

Кардиопротективный эффект антагониста фактора некроза опухоли альфа при доксорубициновом поражении миокарда

Попович М. И.¹, Чебан Л. М.¹, Таку Л. А.², Иванов В. М.¹, Попович И. М.¹, Иванов М. В.², Ротару В. А.², Михалчан Л. С.², Кобец В. А.²

¹Институт кардиологии. Кишинев; ²Государственный университет медицины и фармации “Н. Тестемицану”. Кишинев, Республика Молдова

Доксорубин (ДОКС) — препарат первой линии в лечении неопластических процессов; однако он обладал высокой кардиотоксичностью даже в средних дозах. Высокая смертность онкобольных от кардиомиопатической сердечной недостаточности при лечении ДОКС — серьезная проблема онкологии и кардиологии. Среди факторов кардиотоксичности ДОКС выделяют активацию воспалительной реакции и способность препарата увеличить экспрессию фактора некроза опухолей альфа (TNF- α) в миокарде и коронарных артериях.

Цель. Изучить в экспериментальных условиях возможности кардиопротекции при действии ДОКС, применяя антагонист TNF- α .

Материал и методы. Доксорубициновое повреждение миокарда (ДПМ) было воспроизведено на белых крысах путем внутрибрюшинного введения ДОКС в кумулятивной дозе 16 мг/кг за 2 нед. В другой серии животным параллельно с ДОКС ежедневно на протяжении 2 нед. внутрибрюшинно вводили антагонист TNF- α — моноклональное антитело (ma-TNF- α) в дозе 5,0 мг/кг. Кардиопротективный эффект ma-TNF- α определяли на модели перфузии изолированного сердца в ходе, которой оценивали: (1) инотропный ответ миокарда на стимуляцию норадреналином и эндотелином-1 (ЭТ-1); (2) коронарный функциональный резерв на воздействие ацетилхолина, аденозина, брадикинина и перекиси водорода в разных концентрациях; (3) динамику конечного диастолического давления (КДД) левого желудочка (ЛЖ) при синдроме ишемия-реперфузия.

Результаты. При ДПМ достоверно нарушались показатели диастолы, систолы и насосной функции сердца уже при физиологических значениях давления наполнения и сопротивления. Действие ma-TNF- α сопровождалось достоверным увеличением минутного объема сердца (МОС), максимальной скорости изоволюмического сокращения и расслабления на 14,2-26,3%, а также достоверным снижением КДД на 30,1%. При действии ЭТ-1 на сердце

с ДПМ имел место отрицательный инотропный эффект, опосредованный через снижение систолического давления (СД) в ЛЖ на 9,1% по сравнению с исходным, в то время как ma-TNF- α обеспечивал аналогично контролю положительный инотропный эффект (СД в ЛЖ возросло на 8,5%) и прирост МОС на 14,3%. Кардиопротекторный эффект ma-TNF- α сопровождался достоверным повышением коронарного функционального резерва. Примечательно, что коронарная реактивность, свойственная действию перекиси водорода, опосредованная механизмом гиперполяризации, не изменилась при ДПМ. Применение ma-TNF- α улучшило резистентность сердца к ишемии и реперфузии, т.к. определяемые значения КДД в разные временные периоды были достоверно ниже показателей при ДПМ, а уровень СД в ЛЖ — достоверно выше.

Заключение. Применение антагониста TNF- α при ДПМ оказало кардиопротективный эффект: достоверное увеличение МОС, СД, максимальной скорости изоволюмического сокращения и расслабления, достоверное снижение КДД, появление положительного инотропного ответа сердца на действие ЭТ-1, а также улучшение эндотелий-зависимой коронародилатации. Действие ma-TNF- α сопровождалось также уменьшением ишемической контрактуры сердца и достоверно лучшим восстановлением СД и КДД в период реперфузии.

Ключевые слова: доксорубин, кардиотоксичность, антагонист TNF- α , изолированное сердце, кардиопротекция.

Кардиоваскулярная терапия и профилактика, 2018; 17(1): 54–60
<http://dx.doi.org/10.15829/1728-8800-2018-1-54-60>

Поступила 02/10-2017

Принята к публикации 04/12-2017

Cardioprotective effect of tumor necrosis factor alpha antagonist in doxorubicin myocard toxicity

Popovich M. I.¹, Cheban L. M.¹, Taku L. A.², Ivanov V. M.¹, Popovich I. M.¹, Ivanov M. V.², Rotaru V. A.², Mihalchan L. S.², Kobets V. A.²

¹Institute of Cardiology, Cisinou; ²N. Testemitsanu State University of Medicine and Pharmacy, Cisinou, Republic of Moldova

Doxorubicin (Dox) is a first line drug in neoplasia treatment. It is however cardiotoxic even in moderate dosages. High mortality of oncological patients from cardiomyopathic heart failure on Dox treatment is a serious problem of oncology and cardiology. Among the cardiotoxicity factors of Dox are activation of inflammatory reaction and ability of the drug to increase expression of tumor necrosis factor alpha (TNF- α) in myocardium and coronary arteries.

Aim. To study in laboratory conditions the opportunities for cardioprotection from Dox with TNF- α antagonist.

Material and methods. Doxorubicin myocardial damage (DMD) was simulated on the white rats by intraabdominal load of Dox in cumulative dosage 16 mg/kg within 2 weeks. In other series, to the animals together with Dox every day during 2 weeks intraabdominally the TNF- α antagonist was loaded — monoclonal antibody (ma-TNF- α) dosage 5,0

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

Тел.: +7 (373-022) 72-75-11

e-mail: popovicim@gmail.com

[Попович М. И. — д.м.н., профессор, академик, зав. отделом интервенционной кардиологии, Чебан Л. М. — д.м.н., с.н.с. отдела интервенционной кардиологии, Таку Л. А. — ассистент кафедры патофизиологии, Иванов В. М. — д.м.н., профессор, зав. отделом недостаточности сердца, Попович И. М. — д.м.н., с.н.с. отдела интервенционной кардиологии, Иванов М. В. — резидент кардиолог, Ротару В. А. — к.м.н., доцент кафедры патофизиологии, Михалчан Л. С. — к.м.н., доцент клинического департамента, Кобец В. А. — д.м.н., профессор кафедры патофизиологии].

mg/kg. Cardioprotective effect ma-TNF- α was evaluated on the perfusion model of the isolated heart with assessment of: (1) inotropic response of myocardium on stimulation by noradrenalin and endothelin-1 (ET-1); (2) coronary functional reserve on acetylcholine, adenosine, bradikinin and hydrogen peroxide influence; (3) dynamics of end diastolic pressure (EDP) of the left ventricle in the ischemia-reperfusion syndrome.

Results. In DMD, there was significant disorder of the diastole, systole and pumping function of the heart even in physiological values of filling and resistance. Action ma-TNF- α was followed by a significant increase of cardiac output, maximum velocity of isovolumetric contraction and relaxation by 14,2-26,3%, and significant decrease of EDP by 30,1%. With action of ET-1 on the heart with DMD there was negative inotropic effect, mediated by the decrease of systolic pressure (SP) in LV by 9,1% comparing to the baseline, and when ma-TNF- α made analogically to control positive inotropic effect (SP in LV increased by 8,5%) and increase of cardiac output by 14,3%. Cardioprotective effect of ma-TNF- α followed by significant increase of coronary functional reserve. It is

notable that coronary reactivity, common for the action hydrogen peroxide and mediated by hyperpolarization, did not change in DMD. Usage of ma-TNF- α improved resistance of the heart to ischemia and reperfusion, as the measured EDP values measured at various time frames were significantly lower than EDP, and the level of SP in LV — significantly higher.

Conclusion. Usage of TNF- α antagonist in DMD made cardioprotective effect: significant increase of cardiac output, SP, maximum velocity of isovolumetric contraction and relaxation, significant decrease of EDP, appearance of positive inotropic response of the heart on ET-1, and improvement of endothelium-dependent coronary dilation. Action of ma-TNF- α was followed by decrease of ischemic cardiac contracture and significantly better recovery of SP and EDP during reperfusion.

Key words: doxorubicin, cardiotoxicity, antagonist TNF- α , isolated heart, cardioprotection.

Cardiovascular Therapy and Prevention, 2018; 17(1): 54–60
<http://dx.doi.org/10.15829/1728-8800-2018-1-54-60>

ДОКС — доксорубин, доксорубиновая, ДПМ — доксорубиновое поражение миокарда, КДД — конечное диастолическое давление ЛЖ, КП — коронарный поток, КФР — коронарный функциональный резерв сердца, ЛЖ — левый желудочек, ma-TNF- α — моноклональное антитело фактора некроза опухолей α , МОС — минутный объем сердца, НА — норадреналин, СД — систолическое давление ЛЖ, ЭТ-1 — эндотелин 1, TNF- α — фактор некроза опухолей альфа, +dP/dT max — максимальная скорость изоволюмического сокращения, -dP/dT max — максимальная скорость изоволюмического расслабления.

Введение

Доксорубин (ДОКС) является антибиотиком антрациклинового ряда с высокой антинеопластической активностью, применяемый на первой линии терапии лейкозов, лимфом, саркомы и опухоли молочной железы. Его противораковый эффект обусловлен в основном ингибированием топоизомеразы 2, в результате чего нарушается репликация дезоксирибонуклеиновой кислоты, а также удалением гистонов из ядерной структуры и расщеплением связей нуклеотидов свободными радикалами кислорода [1, 2].

Среди побочных эффектов ДОКС особенно выделяется его высокая кардиотоксичность, которая даже при средних дозах препарата (350–500 мг/м²) проявляется у 15–25% онкологических больных развитием сердечной недостаточности, обусловленной ДОКС кардиомиопатией.

Развитие поражения сердца доксорубином (ДПМ) может быть очень быстрым (уже на первом году применения препарата), тогда как в других случаях кардиомиопатическая сердечная недостаточность развивается спустя длительное время (до 10 лет) после прекращения его воздействия [3–5]. Быстрое развитие выраженной застойной сердечной недостаточности под воздействием ДОКС является причиной высокой смертности (до 50%) среди онкологических больных, принимавших этот препарат [6]. Опыт клинического применения ДОКС у больных с острым лейкозом показывает, что их смертность примерно в одинаковой мере обусловлена неопластическим процессом и ДОКС кардиомиопатией.

В ходе поиска путей кардиопротекции при использовании ДОКС привлекает внимание способность ДОКС запускать и стимулировать воспалительную реакцию.

ДОКС стимулирует высвобождение фактора некроза опухолей альфа (TNF- α) макрофагами [7]; при этом было отмечено увеличение содержания TNF- α в миокарде крыс на 34% после 2-недельного воздействия ДОКС в кумулятивной дозе 16 мг/кг [8].

Важно отметить, что повышение экспрессии TNF- α при действии ДОКС имеет место не только в миокарде, но и в стенках коронарных артерий [9].

Следовательно, допустимо, что снижение количества TNF- α может оказать кардиопротекторный эффект при воздействии токсических доз ДОКС.

Этому предположению способствуют результаты, которые доказали положительный эффект — снижение фиброза миокарда и апоптоза сердечных клеток мышей, адипонектина, адипокина снижающих уровень TNF- α , при влиянии ДОКС в кумулятивной дозе 24 мг/кг в течение 6 нед. [10].

Цель исследования — изучение в экспериментальных условиях возможности кардиопротекции при действии ДОКС, используя антагонист TNF- α — моноклональное антитело TNF- α (ma-TNF- α).

Материал и методы

Модель ДПМ была воспроизведена на белых крысах путем внутрибрюшинного введения ДОКС (раствор 2%, Эбеве Фарма, Австрия) в кумулятивной дозе 16 мг/кг за 2 нед. (4 инъекции по 4,0 мг/кг). Такая кумулятивная

Таблица 1

Функциональные показатели изолированного сердца при оптимальной нагрузке

Показатели	Серии		
	Контроль (n=9)	ДОКС (n=9)	ДОКС+ма-TNF- α (n=9)
Аортальный выброс, мл/мин	21,5 \pm 1,4	12,8 \pm 0,8 p1<0,01	16,9 \pm 1,2 p1<0,05 p2<0,05
МОС, мл/мин	37,4 \pm 1,9	23,6 \pm 1,3 p1<0,01	29,8 \pm 1,4 p1<0,05 p2<0,05
СД, mm Hg	143,5 \pm 8,2	106,2 \pm 6,3 p1<0,05	129,3 \pm 6,9 p1<0,05
КДД ЛЖ, mm Hg	4,7 \pm 0,26	12,6 \pm 0,78 p1<0,01	7,8 \pm 0,46 p1<0,05 p2<0,05
ЧСС, уд./мин	289 \pm 13	245 \pm 11 p1<0,05	266 \pm 12
Показатель диастолической упругости ЛЖ, mm Hg/мл	29,8 \pm 1,7	62,5 \pm 4,4 p1<0,01	41,1 \pm 2,7 p1<0,05 p2<0,05
+dP/dT max, mm Hg/sec	8565 \pm 208	6320 \pm 165 p1<0,05	7220 \pm 182 p1<0,05 p2<0,05
-dP/dT max, mm Hg/sec	6710 \pm 174	5045 \pm 120 p1<0,05	6280 \pm 150 P2<0,05

Примечание: p1 — достоверно по сравнению с контролем, p2 — достоверно по сравнению с ДОКС, ЧСС — частота сердечных сокращений.

доза вызвала в другом исследовании повышение содержания TNF- α в миокарде крыс на 34% по сравнению с контрольными животными [8].

В другой серии, животным параллельно с ДОКС ежедневно на протяжении 2 нед. внутривенно вводили ма-TNF- α в дозе 5,0 мг/кг. В качестве ма-TNF- α использовали лиофилизированный порошок препарата Ремикейд (инфликсимаб — 100 мг/флакон) предназначенный для инфузии больным в основном с аутоиммунными заболеваниями в дозе 5,0 мг/кг. Эта же доза ма-TNF- α была использована в эксперименте другими авторами, в частности при исследовании его действия на экспрессию коллагена и некоторых провоспалительных цитокинов на модели диабетической кардиомиопатии [11].

Контрольные крысы получали внутривенно физиологический раствор.

Для определения возможного кардиопротективного эффекта ма-TNF- α при ДПМ использовали модель изолированного сердца. Учитывая кумулятивный эффект ДОКС, функциональное исследование *in vitro* проводили спустя 2 нед. после последней инъекции ДОКС или ДОКС+ма-TNF- α .

Изолированное сердце крысы перфузировали классическим раствором Кребса в изоволюмическом режиме (метод Langendorff) без рециркуляции и в режиме насосной работы (метод Neely-Rovetto) при давлении наполнения и сопротивления левого желудочка (ЛЖ) — 15 см и 80 см H₂O столба, соответственно. Функциональные параметры ЛЖ были зарегистрированы с помощью автографа Linearcorder MARK WR3101 (Германия) и компьютерной системы регистрации результатов в реальном режиме времени Bio-Shell (Австралия).

Для оценки защитного действия ма-TNF- α на миокард при ДПМ были выполнены 3 нагрузочные пробы с целью определения:

- инотропного ответа изолированного сердца в режиме внешней работы на введение в перфузат норадреналина (НА) или эндотелина 1 (ЭТ-1) до конечной концентрации препаратов 10⁻⁷-10⁻⁶ М;

- коронарного функционального резерва (КФР) при введении в перфузат естественных вазорелаксирующих веществ, таких как ацетилхолин, аденозин, брадикинин и перекись водорода в диапазоне концентраций 10⁻⁷-10⁻⁵ М. Значение КФР рассчитывалось как относительный прирост коронарного потока (КП) при воздействии указанных факторов по сравнению с исходным показателем;

- толерантности сердца при синдроме ишемия-реперфузия путем мониторинга конечного диастолического давления (КДД) ЛЖ ретроградно перфузируемого изолированного сердца в периодах ишемии (30 мин) и реперфузии (45 мин). Исходное диастолическое давление латексного баллончика, помещенного в полость ЛЖ, фиксировалось во всех 3 сериях на уровне 14 мм Hg. Также определяли характер восстановления систолического давления (СД) ЛЖ в периоде реперфузии.

Показатель диастолической упругости рассчитывали, как отношение прироста давления в ЛЖ за диастолу к ударному объему изолированного сердца.

Статистическую обработку полученных результатов осуществляли с помощью программы Microsoft Excel. Используя тест Колмогорова-Смирнова, был определен характер распределения переменной. При нормальном распределении (отклонение считалось незначительным или

Таблица 2

Функциональные показатели изолированного сердца на действие НА и ЭТ-1

Показатель/Серии	Инотропная стимуляция			
	Исходно	НА (10^{-7} М)	Исходно	ЭТ-1 (10^{-7} М)
СД в ЛЖ, mm Hg		186,8±8,5		177,3±8,6
Контроль	142,8±8,3	+30,8%	141,7±8,2	+25,1%
ДОКС	105,7±6,2*	109,7±6,4*	104,9±6,4*	95,4±6,6*
		+3,8%		-9,1%
ДОКС+ма-TNF- α	128,8±6,8	141,5±7,3**	127,7±6,7	138,5±8,5**
		+9,7%		+8,5%
ЧСС, уд./мин		309±14		297±15
Контроль	285±12	+8,4%	284±11	+4,6%
ДОКС	244±12*	272±13	243±10*	250±16*
		+11,5%		+2,9%
ДОКС+ма-TNF- α	265±12	279±13	264±12	275±14
		+5,3%		+4,2%
МОС, мл/мин		45,3±2,3		42,7±2,2
Контроль	36,7±1,9	+23,4%	36,9±1,9	+15,7%
ДОКС	22,7±1,3*	26,3±1,4*	23,6±1,3*	21,5±1,5*
		+15,9%		-9%
ДОКС+ма-TNF- α	29,1±1,5**	38,5±1,5**	28,7±1,6**	32,8±1,9**
		+32,3%		+14,3%

Примечание: * — достоверно ($p < 0,05$) по сравнению с контролем, # — достоверно ($p < 0,05$) по сравнению с ДОКС, % — относительное изменение показателя по сравнению с исходным, ЧСС — частота сердечных сокращений.

вероятность ошибки незначительная при $p > 0,05$) применяли параметрический тест с помощью t-критерия Стьюдента. При значении $p < 0,05$ разница признавалась статистически достоверной.

Результаты

Следует отметить, что уже при оптимальной нагрузке — физиологические уровни давления наполнения и сопротивления ЛЖ — 15 см и 80 см H_2O столба, соответственно, функциональные показатели изолированного сердца при ДПМ были достоверно хуже по сравнению с контролем (таблица 1).

Насосная функция изолированного сердца при ДПМ значительно нарушалась, о чем свидетельствует снижение аортального выброса и минутного объема сердца (МОС) на 40,5% и 36,9%, соответственно. Это сочетается с достоверно меньшим значением развиваемого СД ЛЖ на 30%, а также частоты сердечных сокращений на 15,2%.

Развитие ДПМ сопровождалось выраженным нарушением диастолы изолированного сердца. Значение КДД ЛЖ увеличилось в 2,7 раз, а показатель диастолической упругости сердца возрос в >2 раза.

Сократительная и расслабляющая способность миокарда тесно коррелирует с качеством изоволюмических фаз сердца. В этом контексте следует отметить достоверное уменьшение максимальной изоволюмической скорости сокращения (+dP/dT max) и расслабления (-dP/dT max) миокарда при ДПМ в среднем на 24-26%.

Применение в ходе действия ДОКС на миокард ма-TNF- α значительным образом предупредило функциональные нарушения сердца (таблица 1).

Аортальный выброс и МОС достоверно повысились на 32% и 26,3%, соответственно, но в то же время остаются достоверно ниже контрольных показателей на 20,3%-21,4%.

СД ЛЖ достоверно повысилось на 23,1 mm Hg (21,7%), а частота сердечных сокращений увеличилась на ~9%, и оба показателя не отличались достоверно от таковых в контрольной серии.

Действие ма-TNF- α вызвало заметное улучшение диастолы сердца. Величина КДД ЛЖ уменьшилась на 62%, а показатель диастолической упругости сердца снизился на >34%. В этой связи следует отметить достоверное повышение значения -dP/dT max на 24,4%, в результате чего показатель не отличался достоверно от контрольного.

Значение +dP/dT max возросло в меньшей степени (14,2%) и остается достоверно ниже контрольного показателя.

Улучшение функциональных показателей изолированного сердца при действии ма-TNF- α сочеталось с оптимизацией инотропной реакции на воздействие НА и ЭТ-1 (таблица 2).

Отличительной особенностью реактивности изолированного сердца при ДПМ является отрицательный инотропный ответ на действие ЭТ-1. СД на пике воздействия олигопептида снизилось на 9,1% (9,5 mm Hg), тогда как в контрольной серии наблюдался положительный инотропный ответ: повышение СД на 25,1% (35,6 mm Hg). Результатом

Таблица 3

КП и КФР изолированного сердца при действии ацетилхолина

Серия	Показатель	Ацетилхолин (М)		
		10 ⁻⁷	10 ⁻⁶	10 ⁻⁵
Контроль (n=9)	КП, мл/мин	14,9±0,9	16,5±0,9	17,3±1,0
	КФР, %	11,19±0,8	23,13±1,58	29,1±1,82
ДОКС (n=9)	КП, мл/мин	13,2±0,8	14,2±0,8	14,8±0,9*
	КФР, %	3,94±0,14*	11,81±0,9*	16,54±1,34*
ДОКС+ма-TNF-α (n=10)	КП, мл/мин	14,3±0,8	15,4±0,9	15,9±1,33
	КФР, %	8,13±0,73**	18,25±1,16**	20,76±1,53**

Примечание: * — достоверно (p<0,05) по сравнению с контролем, # — достоверно (p<0,05) по сравнению с ДОКС.

Таблица 4

Величина КФР (%) изолированного сердца при действии аденозина и брадикинина

Серия	Аденозин (М)		Брадикинин (М)	
	10 ⁻⁷	10 ⁻⁵	10 ⁻⁷	10 ⁻⁵
Контроль (n=9)	8,21±0,6	32,83±2,2	8,96±0,7	30,60±2,1
ДОКС (n=9)	5,51±0,4*	14,17±0,7*	6,30±0,4*	13,39±0,8*
ДОКС+ма-TNF-α (n=9)	7,64±0,5#	23,23±1,7**	8,14±0,6#	21,48±1,6**

Примечание: * — достоверно (p<0,05) по сравнению с контролем, # — достоверно (p<0,05) по сравнению с ДОКС.

Таблица 5

КФР (%) изолированного сердца при действии H₂O₂

Серия	H ₂ O ₂ (М)	
	10 ⁻⁶	10 ⁻⁵
Контроль (n=9)	14,9±1,25	15,6±1,22
ДОКС, (n=9)	15,7±1,27	16,2±1,29
ДОКС+ма-TNF-α, (n=9)	15,6±1,29	16,3±1,32

Примечание: H₂O₂ — перекись водорода.

отрицательного инотропного ответа изолированного сердца на действие ЭТ-1 явилось уменьшение МОС на 9% (5,8 мл/мин). В контроле этот показатель возрос на высоте стимуляции на 15,7%.

Стимуляция изолированного сердца НА показала сохраненный хронотропный ответ при ДПМ, тогда как инотропный ответ был существенно сглажен: повышение СД в ЛЖ на 3,8% vs 30,8% в контроле. В результате прирост МОС оказался ниже, чем в контроле: 15,9% vs 23,4% мл/мин.

Введение животным ма-TNF-α на фоне действия ДОКС улучшило инотропную реакцию изолированного сердца.

Во-первых, следует отметить факт появления положительного инотропного ответа на действие ЭТ-1, что сопровождалось повышением СД ЛЖ на 8,5% и вследствие этого увеличением МОС на 14,3%. Таким образом, разница этих двух показателей с таковыми из серии ДОКС стала на высоте действия ЭТ-1 более существенной.

Во-вторых, при симпатической стимуляции изолированного сердца прирост СД ЛЖ и МОС стал

более значительным — 9,7% vs 3,8% и 32,3% vs 15,9%, соответственно.

В контексте улучшения инотропной способности миокарда при использовании ма-TNF-α на фоне действия ДОКС заслуживает внимания характер изменения КФР сердца.

Величина КП и соответствующего КФР сердца при воздействии ацетилхолина отражена в таблице 3.

ДПМ сопровождалось существенным снижением КФР сердца при парасимпатической стимуляции. Величина КФР при воздействии ацетилхолина во всех концентрациях составляла от 35,2% (10⁻⁷ М) до 56,8% (10⁻⁵ М) от контрольной величины.

В серии с применением ма-TNF-α КФР сердца увеличился на 25,5-106% при действии парасимпатического агониста. Тем не менее, КФР оставался достоверно ниже контрольного показателя.

Схожие результаты получили при действии аденозина и брадикинина (таблица 4).

Действие ма-TNF-α привело к повышению КФР изолированного сердца практически до контрольных величин в случае его стимуляции аденозином и брадикинином в концентрации 10⁻⁷ М.

При действии этих факторов в концентрации 10⁻⁵ М, КФР увеличился в среднем на 50% по сравнению с серией ДОКС, но оставался достоверно ниже контроля на 28-30%.

Интересно заметить, что при действии перекиси водорода на изолированное сердце величина КФР в серии ДОКС не отличалась от контрольной (таблица 5). Во всех 3-х исследуемых сериях значение КФР колебалось в пределах 15,6-16,3% при действии перекиси водорода в концентрации 10⁻⁵ М.

Таблица 6

Динамика КДД ЛЖ (исходное значение — 14 mm Hg)
в периодах ишемии и реперфузии изолированного изоволюмического сердца

Серия	Ишемия (мин)				Реперфузия (мин)			
	5	10	20	30	5	10	30	45
Контроль (n=9)	16,3±0,8	27,2±1,7	36,2±1,9	41,7±2,3	36,3±2,5	27,9±2,3	20,7±1,8	14,9±1,1
ДОКС (n=9)	21,5±1,4*	38,8±2,1*	55,6±3,6*	63,7±4,4*	58,2±4,3*	46,5±3,3*	30,6±2,5*	22,8±1,4*
ДОКС+ма-TNF-α (n=9)	18,8±1,2	30,1±1,9 [#]	44,7±2,5**	51,5±3,5**	44,1±3,2**	40,2±2,8*	22,7±1,6**	16,3±1,2 [#]

Примечание: * — достоверно (p<0,05) по сравнению с контролем, [#] — достоверно (p<0,05) по сравнению с ДОКС.

Таблица 7

Динамика СД в ЛЖ в периоде реперфузии

Серии	Исходно (до ишемии)	Реперфузия (мин)			
		15	25	35	45
Контроль (n=9)	139±8,6	74±6,6	92±8,2	103±7,5	125±8,4
ДОКС (n=9)	96±5,9*	52±4,7*	61±5,5*	73±5,8*	81±6,3* p<0,05
ДОКС+ма-TNF-α (n=9)	111±7,4*	59±4,6*	72±6,1*	89±5,4* [#]	106±7,7* [#]

Примечание: * — достоверно (p<0,05) по сравнению с контролем, [#] — достоверно (p<0,05) по сравнению с ДОКС, p — достоверность по сравнению с исходным.

Наряду с улучшением при ма-TNF-α эндотелий-зависимой коронарной реактивности наблюдалось и повышение резистентности миокарда в условиях ишемии и реперфузии, оцениваемое по характеру динамики КДД ЛЖ и восстановления СД в ЛЖ.

На протяжении 30 мин ишемии КДД увеличилось в серии ДОКС с 14 до 63,7 mm Hg, т.е. в 4,55 раз (таблица 6). В контрольной серии прирост показателя был менее чем в 3 раза. В конце периода ишемии величина КДД достоверно превышала контрольную на 52,8%.

Восстановление диастолической функции в период реперфузии было существенным образом нарушено при ДПМ. В конце реперфузии (45 мин) КДД ЛЖ на 62,9% превышало исходное (до ишемии) значение показателя. В контрольной серии КДД ЛЖ снизилось практически до исходного уровня.

Действие ма-TNF-α оказало положительный эффект и на восстановление сократительной способности изолированного сердца в периоде реперфузии (таблица 7).

В серии ДОКС величина СД в ЛЖ оставалась на 45-й мин реперфузии достоверно меньше на 15,6% по сравнению с исходной — контрольный показатель восстановился до исходного уровня.

Действие ма-TNF-α привело к улучшению восстановления СД ЛЖ, т.к. на 45-й мин реперфузии оно достоверно не отличалось от исходного значения и было достоверно выше на 30,9% показателя из серии ДОКС, но в то же время оставалось на 15,2% ниже контроля (p<0,05).

Обсуждение

Полученные результаты показывают, что введение ДОКС в кумулятивной дозе 16 мг/кг в течение 2 нед. вызывает у крыс существенные нарушения функции изолированного сердца, проявляющиеся достоверным уменьшением параметров насосной функции ЛЖ и увеличением показателя диастолической упругости, снижением инотропной реакции и КФР, уменьшением толерантности миокарда к ишемии и реперфузии.

Введение животным ма-TNF-α на фоне действия ДОКС привело к значительному улучшению функционального статуса изолированного сердца, и это может свидетельствовать о роли воспаления в патогенезе ДПМ. В подтверждение этому следует отметить, что уменьшение экспрессии провоспалительных цитокинов статинами также оказало кардиопротекторный эффект при введении мышам ДОКС.

Положительный эффект раннего блокирования симпатoadренальной системы при ДОКС кардиомиопатии может быть в частности обусловлен ингибированием воспалительного ответа.

Аналог ма-TNF-α, инфликсимаб, равно как и растворимый рецептор TNF-α, этанерцепт, доказали свои положительные качества относительно сердечно-сосудистой системы у больных с аутоиммунными заболеваниями, характеризующимися повышенной активностью системного воспаления. Их применение достоверно уменьшает риск развития сердечной недостаточности и сосудистых осложнений (инфаркт миокарда и инсульт головного мозга).

Важно отметить наличие общих мишеней действия ДОКС и ма-TNF- α .

- ДОКС увеличивает синтез свободных радикалов кислорода и азота. Есть доказательства, что уровень супероксида аниона, одного из агрессивных свободных радикалов кислорода, увеличивается в крови уже спустя 30 мин после введения ДОКС. С другой стороны, есть сведения о способности TNF- α стимулировать синтез свободных радикалов кислорода в миокарде больных с сердечной недостаточностью [12].

- ДОКС снижает экспрессию тетрагидробиоптерина, кофактора синтеза окиси азота, а уменьшение содержания TNF- α активирует образование окиси азота и повышает расслабляющую способность сосудов, в т.ч. коронарных.

- ДОКС индуцирует апоптоз кардиомиоцитов и эндотелиальных клеток коронарных сосудов, в частности из-за последствий экспрессии ядерного фактора карраВ, стимулирующего синтез TNF- α , что может быть причиной снижения сократительной способности сердца [13]. Действие ма-TNF- α ограничивает воспалительную реакцию и улучшило в представленном исследовании инотропную функцию миокарда.

- ДОКС стимулирует синтез ЭТ-1 [14]. В настоящем исследовании этот олигопептид вызвал отрицательный инотропный ответ изолирован-

ного сердца, а применение ма-TNF- α привело к появлению положительной инотропной реакции и к повышению МОС. Аналогичные положительные результаты были получены и при ингибировании фермента синтеза ЭТ-1 или блокирования его рецепторов типа А и В бозентаном при ДОКС кардиомапии [15].

Таким образом, антагонист TNF- α обладает кардиопротекторным эффектом при действии ДОКС, и может быть препаратом перспективного выбора при первичной и вторичной профилактике повреждения миокарда ДОКС.

Заключение

Кардиотоксичность ДОКС проявилась в представленном экспериментальном исследовании снижением показателей насосной функции изолированного сердца, отрицательным инотропным ответом на действие ЭТ-1, нарушением эндотелий-зависимой коронародилатации и сниженной толерантностью миокарда к ишемии и реперфузии.

Применение ма-TNF- α на фоне действия ДОКС оказало значительный кардиопротекторный эффект, что сопровождалось достоверным повышением МОС на >26%, увеличением КФР, положительным инотропным ответом на действие ЭТ-1 и улучшением восстановления КДД и СД в ЛЖ в периоде реперфузии.

Литература

- Mitry MA, Edwards JG. Doxorubicin induced heart failure: phenotype and molecular mechanisms. *Int J Cardiol Heart Vasc* 2016; 10: 17-24. DOI: 10.1016/j.ijcha.2015.11.004.
- Pang B, Qiao X, Janssen L, et al. Drug-induced histone eviction from open chromatin contributes to the chemotherapeutic effects of doxorubicin. *Nature Communications* 2013; 4: 1908-10. DOI: 10.1038/ncomms2921.
- Cardinale D, Colombo A, Bacchiani G, et al. Early detection of anthracycline cardiotoxicity and improvement with heart failure therapy. *Circulation* 2015; 131: 1981-8. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.114.013777.
- Salvatorelli E, Menna P, Minotti G. Managing anthracycline-induced cardiotoxicity: beginning with the end in mind. *Future Cardiol* 2015; 11: 363-6. DOI: 10.2217/FCA.15.35.
- Kumar S, Marfatia R, Tannenbaum S, et al. Doxorubicin-induced cardiomyopathy 17 years after chemotherapy. *Tex Heart Inst J* 2012; 39 (3): 424-7.
- Chatterjee K, Zhang J, Honbo N, Karliner JS. Doxorubicin cardiomyopathy. *Cardiology* 2010; 115 (2): 155-62. DOI: 10.1159/000265166.
- Aluise CD, Miriyala S, Noel T, et al. 2-Mercaptoethane sulfonate prevents doxorubicin-induced plasma protein oxidation and TNF- α release: implications for the reactive oxygen species-mediated mechanisms of chemobrain. *Free Radical Biology and Medicine* 2011; 50 (1): 1630-8. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2011.03.009.
- Argun M, Uzum K, Sonmez M, et al. Cardioprotective effect of metformin against doxorubicin cardiotoxicity in rats. *Anatol J Cardiol* 2016; 16: 234-41. DOI: 10.14744/AnatolJCardiol.2016.18505.
- Pecoraro M, Del pizzo M, Marzocco S, et al. Inflammatory mediators in a short-time mouse model of doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* 2016; 293: 44-52. DOI: 10.1016/j.taap.2016.01.006.
- Konishi M, Haraguchi G, Ohigashi H, et al. Adiponectin protects against doxorubicin-induced cardiomyopathy by anti-apoptotic effects through AMPK up-regulation. *Cardiovascular Research* 2011; 89: 309-19. DOI: 10.1093/cvr/cvq335.
- Westermann D, Van Linhtout S, Dhayat S, et al. Tumor necrosis factor-alpha antagonism protects from myocardial inflammation and fibrosis in experimental diabetic cardiomyopathy. *Basic Res Cardiol* 2007; 102 (6): 500-7. DOI: 10.1007/s00395-007-0673-0.
- Hartupee J, Mann DL. Positioning of inflammatory biomarkers in the heart failure landscape. *J Cardiovasc Transl Res* 2013; 6: 485-92. DOI: 10.1007/s12265-013-9467-y.
- Mistiaen WP. Effect of doxorubicin on cardiac myocytes: update of the role of apoptosis, autophagy and other proteolytic pathways. *Gavin J Oncol Res Ther* 2016; 14-23.
- El-Boghdady NA. Increased cardiac endothelin-1 in adriamycin-induced acute cardiotoxicity. *Ind J Biochem Biophys* 2013; 50: 202-9.
- Bien-Moller. The endothelin receptor blocker bosentan inhibits doxorubicin-induced cardiomyopathy. *Cancer Research* 2013; 67 (21): 10428-35. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-1344.