

# Генетические предпосылки развития постхимиолучевых легочных повреждений и пути их профилактики у больных раком молочной железы

**ХУРАНИ И.Ф.**

Статья посвящена изучению генетических предпосылок развития постхимиолучевых повреждений легких у больных раком молочной железы. Доказаны генетическая детерминированность содержания медиаторов воспаления, фиброгенеза и оксидантного стресса и их роль в развитии пневмофиброза. Доказано влияние генов MTHFR и MMP-12 на развитие постхимиолучевого пневмофиброза. При мутации T/T в позиции 667 гена MTHFR фиброз легких после химио-лучевой терапии развивается в 100% случаев, у больных с диким типом C/C – лишь в 9%. Назначение кверцетина и тиотриазолина уменьшает частоту развития постхимио-лучевых бронхитов и пульмонитов на 27%, склероза и фиброза легких на 30%.

**Ключевые слова:** рак молочной железы, постхимиолучевые повреждения легких, полиморфизм генов MTHFR и MMP-12, профилактика.

---

Контактная информация

**Ияд Фахид Хурани** — д.м.н., Винницкий национальный медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Украина,  
e-mail: drhourani@yahoo.com

---

**Цитирование:** Hourani I.F. GENETIC BACKGROUND OF POSTCHEMORADION PULMONARY INJURIES DEVELOPMENT AND WAYS OF ITS PROPHYLAXIS IN BREAST CANCER P. MALIGNANT TUMOURS 2015;1:3-8

GENETIC BACKGROUND OF POSTCHEMORADION PULMONARY INJURIES DEVELOPMENT AND WAYS OF ITS PROPHYLAXIS IN BREAST CANCER P

I. F. Hourani National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, Ukraine

The article is devoted to the study of genetic background of postchemoradiation lung injuries in breast cancer patients. Genetic determinism of inflammatory mediators content, fibrogenesis and oxidative stress and their role in the pneumofibrosis development were proved. The influence of genes MTHFR and MMP-12 in the development post chemo-radiation pneumofibrosis was proved. During the mutation T/T mutation at position 667 of the MTHFR gene pulmonary fibrosis post chemoradiotherapy pneumofibrosis develops in 100% of cases, in patients with C/C genotype – only in 9%. Prescription of quercetin and thiotriazoline reduces the incidence of post chemo-radiation bronchitis and pneumonitis in 27%, lung sclerosis and fibrosis in 30%.

**Key words:** breast cancer, postchemoradiation lung injuries, MTHFR and MMP-12 gene polymorphism, prophylaxis.

## Введение

Комбинированная терапия рака молочной железы (РМЖ) сопровождается целым рядом ос-

ложнений и побочных эффектов. Повреждение легких при применении химиолучевой терапии возникает в 50–100% пациентов [8]. Частыми среди повреждений легких является пневмонит,

склероз и фиброз легких [2]. Механизм противоопухолевого действия цитостатиков и лучевой терапии разный, но при их сочетании резко возрастают токсические побочные эффекты [10]. Это связано с образованием свободных радикалов и угнетением активности антиоксидантной системы, накоплением продуктов перекисного окисления липидов, активацией провоспалительных и профибротических факторов [3]. Интенсификация терапии РМЖ требует поиска эффективных протекторов для профилактики постхимиолучевых повреждений.

Несмотря на стандартизацию методов лечения, легочные осложнения встречаются далеко не у каждой пациентки. Степень их выраженности также достаточно вариабельная, что позволяет предположить генетическую детерминированность таких процессов. В литературе освещены вопросы участия системы матриксных металлопротеиназ (ММП) в развитии ряда заболеваний легких. Однако роль ММП в патогенезе постхимиолучевой легочной патологии остается не изученной [9]. Одним из факторов, с которым связан целый ряд заболеваний и осложнений фармако-терапии, является генетически обусловленный высокий уровень гомоцистеина. Гипергомоцистеинемия (ГГ) играет важную роль в механизме печеночного и кардиального фиброгенеза [11]. Среди ряда генетически детерминированных факторов развития ГГ наиболее распространенным является полиморфизм С677Т в гене метилентетрагидрофолатредуктазы (МТНFR) — энзима цикла реметилирования гомоцистеина [6]. Возможно, ассоциированные с мутацией МТНFR биохимические нарушения смогут служить предикторами формирования пневмофиброза у больных, получающих химио- и радиотерапию.

Коррекцию ГГ можно провести поступлением фолиевой кислоты и антиоксидантов [7]. По нашему мнению, тиотриазолин и кверцетин имеют все основания для использования в качестве протекторов постхимиолучевых осложнений [1, 4, 5].

### **Цель исследования**

Установить роль генетических факторов в развитии постхимиолучевых легочных повреждений у больных РМЖ и разработать пути их профилактики в группах повышенного риска.

### **Материалы и методы**

В исследование было включено 288 больных, которые прошли комбинированное лечение по поводу РМЖ.

Пациентки были разделены на две группы: контрольную группу составили 142 больные, прошедшие химиотерапию по схеме ЦМФ и облучение (45 Гр). Клиническую группу составили 146 больных, которые, кроме стандартного лечения, получили кверцетин по 10 мг/кг перорально и тиотриазолин по 2,0 мл 1% раствора в/м три раза в сутки на протяжении всего лечения.

По результатам молекулярно-генетического анализа больные были разделены на подгруппы: дикий тип С/С гена МТНFR; гетерозиготный тип (мутация С/Т) и гомозиготный тип (мутация Т/Т). По полиморфизму гена ММП-12 — на дикий тип А/А и с мутацией по гетерозиготному типу А/Г. А также подгруппа с сочетанием дикого типа (аллели А/А) гена ММП-12 с мутацией гена МТНFR-667Т и подгруппа с мутацией в обоих генах ММП-12 АГ + МТНFR-667Т.

Экспериментальную часть проводили на 240 крысах генетических линий Fisher 344, Wistar, спонтанно-гипертензивных (СГК). В эксперименте было модулировано химиолучевое повреждение легких путем введения циклофосфида в терапевтических дозах и облучение крыс в дозе, эквивалентной 45 Грей.

### **Результаты исследования и их обсуждение**

Проанализировав осложнения, которые чаще всего встречаются после лечения РМЖ, мы обнаружили, что более чем у половины больных развиваются разного рода легочные повреждения, которые носят длительный характер и часто заканчиваются формированием пневмофиброза. Клинически они сопровождались одышкой, кашлем, болью в грудной клетке, лихорадкой и общей слабостью. Через 3 месяца от начала лечения клиника была обусловлена развитием острого пульмонита и бронхита, через 6 месяцев явления воспаления уменьшались, а через 1 год у части больных проявлялись с новой силой, что совпадало с вы-

явлением у них при спиральной компьютерной томографии (СКТ) очагов пневмофиброза.

В диагностике легочных осложнений важную роль играет исследование функции внешнего дыхания. Так форсированная жизненная емкость легких у больных РМЖ через 3 месяца после химиолучевой терапии ( $p < 0,05$ ) составила  $21,6 \pm 9,9\%$ , через 6 месяцев почти восстанавливалась и составила  $91,7 \pm 9,3\%$ , а через 12 месяцев составляла  $80,7 \pm 11,6\%$  от нормы. Максимальная вентиляция легких через 3 месяца составляла  $81,9 \pm 11,4\%$  от нормы, через 6 месяцев —  $92,3 \pm 9,2\%$ , а через 12 месяцев была ниже нормы на  $28,8 \pm 15,2\%$  ( $p < 0,05$ ). Пиковая объемная скорость выдоха через 3 месяца была ниже нормы на  $23,8 \pm 12,6\%$ , через 6 месяцев достоверно не отличалась от нормы, а через год была на  $26,8 \pm 13,4\%$  ниже нормы ( $p < 0,05$ ).

Лучшим методом ранней диагностики постхимиолучевых бронхитов, пульмонита и пневмофиброза является СКТ. Постлучевой бронхит определялся нами в  $30,9 \pm 2,7\%$  больных, пневмонит — у  $31,9 \pm 2,7\%$  больных. Среди пациенток, перенесших острый пульмонит, склероз и фиброз легких, через 12 месяцев определялся у  $30,3 \pm 4,8\%$  больных. Интересным фактом было то, что пневмофиброз или пневмосклероз через 12 месяцев был обнаружен у  $13,4 \pm 2,9\%$  от общего числа больных, не имевших ранних осложнений, а у  $43,7 \pm 4,2\%$  от общего числа пациентов, имевших ранее осложнения, через 12 месяцев ни явлений склероза, ни фиброза в легких не выявлено. У  $23,2 \pm 3,5\%$  больных не было ни ранних, ни поздних осложнений, несмотря на идентичность методов химиолучевой терапии. Это можно объяснить разной резистентностью легочной ткани к химиолучевой терапии, которая является очевидно генетически детерминированной.

В эксперименте, исследовав морфологию легочной ткани крыс разных генетических линий, мы обнаружили, что облучение вызывает склероз стромы, циклофосфамид (ЦФ) приводит к депрессии лимфоидной ткани легких, а сочетание облучения с введением ЦФ усиливает степень развития пневмофиброза. Все изменения были наиболее выраженными в группе СГК и наименее — у крыс группы Wistar, что доказывает роль генетических факторов в развитии постхимиолучевых легочных осложне-

ний. Испытав кверцитин и тиотриазолин на модели постхимиолучевого повреждения легких у крыс, мы получили выраженный протекторный эффект и обнаружили различную его активность у крыс разных генетических линий.

Исследовав влияние химиолучевого лечения на легкие больных с различным генотипом MTHFR, мы обнаружили существенные ( $p < 0,05$ ) различия. На СКТ у всех пациенток с Т/Т мутацией и в  $31 \pm 9,0\%$  — с С/Т мутацией гена MTHFR обнаружен пневмофиброз. У больных группы С/С пневмофиброз развился только у  $10 \pm 5,0\%$  пациенток. Фиброзно-склеротические изменения в легких приводили к значительному ухудшению показателей внешнего дыхания, что особенно было заметно у больных с мутациями Т/Т и С/Т. Так, форсированная жизненная емкость легких была в группе больных с Т/Т мутацией достоверна на  $33,0 \pm 1,3\%$ , а в группе с С/Т мутацией на  $27,2 \pm 8,0\%$  ниже нормы, максимальная вентиляция легких, соответственно, — на  $50,6 \pm 1,8\%$  и  $50,3 \pm 7,9\%$ , пиковая объемная скорость выдоха — на  $48,1 \pm 0,8\%$  и  $42,8 \pm 1,5\%$ . Тогда как у больных С/С она почти не отличалась от нормы.

Исследовав влияние полиморфизма С677Т в гене MTHFR и мутации А/Г гена MMP-12 на биохимические механизмы развития постхимиолучевых повреждений легких, мы обнаружили, что у больных с гетерозиготной С/Т и особенно гомозиготной Т/Т аллели гена MTHFR достоверно увеличивается уровень гомоцистеина, интелейкина (ИЛ)-6, С-реактивного протеина (СРП), трансформирующего фактора роста (ТФР)- $\beta 1$ , свободного оксипролина и маркеров оксидативного стресса. Полиморфизм гена С677Т MTHFR детерминирует различия не только на базальном уровне гомоцистеина, но и в содержании весомых регуляторов фибротических и воспалительных процессов. Более высокие уровни профибротических и провоспалительных медиаторов могут детерминировать повышенную склонность к развитию пневмофиброза, особенно после проведения химиолучевой терапии.

Полиморфизм в гене MMP-12 не ассоциируется с ГГ и системными изменениями содержания ТФР- $\beta 1$ , ИЛ-6, СРП, но в сочетании с мутацией С677Т MTHFR усиливает негативное влияние последней.

Полиморфизм гена С677Т МТНFR у больных РМЖ встречается в 5 раз чаще, чем в общей популяции, что приводит к увеличению лиц с генетически детерминированной предрасположенностью к ГГ, особенно при гомозиготном Т/Т генотипе. ГГ тесно коррелирует с маркерами воспаления, оксидативного стресса и фиброгенеза (ТФР-β1  $r = 0,66$ ; ИЛ-6  $r = 0,64$ ; оксипролина  $r = 0,54$ ; МДА  $r = 0,70$ ), что может быть прогностически неблагоприятным фактором в лечении больных РМЖ.

Показав, что у больных РМЖ с гетеро- и гомозиготным типом 677Т мутации МТНFR пневмофиброз после химиолучевой терапии развивался значительно чаще, чем у больных с диким типом, мы решили исследовать роль мутации С677Т гена МТНFR в активации индуцированных химиолучевой терапией провоспалительных, прооксидантных и профибротических агентов у больных РМЖ. Оказалось, что под влиянием химиолучевой терапии рос уровень гомоцистеина особенно у гомозигот Т/Т, что усиливало процессы перекисного окисления липидов и белков. Так, максимальный прирост уровня МДА отмечался у гомозигот Т/Т ( $31,1 \pm 2,4\%$ ), в то время как у гомозигот С/С и даже у гетерозигот С/Т динамика этого показателя была практически вдвое меньше и составляла  $14,7 \pm 1,5\%$  и  $18,8 \pm 3,0\%$  соответственно.

Накопление карбонильных групп белков в сыворотке крови пациентов с генотипом Т/Т было наибольшим ( $40,0 \pm 4,6\%$ ), а наименьшим — у пациентов с генотипом С/С ( $21,1 \pm 2,0\%$ ), в группе гетерозигот С/Т динамика составила  $30,8 \pm 7,0\%$ . У больных РМЖ после химиолучевой терапии регистрировалось достоверное повышение содержания ТФР-β1, оксипролина, ИЛ-6 и СРП в сыворотке крови. У гомозигот дикого типа С/С содержание ТФР-β1 в среднем повысилось на  $11,0 \pm 1,1\%$ , у гетерозигот С/Т — на  $17,8 \pm 1,9\%$ , в то время как у гомозигот Т/Т — на  $51,8 \pm 3,5\%$ , содержание ИЛ-6 в сыворотке крови у гомозигот Т/Т выросло на  $30,7 \pm 4,8\%$ , средний прирост у гетерозигот С/Т составил  $39,4 \pm 8,1\%$  и наименьшим он был у гомозигот дикого типа С/С —  $19,1 \pm 4,0\%$ .

Исследование мутации гена МТНFR позволяет выявить пациентов с потенциально высоким риском развития постхимиолучевых легочных повреждений и ввести систему превентивных мероприятий.

Получив обнадеживающие результаты от применения кверцетина и тиотриазолина у животных, мы изучили их влияние на развитие постхимиолучевых легочных повреждений у больных РМЖ и возможность предупреждения ими негативного влияния мутаций генов МТНFR и MMP-12. Применяв их у 146 пациентов, мы получили выраженный протекторный эффект. Ни у одной из пациенток, получавших химиолучевую терапию на фоне протекторов, фиброз легких не развивался, пневмосклероз на СКТ был обнаружен у 5 больных, что составило  $3,4 \pm 1,5\%$  от общего числа. Значительно уменьшились явления воспаления и улучшились показатели внешнего дыхания.

Уже через 3 месяца от начала лечения количество больных с кашлем под влиянием протекторов уменьшилось с  $64,1 \pm 4,0\%$  до  $31,5 \pm 3,8\%$ , с одышкой с  $54,9 \pm 4,1\%$  до  $28,8 \pm 3,7\%$  ( $p < 0,001$ ). Через 12 месяцев явления пневмосклероза и фиброза легких выявлялись на СКТ у  $33,1 \pm 3,9\%$  больных контрольной группы, в группе больных, которые использовали протекторы, пневмосклероз развился только у  $3,4 \pm 1,5\%$  пациенток, а фиброз легких не определялся вовсе.

Прием протекторов значительно улучшал через 12 месяцев и показатели внешнего дыхания. Так, форсированная жизненная емкость легких в контрольной группе больных через 12 месяцев была достоверно ( $p < 0,05$ ) ниже нормы и составляла  $2,52 \pm 0,36$  л, в группе больных, получавших протекторы, она составила  $2,88 \pm 0,18$  л, что статистически значимо не отличалась от нормы. Максимальная вентиляция легких у больных контрольной группы составляла  $69,9 \pm 14,6$  л/мин, тогда как у больных с протекторами —  $92,0 \pm 4,8$  л/мин. Пиковая объемная скорость выдоха в контроле была ниже нормы на  $26,8 \pm 1,3\%$ , когда в группе с протекторами достоверно не отличалась от нормы.

Применение кверцетина и тиотриазолина уменьшало признаки окислительного повреждения белков у гомозигот Т/Т на  $32,7 \pm 5,0\%$  и практически полностью нивелировало их у гомозигот С/С.

Под влиянием химиолучевой терапии у пациентов РМЖ повышалось содержание гомоцистеина, маркеров воспаления и оксидантного стресса, рос уровень ТФР-β1 и ок-

сипролина. Применение протекторов уменьшало, а иногда полностью нивелировало это нежелательное проявление. Так уровень гомоцистеина в группе больных дикого типа (С/С) при применении протекторов уменьшился на  $8 \pm 4\%$  и практически не отличался от исходного уровня. В группе больных с С/Т мутацией уровень гомоцистеина под действием протекторов уменьшился на  $9,7 \pm 5,0\%$ , а в группе Т/Т — на  $8,7 \pm 4,0\%$ . У гомозигот типа С/С химиолучевая терапия повышала содержание профибротического агента ТФР- $\beta 1$  на  $10,0 \pm 2,5\%$ , у гетерозигот С/Т — на  $18,2 \pm 4,5\%$ , а у гомозигот Т/Т — на  $48,5 \pm 5,5\%$ . В то же время, в группе пациентов, профилактически получавших протекторы, химио-радиоиндуцированное повышение содержания ТФР- $\beta 1$  не превышало  $8,1 \pm 3,3\%$  (у гомозигот Т/Т) и достоверно не отличалось от исходных показателей у гомозигот дикого типа С/С и гетерозигот С/Т. При сочетании химиолучевой терапии с кверцетином и тиотриазолином прирост уровня провоспалительных медиаторов ИЛ-6 и СРП в сыворотке крови больных РМЖ достоверно не отличался от исходного уровня во всех подгруппах, хотя в группе без протекторов после химио-радиотерапии уровень ИЛ-6 рос у гомозигот дикого типа С/С на  $19,1 \pm 9,1\%$ , а у носителей С/Т и Т/Т мутации до  $36,6 \pm 9,5\%$  и  $52,3 \pm 10,6\%$  соответственно.

## Выводы

1. Генетические факторы, а именно мутация С677Т в гене МТНFR и полиморфизм А/Г гена MMP-12, имеют непосредственное влияние на развитие постхимиолучевых легочных повреждений у больных раком молочной железы. У носителей аллели А/Г гена MMP-12 в сочетании с мутацией С677Т гена МТНFR значительно возрастает риск развития фиброза легких и других постхимиолучевых легочных повреждений.
2. Профилактическое назначение кверцетина и тиотриазолина достоверно уменьшает индуцированные химиолучевой терапией нарушения уровня гомоцистеина, ИЛ-6, ТФР- $\beta 1$ , МДА и карбонильных групп белков в сыворотке крови у гомо- и гетерозиготных носителей Т-аллели и практически нивелирует их у гомозигот дикого типа, что позволяет рекомендовать их в качестве модуляторов негативного влияния мутации гена С677Т МТНFR у больных РМЖ.
3. Применение кверцетина и тиотриазолина уменьшает частоту развития постхимиолучевых бронхитов с  $30,9 \pm 2,7\%$  до  $4,0 \pm 1,3\%$ , пневмонита с  $31,9 \pm 2,7\%$  до  $5,0 \pm 1,4\%$ , склероза легких с  $13 \pm 2,4\%$  до  $3,0 \pm 1,0\%$ . Пневмофиброз у больных, получавших протекторы, не встречался, когда в контрольной группе он определялся у  $20 \pm 2,8\%$  больных.

## Литература

1. Василенко Е. А. Фармакокинетический профиль липосомального кверцетина в мозговой ткани / Е. А. Василенко, О. К. Ярош // *Лекарства*. — 2006. — № 3–4. — С. 72–76.
2. Воротынцева Н. С. Рентгноппульмонология / Н. С. Воротынцева, С. С. Гольев. — М.: ООО «МИА», 2009. — 280 с.
3. Клинико-экспериментальное обоснование применения супероксиддисмутазы в медицине / А. В. Стефанов, Л. В. Деримедведь, И. В. Чурилова [и др.], Харьков: НФаУ «Золотые страницы», 2004. — 288 с.
4. Коррекция эндотелиальной дисфункции, вызванной влиянием  $\gamma$  облучения, с помощью розчининного и липосомального кверцетина / А. В. Кислова, А. Л. Сапатый, И. Г. Купновицке [и др.] // *Физиологический журнал*. — 2006. — № 3. — С. 78–81.
5. Кузнецова С. Влияние комбинации тиотриазолина и пирасетама на функциональное состояние центральной нервной системы у больных, перенесших ишемический инсульт / С. Кузнецова, В. Кузнецов, М. Воробей // *Диагностика и лечение*. — 2005. — № 2 — С. 73–77.
6. Пентюк Н. А. Метаболические предикторы фиброза печени у больных хроническими гепатитами / Н. А. Пентюк // *Экспериментальная и клиническая медицина*. — 2011. — № 1 — С. 134–138.
7. Aghamohammadi V. Effect of folic acid supplementation on homocysteine, serum total

- antioxidant capacity, and malondialdehyde in patients with type 2 diabetes mellitus / V. Aghamohammadi, B. Gargari, A. Aliasgharzadeh // *J Am Coll Nutr.*— 2011.— V. 304 (3).— P. 210–215.
8. Chemotherapy-related delayed bilateral spontaneous pneumothorax and lung fibrosis: methotrexate or cyclophosphamide, or both? / L. Fang, C. Huang, A. Chuang [et al.] // *Clin Respir J.*— 2010.— Vol. 4, № 4.— P. 254–255.
  9. Diesel exhaust particles induce matrix metalloprotease-1 in human lung epithelial cells via a NADP (H) oxidase/NOX4 redox-dependent mechanism / N. Amara, R. Bachoual R, M. Desmard [et al.] // *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.*— 2007.— Vol. 293, № 1.— P. 170–181.
  10. Direct anti-cancer effect of oncostatin M on chondrosarcoma / E. David, P. Guihard, B. Brounais et al. // *Int J Cancer.*— 2011.— V. 128 (8).— P. 1822–1835.
  11. Myocardial fibrosis and TGFB expression in hyperhomocysteinemic rats / L. Raaf, C. Nol, M. Cherifi [et al.] // *Mol Cell Biochem.*— 2011.— V. 3447 (1–2).— P. 63–70.