

АНОТАЦІЯ

Годован Н. Л. Клініко-функціональні особливості кардіотоксичності доксорубіцину за системного та внутрішньоміхурового введення на тлі поверхневого раку сечового міхура (експериментально-клінічне дослідження) – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 – «Медицина». – Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова МОЗ України, Вінниця, 2023.

Дослідження присвячене оптимізації комплексного лікування поверхневого раку сечового міхура шляхом експериментального обґрунтування кардіобезпечності доксорубіцину за його серійного внутрішньоміхурового застосування на основі вивчення морфофункціонального стану серця, біохімічних та електрофізіологічних параметрів функціонування міокарду.

Всі досліді проведені за умови дотриманням біоетичних вимог Гельсінської декларації. У ході дослідження використані клінічні (ретроспективний аналіз карт обстеження пацієнтів, ЕКГ, УЗД, біохімічні дослідження крові), експериментальні методи дослідження (розробка та стандартизація моделі серійного внутрішньоміхурового введення доксорубіцину щурам), Виконано комплексну оцінку розвитку в міокарді запального процесу (за вмістом TNF- α), ремоделювання сполучної тканини (за рівнем вільного гідроксипроліну), ендотеліальної дисфункції (за змінами активності eNOS), процесів апоптозу (за рівнем каспази-3), оксидативного та нітрозативного стресу (за вмістом малонового діальдегіду, карбонільних груп протеїнів та активності iNOS), визначено показники цитолізу кардіоміоцитів (за активністю ферментів КФК, ЛДГ, АСТ, АЛТ), проведено реєстрацію та аналіз ЕКГ, морфологічні дослідження міокарда у щурів, результати піддані статистичним методам обробки.

У клінічній частині роботи наведений ретроспективний аналіз карт пацієнтів, які лікувались з приводу раку сечового міхура на базі Подільського регіонального центру онкології з 2016 по 2021 рр. Всі пацієнти перенесли трансуретральну резекцію сечового міхура, частина з них після операції отримували комбіновану хіміотерапію, яка включала введення доксорубіцину різними шляхами системно (внутрішньовенно) та локально (внутрішньоміхурово). Пацієнтів, які відповідали критеріям включення в клінічне дослідження, розподілили за типом отриманого лікування: *контрольна група* (35 осіб) – пацієнти, які мали діагноз раку сечового міхура, перебували в умовах стаціонару та лікувались виключно хірургічно (трансуретральна резекція); *дослідна група 1* (26 осіб), які отримували комбіноване лікування (трансуретральна резекція сечового міхура та хіміотерапевтичне лікування препаратом доксорубіцин шляхом системного (внутрішньовенного) застосування); *дослідна група 2* (33 особи), які отримували комбіноване лікування (трансуретральна резекція сечового міхура та хіміотерапевтичне лікування препаратом доксорубіцин шляхом локального (внутрішньоміхурового) введення).

Ретроспективний аналіз амбулаторних карт пацієнтів з поверхневим раком сечового міхура, які отримували післяопераційну хіміотерапію доксорубіцином показав, що рецидив захворювання реєструвався в 34,8% випадків проти понад 50% у пацієнтів без поліхіміотерапії. Скарги з боку серцево-судинної системи у хворих в групі з системним введенням доксорубіцину виникали на 12,5 % частіше, ніж за внутрішньоміхурового введення. Порушення серцево-судинної системи у чоловіків переважали такі у жінок (у співвідношенні 7:1).

Оцінка ЕКГ параметрів у пацієнтів з системним застосуванням доксорубіцину виявила вірогідне збільшення частоти серцевих скорочень на 13,8 % та тривалості комплексу QRS на 17,6 %, порівняно з групою контролю

($p < 0,05$). У пацієнтів, які отримували доксорубіцин внутрішньоміхурово, протягом всього періоду лікування патологічних змін на ЕКГ не зареєстровано. При дослідженні УЗД параметрів серця у пацієнтів з системним застосуванням доксорубіцину зафіксовано зростання кінцевого діастолічного об'єму на 32,5 % відносно до вихідних значень в даній групі та на 42,2 % відносно аналогічного показника групи контролю ($p < 0,05$); середній показник фракції викиду статистично ($p < 0,001$) зменшився на 17,6% порівняно з контролем та з таким показником на початку лікування. У пацієнтів, які отримували доксорубіцин внутрішньоміхурово фракція викиду, кінцево-діастолічний та кінцево-систолічний об'єми були в межах норми та, фактично, не відрізнялись від контрольної групи пацієнтів, які не отримували доксорубіцин.

Аналіз біохімічних маркерів деструкції міокарда показав, що у хворих, які отримували лише оперативне лікування, активність АСТ, АЛТ та КФК у сироватці крові вірогідно не відрізнялась від таких показників до лікування. Застосування системної хіміотерапії супроводжувалось розвитком цитолізу кардіоміоцитів, про що доказово свідчить вірогідне зростання активностей АСТ, АЛТ, КФК у сироватці крові в 3,3, 4,7 та 2,5 рази відповідно ($p < 0,05$), порівняно з показниками до призначення хіміотерапії. Водночас, хіміотерапія, яка включала в себе внутрішньоміхурове введення доксорубіцину, не супроводжувалась деструкцією мембран кардіоміоцитів, адже сироваткова активність досліджуваних маркерних ферментів цитолізу клітин серця статистично достовірно не відрізнялась до та після лікування.

Таким чином, ретроспективний аналіз дозволив дійти висновку, що одноразове локальне застосування доксорубіцину в комплексній хіміотерапії раку сечового міхура за ефективністю (частотою рецидивів протягом одного року) співставлялось, а за кардіотоксичністю – поступалось його багаторазовому системному введенні.

В експериментальній частині роботи досліджено вплив серійного

внутрішньоміхурового та системного застосування доксорубіцину на морфологічний стан міокарда, біохімічні та електрофізіологічні параметри роботи серця.

У роботі вперше розроблена методика серійного локального застосування доксорубіцину в умовах експерименту, удосконалено методику більш оптимальної та ефективної постановки постійного катетера у щурів для щотижневого введення хіміопрепаратів. Вперше розроблений метод пункції сечового міхура у щурів за допомогою контрастування порожнини сечового міхура для забору сечі та введення необхідних препаратів. Пріоритетність цих досліджень підтверджено патентами України (№№ 138090, 138091, 138092, 138093, 138094, 139761).

Експериментальне локальне застосування доксорубіцину не супроводжується вірогідними змінами на ЕКГ у піддослідних тварин, порівняно з щурами контрольної групи, тоді як використання системного введення доксорубіцину спричиняє порушення електричної активності серця, що виявляється у вірогідному зростанні ЧСС на 39,5 % ($p < 0,05$), розширенні комплексу QRST на 36,1 % ($p < 0,05$) та зменшенні амплітуди зубця R на 62,2 % ($p < 0,05$), відносно показників контрольної групи.

Локальне введення доксорубіцину не спричиняє виразного кардіоцитолізу (сироваткові активності ЛДГ, КФК та АСТ вірогідно не відрізняються від контролю) та супроводжується в міокарді достовірно меншою активністю запального процесу (вміст TNF- α - $165 \pm 6,43$ пг/мг протеїну проти $210 \pm 7,45$ пг/мг протеїну за системного введення, $p < 0,05$), фіброгенезу (рівень вільного гідроксипроліну - $3,69 \pm 0,14$ мкг/г тканини проти $5,12 \pm 0,19$ мкг/г тканини за системного введення, $p < 0,05$), ендотеліальної дисфункції (активність eNOS - $4,25 \pm 0,29$ пмоль / хв · мг протеїну проти $3,25 \pm 0,23$ пмоль / хв · мг протеїну за системного введення, $p < 0,05$), апоптозу (рівень каспази-3 - $0,864 \pm 0,043$ нг/мг протеїну проти $1,52 \pm 0,10$ нг/мг протеїну за системного введення, $p < 0,05$) та

оксидативного стресу (вміст малонового діальдегіду $20,4 \pm 0,53$ нмоль/мг протеїну проти $42,4 \pm 1,41$ нмоль/мг протеїну за системного введення, $p < 0,05$).

При застосуванні внутрішньоміхурового способу введення доксорубіцину у тварин гістоморфологічно відмічались патологічні зміни міокарду (розлади кровообігу з явищами стромального так і внутрішньоклітинного набряку, патологічно змінені кардіоміоцити, розсіяні лімфогістіоцитарні елементи та вогнищевий фіброз в стромі), проте ступінь їх виразності та поширеності була значно меншою, аніж за системного введення. Натомість системне введення препарату супроводжувалось прогресуючими морфологічними змінами у міокарді, що свідчить про розвиток дилатаційної кардіоміопатії. Ширина порожнини правого та лівого шлуночків серця у тварин з системним введенням доксорубіцину перевищувала такі показники контрольної групи в 5,7 та 4,59 рази ($p < 0,05$), тоді як за серійного локального внутрішньоміхурового введення – лише в 2,71 та 3,12 рази, відповідно ($p < 0,05$).

Проведені клініко-експериментальні дослідження обґрунтовують доцільність та безпечність серійного внутрішньоміхурового застосування доксорубіцину в комплексному лікуванні раку сечового міхура.

Ключові слова: Кардіотоксичність, доксорубіцин, маркери деструкції міокард, поверхневий рак сечового міхура, внутрішньоміхурове введення

Список публікацій здобувача.

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Kostiuk O. H., Hodovan N. L., Taran I. V., Mashevskaya O. V., Grebeniuk D. I. Development of a method of serial intravesical administration of drugs in the experiment/ Kostiuk O. H., Hodovan N. L., Taran I. V., Mashevskaya O. V., Grebeniuk D. I. //Biomedical and biosocial anthropology. – 2020. – №38. - С.17-23.
(Особистий внесок - здобувачу належить участь у проведенні експерименту,

описання отриманих результатів, приймала участь в аналізі результатів та формуванні висновків)

2. Kostiuk O.H., Hodovan N.L., Gormash P.P., Taran I.V., Grebeniuk D.I., Mashevska O.V. Dynamics of morphological changes in the heart of rats after serial systemic administration of Doxorubicin / O.H. Kostiuk, N.L.Hodovan, P.P. Gormash, I.V. Taran, D.I. Grebeniuk, O.V. Mashevska // Reports of Morphology. - 2020. - № 26 (4). - С. 22-29. *(Особистий внесок - здобувачу належить участь у проведенні експерименту, статистична обробка отриманих даних, приймала участь в аналізі результатів, написанні статті та формуванні висновків)*

3. Kostiuk O.H., Hodovan N.L., Gormash P.P., Taran I.V., Grebeniuk D.I., Mashevska O.V. Dynamics of morphological changes in the heart of rats after serial intravesical administration of Doxorubicin/ O.H. Kostiuk, N.L.Hodovan, P.P. Gormash, I.V. Taran, D.I. Grebeniuk, O.V. Mashevska // Reports of Morphology. - 2021. - № 27 (1). - С. 5-12. *(Особистий внесок - здобувачу належить участь у проведенні експерименту, статистична обробка отриманих даних, приймала участь в аналізі результатів та формуванні висновків)*

4. Hodovan N.L. Evaluation of changes in instrumental and biochemical markers of heart diseases in patients with bladder cancer under the condition of intravenous and intravesical doxorubicin administration/ N.L.Hodovan // Biomedical and Biosocial Anthropology. - 2021. – №43. - С.40-44. *(Особистий внесок - здобувачу належить аналіз літературних джерел, проведення клінічних досліджень, статистична обробка отриманих даних, приймала участь в аналізі результатів, написанні статті)*

5. Годован Н. Л., Костюк О. Г., Волощук Н. І., Таран І. В., Гребенюк Д. І., Машевська О. В., Камлук В. П. Патент № 138089 Україна МПК А61В17/00, G01N33/48. Спосіб герметизації сечового міхура після інтраопераційної пункції / Н. Л. Годован, О.Г. Костюк, Н.І. Волощук, І.В. Таран, Д.І. Гребенюк, О.В. Машевська, В.П. Камлук // заявник та патентовласник Вінницький

національний медичний університет ім. М.І. Пирогова. – № u201903100; заявл. 29.03.2019; опубл. 25.11.2019. – Бюл. № 22. *(Особистий внесок - здобувачу належить участь у проведенні експерименту, аналіз літературних джерел, описання отриманих результатів, приймала участь у написанні та оформленні патенту)*

6. Годован Н. Л., Костюк О. Г., Волощук Н. І., Таран І. В., Гребенюк Д. І., Машевська О. В. Патент № 138090 Україна МПК А61К31/41, А61Р35/00 Спосіб зменшення кардіотоксичної дії доксорубіцину при онкопроцесі в сечовому міхурі / Н. Л. Годован, О.Г. Костюк, Н.І. Волощук, І.В. Таран, Д.І. Гребенюк, О.В. Машевська // заявник та патентовласник Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова. – № u201903101; заявл. 29.03.2019; опубл. 25.11.2019. – Бюл. № 22. *(Особистий внесок - здобувачу належить участь у проведенні експерименту, аналіз літературних джерел, проведення клінічних досліджень, описання отриманих результатів, приймала участь у написанні та оформленні патенту)*

7. Годован Н. Л., Костюк О. Г., Волощук Н. І., Таран І. В., Гребенюк Д. І., Машевська О. В. Патент № 138091 Україна МПК G09B23/28 Спосіб моделювання кардіотоксичної дії доксорубіцину у щурів / Н. Л. Годован, О.Г. Костюк, Н.І. Волощук, І.В. Таран, Д.І. Гребенюк, О.В. Машевська // заявник та патентовласник Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова. – № u201903102; заявл. 29.03.2019; опубл. 25.11.2019. – Бюл. № 22. *(Особистий внесок - здобувачу належить участь у проведенні експерименту, аналіз літературних джерел, проведення клінічних досліджень, описання отриманих результатів, приймала участь у написанні та оформленні патенту)*

8. Годован Н. Л., Костюк О. Г., Волощук Н. І., Таран І. В., Гребенюк Д. І., Машевська О. В., Балацький О. Р. Патент № 138092 Україна МПК G09B23/28, G09B23/36 Спосіб серійного внутрішньоміхурового введення лікарських засобів у самок щурів / Н. Л. Годован, О.Г. Костюк, Н.І. Волощук, І.В. Таран, Д.І.

Гребенюк, О.В. Машевська, О.Р. Балацький // заявник та патентовласник Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова. – № u201903104; заявл. 29.03.2019; опубл. 25.11.2019. – Бюл. № 22. *(Особистий внесок - здобувачу належить участь у проведенні експерименту, аналіз літературних джерел, описання отриманих результатів, приймала участь у написанні та оформленні патенту)*

9. Годован Н. Л., Костюк О. Г., Волощук Н. І., Таран І. В., Гребенюк Д. І., Машевська О. В. Патент № 138093 Україна МПК G09B23/28, G09B23/36 Спосіб субкутанної фіксації сечового міхура для наступної пункції в експерименті / Н. Л. Годован, О.Г. Костюк, Н.І. Волощук, І.В. Таран, Д.І. Гребенюк, О.В. Машевська // заявник та патентовласник Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова. – № u201903105; заявл. 29.03.2019; опубл. 25.11.2019. – Бюл. № 22. *(Особистий внесок - здобувачу належить участь у проведенні експерименту, аналіз літературних джерел, описання отриманих результатів, приймала участь у написанні та оформленні патенту)*

10. Годован Н. Л., Костюк О. Г., Волощук Н. І., Таран І. В., Гребенюк Д. І., Машевська О. В., Бондар Р. А. Патент № 138094 Україна МПК А61В17/00 Спосіб транскутанної пункції сечового міхура у щурів / Н. Л. Годован, О.Г. Костюк, Н.І. Волощук, І.В. Таран, Д.І. Гребенюк, О.В. Машевська, Р.А. Бондар //заявник та патентовласник Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова. – № u201903106; заявл. 29.03.2019; опубл. 25.11.2019. – Бюл. № 22. *(Особистий внесок - здобувачу належить участь у проведенні експерименту, аналіз літературних джерел, описання отриманих результатів, приймала участь у написанні та оформленні патенту)*

11. Годован Н. Л., Костюк О. Г., Волощук Н. І., Таран І. В., Гребенюк Д. І., Машевська О. В. Патент № 139761 Україна МПК А61В17/00, А61М25/00 Катетер для серійного внутрішньоміхурового введення лікарських засобів у самок щурів / Н. Л. Годован, О.Г. Костюк, Н.І. Волощук, І.В. Таран, Д.І.

Гребенюк, О.В. Машевська // заявники та патентовласники Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова. – № u201903098; заявл. 29.03.2019; опубл. 27.01.2020. – Бюл. № 2. *(Особистий внесок - здобувачу належить участь у проведенні експерименту, аналіз літературних джерел, описання отриманих результатів, приймала участь у написанні та оформленні патенту)*

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

12. Годован Н.Л., Костюк О.Г., Таран І.В. Дослідження ЕКГ ознак кардіотоксичності у щурів за умов системного та локального введення доксорубіцину / Н.Л. Годован, О.Г. Костюк, І.В. Таран // Матеріали XVI Міжнародної наукової конференції студентів та молодих вчених «Перший крок в науку – 2019» (8-19 квітня 2019 року, м. Вінниця). - Вінниця: ВНМУ ім. М.І. Пирогова, 2019. - С. 431-432. *(Особистий внесок - здобувачу належить аналіз літературних джерел, приймала участь у проведенні експерименту, проведення клінічних досліджень, описання отриманих результатів, приймала участь у аналізі результатів та формуванні висновків)*

13. Таран І.В., Годован Н.Л. Дослідження кардіотоксичності у щурів за умов системного та локального введення доксорубіцину / І.В. Таран, Н.Л. Годован // Матеріали п'ятої науково-практичної конференції «Безпека та нормативно-правовий супровід лікарських засобів: від розробки до медичного застосування» (22–23 жовтня 2019 року, м. Київ). - Київ, 2019. - С. 19-20. *(Особистий внесок - здобувачу належить аналіз літературних джерел, приймала участь у проведенні експерименту, проведення клінічних досліджень, описання отриманих результатів, приймала участь у аналізі результатів та формуванні висновків)*

14. Таран І.В., Годован Н.Л., Лозинська М.С. Дослідження морфологічних ознак антрациклінового ураження міокарда щурів за його системного та

локального застосування / І.В. Таран, Н.Л. Годован, М.С. Лозинська // Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 100-річчю з дня народження проф. О.О. Столярчука «Актуальні питання фармакології та медичної біохімії» (м. Вінниця, 15-16 жовтня 2020 року) - Вінниця: ВНМУ ім. М.І. Пирогова, 2020. - С. 17-19. *(Особистий внесок - здобувачу належить аналіз літературних джерел, приймала участь у проведенні експерименту, проведення клінічних досліджень, описання отриманих результатів, приймала участь у аналізі результатів та формуванні висновків)*

15. Годован Н.Л. Оцінка функціонального стану серця пацієнтів на рак сечового міхура за умови системного застосування доксорубіцину // Матеріали XVIII Міжнародної наукової конференції студентів та молодих вчених «Перший крок в науку – 2021» (15-17 квітня 2021 року, м. Вінниця). - Вінниця: ВНМУ ім. М.І. Пирогова, 2021. - С. 515. *(Особистий внесок - здобувачу належить аналіз літературних джерел, проведення клінічних досліджень, описання отриманих результатів, приймала участь у аналізі результатів та формуванні висновків)*