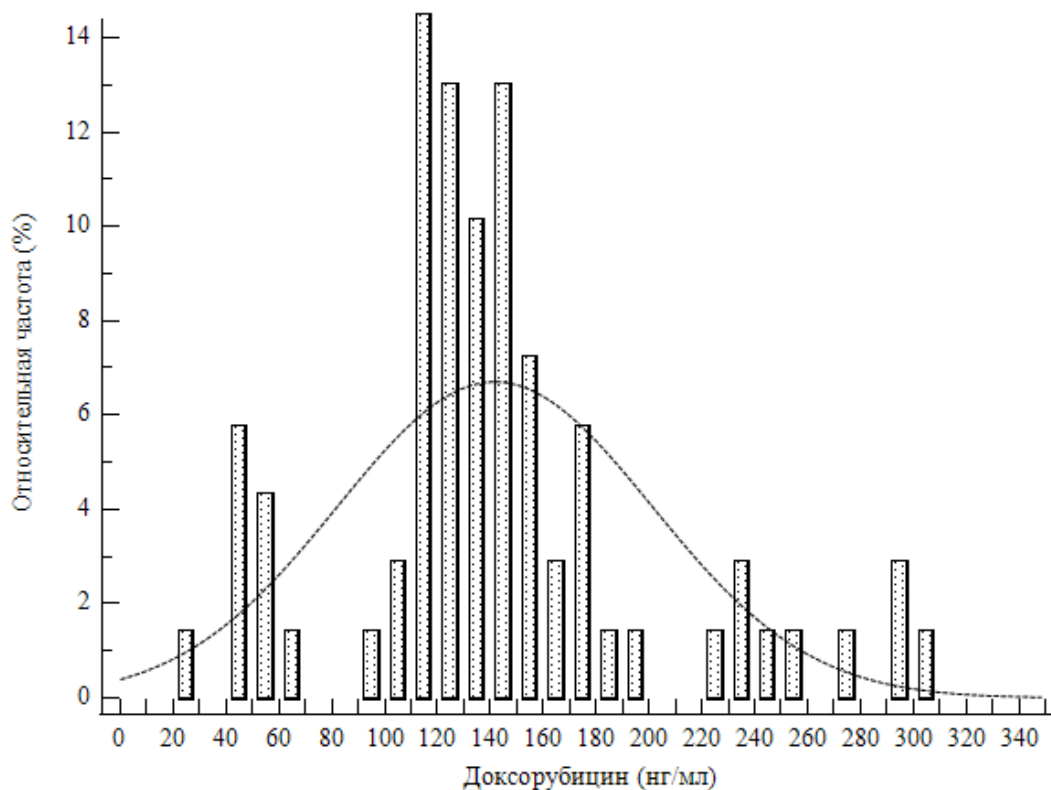


Рисунок 1 – Частотное распределение результатов определения минимальной равновесной концентрации доксорубина в плазме крови

Таблица 3 – Структура нежелательных явлений у пациенток, включенных в исследование

Нежелательное явление		К-во наблюдений (всего N = 69)	%	Частота (95%ДИ) %	p
Анемия		4	5,8	5,8 (1,6-14,2)	p=0,76
Алоpecia		21	30,43	30,4(19,9-42,7)	p<0,0001
Диарея		2	2,9	2,9 (0,35-10,0)	p=0,423
Лейкопения		18	26,1	26,1 (16,3-38,1)	p<0,0001
Лимфопения		5	7,24	7,2 (2,34-16,0)	p=0,41
Нейтропения		9	13,04	13,0 (6,11-23,3)	p=0,002
Тошнота		12	17,4	17,4 (9,3-28,4)	p<0,0001
Повышение уровня АЛТ		4	5,8	5,8 (1,6-14,2)	p=0,76
Кардиологические НЯ					
Кардиологические НЯ	Синусовая тахикардия	19	27,54	27,5 (17,4-39,6)	p<0,0001
	Другие виды аритмии (частая желудочковая экстрасистолия (ЧЖЭС))	2	2,9	2,9 (0,35-10,0)	p=0,423
	Снижение фракции выброса левого желудочка (ФВЛЖ)	5	7,25	7,2 (2,34-16,0)	p=0,41
	Повышение уровня тропонина > 12 нг/мл	11	15,94	15,9 (8,21-26,7)	p<0,0001

Результаты определения уровня тропонина I

На рисунке 2 представлен график распределения пациенток по концентрации тропонина I в плазме крови. Минимальное значение составляло 0,23 нг/л, максимальное – 36,2 нг/л. Среднее значение составило 7,444 нг/мл при 95% доверительном интервале 5,511 - 9,377, при этом медианное значение было равно 4,18 (3,414-5,811; 95% ДИ).

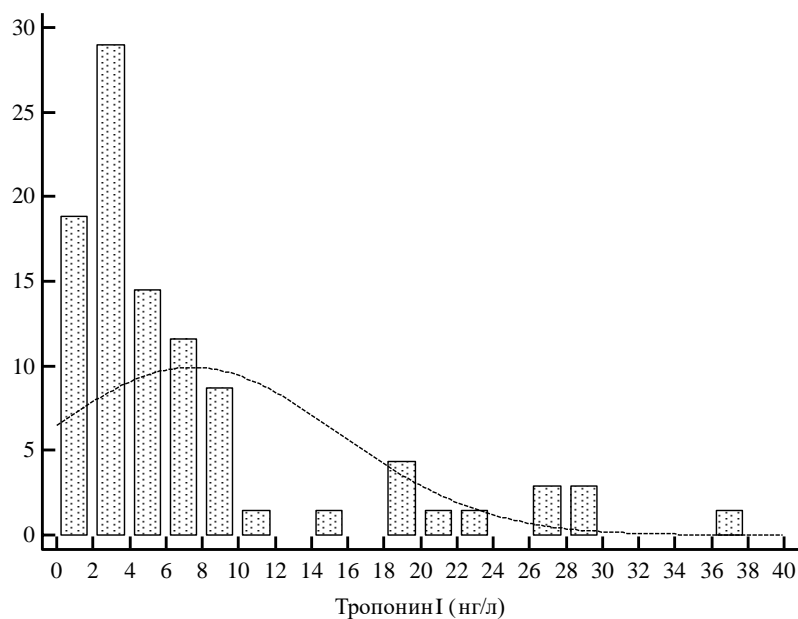


Рисунок 2 – Частотное распределение результатов определения уровня тропонина I в плазме крови

Риск развития нежелательных явлений и уровень доксорубицина

Определены значения концентрации доксорубицина у пациенток, у которых наблюдались нежелательные явления. Наименьшее значение доксорубицина, при котором наблюдались нежелательные явления составило 50,1200 нг/мл, а наибольшее – 172,4600 нг/мл. Медианное значение концентрации доксорубицина, при котором развивались нежелательные явления, было равно 136,49 нг/мл при 95% доверительном интервале от 118,8459 до 142,3509. Мы провели расчёт относительного риска развития нежелательных явлений среди пациенток, концентрация доксорубицина у которых была выше медианного значения и ниже его (таблица 4).

Таблица 4 – Относительный риск развития нежелательных явлений среди пациенток в зависимости от значения концентрации доксорубицина

НЛР	Всего больных с НЛР	Количество пациенток с НЛР при уровне доксорубицина ≥136,49 нг/мл (всего n=33)	Количество больных с НЛР при уровне доксорубицина < 136,49 нг/мл (всего n=36)	Относительный риск (95%ДИ)	p
Анемия	4	3	1	3,3(0,36-29,9)	0,29
Алопеция	21	14	7	2,2(1,01-4,73)	0,048
Диарея	2	2	0	5,4(0,27-109,0)	0,27
Лейкопения	18	7	11	0,69(0,31-1,58)	0,38
Лимфопения	5	2	3	0,72(0,13-4,1)	0,72
Нейтропения	9	5	4	1,36(0,39-4,65)	0,620
Тахикардия	19	13	6	2,36(1,01-5,5)	0,046
Тошнота	12	9	3	3,37(1,0-11,4)	0,05
Тропонин более 12 нг/л	11	10	1	5,76 (1,36-24,4)	0,018
Снижение фракции выброса левого желудочка	5	4	1	4,36(0,5-37,1)	0,177
Повышение уровня печёночных трансаминаз	4	3	1	4,36(0,51-37,1)	0,17
Аритмия	2	1	1	0,54(0,05-5,74)	0,614

Проведён ROC-анализ с целью расчёта AUC и построения ROC-кривой для определения взаимосвязи концентрации доксорубицина и возникновения нежелательного явления (таблица 5). Статистически значимыми результатами определения AUC являлись в отношении возникновения алопеции ($p < 0,0001$), тошноты ($p=0,041$) и повышения уровня тропонина I ($p=0,002$). В отношении других нежелательных явлений значение критерия p было более 0,05.

Таблица 5 – ROC-анализ определения взаимосвязи концентрации доксорубицина и возникновения нежелательного явления

Нежелательная реакция	AUC (95% ДИ)	Критический уровень доксорубицина (ДИ 95%)	p
Анемия	0,629 (0,504-0,742)	>172,46 (>141,77 - >242,18)	p=0,261
Алопеция	0,793 (0,576-0,833)	>116,89 (>111,83 - >116,89)	p<0,0001
Диарея	0,626 (0,501-0,740)	>141,35 (>141,26 - >149,15)	p=0,27
Лейкопения	0,637 (0,513-0,750)	>128,21(>102,53 - >136,41)	p=0,051
Лимфопения	0,580 (0,455-0,698)	>136,49 (>46,85 - >159,12)	p=0,29
Нейтропения	0,578 (0,453-0,696)	>50,13 (>41,14 - >159,12)	p=0,5
Тахикардия	0,602 (0,477-0,718)	>112,76 (>109,39 - >123,84)	p=0,14
Тошнота	0,626 (0,501-0,740)	>141,35 (>141,26 - >149,15)	p=0,041
Тропонин I более 12 нг/л	0,757 (0,639-0,852)	>142,56 (>111,83 - >157,88)	p=0,002
Снижение фракции выброса левого желудочка	0,537 (0,413-0,658)	>132,19 (>114,06 - >149,15)	p=0,607
Повышение уровня печёночных трансаминаз	0,621 (0,496-0,735)	>136,49 (>129,76 - >143,75)	p=0,052
Аритмия	0,576 (0,451-0,694)	>143,75(>129,76 до >143,75)	p=0,529

Риск развития острой или ранней хронической кардиотоксичности доксорубицина и уровень тропонина I

Проанализирована корреляция между концентрацией тропонина I и возникновением явлений острой и ранней хронической кардиотоксичности. У 19 пациенток наблюдалась синусовая тахикардия как явление острой кардиотоксичности доксорубицина. Среди них у 7 (36,8 %) имело место повышение уровня тропонина I более 12 нг/мл, а у 12 (63,2 %) уровень тропонина I оставался в пределах нормальных значений, проведён расчёт относительного риска (ОР): ОР=3,15 (95% доверительный интервал (ДИ) 1,1-9,1; $p = 0,03$). У двух пациенток с помощью холтеровского мониторинга была зафиксирована частая желудочковая

экстрасистолия, и у обеих пациенток наблюдалось повышение уровня тропонина I более 12 нг/мл (100 %), при этом относительный риск был равен 7,4 при 95% доверительном интервале 4,05-13,7; $p < 0,0001$. Снижение фракции выброса левого желудочка как проявление ранней хронической кардиотоксичности доксорубицина наблюдалась у пяти пациенток, включённых в исследование, ни у одной из них не наблюдалось повышения уровня тропонина I более 12 нг/мл (0 %), ОР = 0,47 (95% ДИ 0,03-7,04; $p = 0,585$). Таким образом, у пациенток с развившейся синусовой тахикардией и ЧЖЭС достоверно чаще наблюдалось повышение уровня тропонина I. Статистически значимой разницы между пациентками с обнаруженным снижением фракции выброса левого желудочка и пациентками с нормальной фракцией выброса левого желудочка в отношении повышения уровня тропонина I не наблюдалось.

Влияние сопутствующих сердечно-сосудистых заболеваний пациенток на проявления кардиотоксичности доксорубицина

Проанализирована частота встречаемости кардиотоксичности доксорубицина среди пациенток с наличием сопутствующих сердечно-сосудистых заболеваний или их отсутствием.

Среди пациенток, у которых обнаружена синусовая тахикардия, у 11 сердечно-сосудистые заболевания были диагностированы до начала исследования, а у 8 сердечно-сосудистой патологии не было. У 18 пациенток с диагностированными сердечно-сосудистыми заболеваниями и у 32 пациенток без сердечно-сосудистых заболеваний не было обнаружено синусовой тахикардии в ходе холтеровского мониторирования. ОР развития синусовой тахикардии равен 1,89 (95% ДИ 0,87-4,11) при $p = 0,1$.

У двух пациенток, у которых с помощью холтеровского мониторирования была обнаружена ЧЖЭС, сердечно-сосудистая патология отсутствовала. У 29 пациенток с диагностированными сердечно-сосудистыми заболеваниями и у 38 пациенток без сердечно-сосудистых заболеваний не было обнаружено частой желудочковой экстрасистолии в ходе холтеровского мониторирования (более 500 комплексов в сутки). ОР развития ЧЖЭС равен 0,27 (95% ДИ 0,01-5,48; $p = 0,397$).

Среди пациенток, у которых обнаружено снижение ФВЛЖ спустя три месяца после проведения последнего курса химиотерапии, у 3 до начала нашего исследования были диагностированы сердечно-сосудистые заболевания, а у 2 сердечно-сосудистой патологии не было выявлено. У 26 пациенток с диагностированными сердечно-сосудистыми заболеваниями и у 38 пациенток без сердечно-сосудистых заболеваний не было обнаружено снижения ФВЛЖ. Относительный риск снижения ФВЛЖ равен 2,1 (95% ДИ 0,368-11,6) при $p = 0,409$.

Таким образом, статистически значимой взаимосвязи между наличием сердечно-сосудистых заболеваний и повышенным риском развития кардиотоксичности доксорубицина в данном исследовании не выявлено.

У 4 пациенток, у которых имелись сердечно-сосудистые заболевания, наблюдалось повышение уровня тропонина I. Повышение уровня тропонина I наблюдалось у 4 пациенток без сердечно-сосудистой патологии. У 7 пациенток, у которых имелись сердечно-сосудистые заболевания, отсутствовало повышение уровня тропонина I. Повышение уровня тропонина I отсутствовало у 9 пациенток без сердечно-сосудистой патологии. При этом относительный риск = 1,182 при 95% доверительном интервале 0,382-3,657, $p > 0,05$. Таким образом, статистически значимого влияния изначально имеющейся сердечно-сосудистой патологии на повышение уровня тропонина I не выявлено.

Ассоциация генотипов пациенток с уровнем минимальной равновесной концентрацией доксорубицина в плазме крови

Ассоциация носительства определённых генотипов со значениями минимальной равновесной концентрацией доксорубицина в плазме крови пациенток представлена в таблице 6. Результаты проведенного исследования показывают более высокую концентрацию доксорубицина у носительниц генотипов 1236ТТ, 3435ТТ и 2677ТТ по сравнению с носительницами генотипов 1236СС и 1236СТ, 3435СС и 3435СТ, 2677GG и 2677GT. Также отмечается сравнительно более высокая концентрация доксорубицина у носительниц генотипа СYP2C19*2 2*/2* по сравнению с носительницами СYP2C19*2 1*/1* или СYP2C19*2 1*/2*, однако обращает на себя внимание значительная разница между количествами пациенток (N = 3, 48 и 18 соответственно для вышеперечисленных генотипов), что не позволяет корректно сравнить результаты между данными группами пациенток.

Для определения статистической значимости различий значений минимальной равновесной концентрации доксорубицина использовался расчёт U-критерия Манна-Уитни. При проведении расчёта U-критерия Манна-Уитни для определения статистической значимости различий значений равновесной концентраций доксорубицина сравнивались следующие группы: СYP2D6*4 GG и GA; СYP3A5*3 GG и GA; СYP2C19 1*/1* и 1*/2*; СYP2C19 1*/2* и 2*/2*; 1236 СС+СТ и ТТ; 3435 СС+СТ и ТТ; 2677 GG+GT и ТТ. Сравнение группы СYP2C19 1*/1* и СYP2C19 2*/2* не проводилось ввиду значительной количественной разницы между выборками (49 пациенток с генотипом СYP2C19 1*/1* и 3 пациентки с генотипом СYP2C19 2*/2*).

Таблица 6 – Анализ ассоциации носительства определённых генотипов со значениями минимальной равновесной концентрацией доксорубина в плазме крови

Полиморфизм		Генотип	Количество пациенток	Среднее значение (нг/мл)	ДИ 95%
CYP2D6*4		GG	46	131,6	120,4-152,8
		GA	23	134,8	126,8-144,6
CYP3A5*3		GG	55	136,5	128,2-147,5
		GA	13	129,8	115,0-156,9
		AA	1	116,9	-
ABCВ1	1236	CC	23	135,0	48,15-168,4
		CT	27	126,4	115,4-133,3
		TT	19	146,9	131,7-167,1
	3435	CC	13	128,7	114,8-144,2
		CT	34	131,7	117,3-144,2
		TT	22	156,0	132,2-213,5
	2677	GG	25	96,3	48,2-142,3
		GT	22	130,2	117,7-137,7
		TT	22	146,9	131,7-167,1
CYP2C19*2		1*/1*	49	138,9	128,9-148,0
		1*/2*	17	83,8	48,2-132,4
		2*/2*	3	172,5	-

В группах СУР2D6*4 GG и GA, СУР3A5*3 GG и GA, СУР2C19 1*/2* и 2*/2* полученное эмпирическое значение U эмп находилось в зоне незначимости. Полученное эмпирическое значение U эмп находилось в зоне значимости в группах СУР2C19 1*/1* и 1*/2*, 1236 СС+СТ и ТТ, 3435 СС+СТ и ТТ, 2677 GG+GT и ТТ.

ВЫВОДЫ

1. Частота проявлений острой антрациклиновой кардиотоксичности в виде синусовой тахикардии и частой желудочковой экстрасистолии у пациенток без кардиоваскулярной патологии до начала химиотерапии статистически значимо не отличалась от частоты проявления кардиотоксичности у пациенток с кардиоваскулярной патологией с сохранённой фракцией выброса (ОР = 1,89 (95% ДИ 0,87-4,11), $p=0,1$ и ОР = 0,27 (95% ДИ 0,01-5,48), $p = 0,397$ соответственно). Взаимосвязь между наличием предшествующей сердечно-сосудистой патологии и увеличением вероятности наступления ранней хронической кардиотоксичности доксорубицина в виде снижения фракции выброса левого желудочка не является статистически значимой (ОР = 2,1 (95% ДИ 0,368-11,6), $p=0,409$); критерий Фишера $p = 0,643$). Статистически значимого влияния изначально имеющейся сердечно-сосудистой патологии на повышение уровня тропонина I не выявлено (ОР = 1,182 (95% ДИ 0,382-3,657), $p > 0,05$).

2. Повышение уровня тропонина I является биомаркером возникновения острой кардиотоксичности доксорубицина. Выявлена статистическая значимость в отношении увеличения риска развития острой кардиотоксичности доксорубицина среди пациенток, у которых выявлено повышение уровня I более 12 нг/мл: в отношении синусовой тахикардии ОР = 3,15 (95% ДИ 1,1-9,1), $p=0,03$, в отношении ЧЖЭС ОР = 7,4 (95% ДИ 4,05-13,7), $p < 0,0001$. Не выявлено статистической значимости в отношении увеличения риска развития ранней хронической кардиотоксичности доксорубицина в виде снижения фракции выброса левого желудочка среди пациенток, у которых выявлено повышение уровня I более 12 нг/мл: ОР = 0,47 (95% ДИ 0,03-7,04), $p=0,585$.

3. Медианное значение концентрации доксорубицина, при котором развивались любые виды нежелательных явлений составило 136,49 нг/мл (95% ДИ 118,8459-142,3509). Выявлена статистически значимая корреляция между более высокой концентрацией доксорубицина и увеличением риска развития алопеции (ОР = 2,2 [95% доверительный интервал 1,01-4,73], $p = 0,048$; AUC = 0,793 (0,576-0,833), $p < 0,0001$); тошноты (AUC = 0,626 (0,501-0,74), $p = 0,041$).

4. Повышение концентрации тропонина I коррелирует с более высокой концентрацией доксорубицина в плазме крови (OR = 5,76 [95% доверительный интервал 1,36-24,4], $p = 0,018$; AUC = 0,757 (0,639-0,852), $p = 0,002$).

5. Статистически значимо наибольшая средняя минимальная равновесная концентрация доксорубицина установлена у пациенток с гомозиготными рецессивными аллелями генов, кодирующих р-гликопротеин 1236ТТ, 3435ТТ и 267ТТ, по сравнению с пациентками-носительницами гомозиготных доминантных или гетерозиготных аллелей (1236СС или 1236СТ, 3435СС или 3435СТ, 2677GG или 2677GT). В группе 1236 СС+СТ и ТТ U эмп = 189, U кр ($p < 0,01$) = 242, U кр ($p < 0,01$) = 285. В группе 3435 СС+СТ и ТТ U эмп = 193, U кр ($p < 0,01$) = 223, U кр ($p < 0,01$) = 264. В группе 2677 GG+GT и ТТ U эмп = 201, U кр ($p < 0,01$) = 208, U кр ($p < 0,01$) = 247.

6. Статистически значимого влияния наличия полиморфизмов генов CYP2D6*4, CYP3A5*3 и CYP2C19*2 на минимальную равновесную концентрацию доксорубицина не выявлено. В группе CYP2D6*4 GG и GA U эмп = 330, U кр ($p < 0,01$) = 203, U кр ($p < 0,01$) = 246. В группе CYP3A5*3 GG и GA U эмп = 493, U кр ($p < 0,01$) = 345, U кр ($p < 0,01$) = 399. В группе CYP2C19 1*/1* и 1*/2* U эмп = 206, U кр ($p < 0,01$) = 257, U кр ($p < 0,01$) = 303. В группе CYP2C19 1*/2* и 2*/2* U эмп = 10, U кр ($p < 0,01$) = 4, U кр ($p < 0,01$) = 9.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Целесообразным является проведение генетического исследования полиморфизмов 1236, 3435 и 2677 гена ABCB1 у пациентов, которым предстоит проведение химиотерапии, в режим которой входит доксорубин, с целью определения носительства генотипов 1236ТТ, 3435ТТ и 2677ТТ, как вероятных предикторов наступления нежелательных явлений доксорубицина;

2. Терапевтический лекарственный мониторинг – определение минимальной равновесной плазменной концентрации доксорубицина – может быть использован с целью прогнозирования вероятности нежелательных лекарственных реакций при проведении химиотерапии в режиме АС (доксорубин + циклофосфамид) у пациенток с генотипами 1236ТТ, 3435ТТ и 2677ТТ.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Ших Е.В., Багдасарян А.А. / Клинико-фармакологический подход к прогнозированию нежелательных реакций доксорубина на основании определения его минимальной равновесной концентрации в плазме крови у пациенток с раком молочной железы // **Фармакология & Фармакотерапия**. - 2024. № 2. - 18–24. - <https://online.fliphtml5.com/zsbrg/imaw/#p=20>. doi: 10.46393/27132129_2024_2_18;
2. Багдасарян А.А., Ших Е.В., Дроздов В.Н. / Прогнозирование нежелательных эффектов доксорубина на основании фармакокинетических и фармакогенетических исследований у пациенток с раком молочной железы. // **Клиническая фармакология и терапия**, 2024;33(3): 21-25. DOI 10.32756/0869-5490- 2024-3-21-25.
3. Багдасарян, А. А. /Влияние полиморфизмов генов CYP3A5, CYP2D6, CYP2C19 и ABCB1 на уровни минимальной равновесной концентрации доксорубина и тропонина I у пациенток с раком молочной железы: обсервационное поперечное исследование / А.А. Багдасарян, Е. В. Ших, В. Н. Дроздов // **Фарматека**. – 2024. – Т. 31, № 9. – С. 161-166. – DOI 10.18565/pharmateca.2024.9.161-166. – EDN ACDEDJ.
4. Bagdasaryan AA, Chubarev VN, Smolyarchuk EA, Drozdov VN, Krasnyuk II, Liu J, Fan R, Tse E, Shikh EV, Sukocheva OA. / Pharmacogenetics of Drug Metabolism: The Role of Gene Polymorphism in the Regulation of Doxorubicin Safety and Efficacy. // *Cancers (Basel)*. 2022 Nov 4;14(21):5436. doi: 10.3390/cancers14215436. PMID: 36358854; PMCID: PMC9659104
5. Багдасарян А.А., Ших Е.В. /Ассоциация полиморфизма C3435T и риска развития неблагоприятных реакций при фармакотерапии доксорубином у пациенток с раком молочной железы. // *Фармакогенетика и фармакогеномика*. 2022;(2):7-8. <https://doi.org/10.37489/2588-0527-2022-2-7-8>
6. Багдасарян А.А., Ших Е.В. /Ассоциация между уровнем тропонина I и равновесной концентрацией доксорубина у пациенток с раком молочной железы. // Сборник научных статей по итогам работы Международного научного форума Наука и инновации – современные концепции., г. Москва, 25 апреля 2024 года. doi:10.34660/INF.2024.22.89.163

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

РМЖ – рак молочной железы

НЛР – нежелательная лекарственная реакция

ЭхоКГ – эхокардиография

ЭКГ – электрокардиограмма

ПЦР – полимеразная цепная реакция

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

НЯ – нежелательное явление

ОР – относительный риск

ДИ – доверительный интервал

ЧЖЭС – частая желудочковая экстрасистолия

ФВЛЖ – фракции выброса левого желудочка