

MOLEKULARNI IN SLIKOVNI OZNAČEVALCI KARDIOTOKSIČNOSTI PRI OBSEVANJU RAKA DOJK

Katja Goričar ¹, Jure Dolenc ^{2,3}, Tomaž Podlesnikar ^{3,4,5}, Tanja Marinko ^{2,6}

¹ *Inštitut za biokemijo in molekularno genetiko, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija*

² *Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija*

³ *Univerzitetni klinični center Ljubljana, Ljubljana, Slovenija*

⁴ *Univerzitetni klinični center Maribor, Maribor, Slovenija*

⁵ *Medicinska fakulteta Maribor, Univerza v Mariboru, Maribor, Slovenija*

⁶ *Onkološki inštitut Ljubljana, Ljubljana, Slovenija*

Elektronski naslov: tmarinko@onko-i.si

Izveček

Kardiotoksičnost je neželen učinek zdravljenja raka dojk z obsevanjem, ki lahko pomembno vpliva na kvaliteto in dolžino življenja bolnic. Običajno se klinično izrazi šele mnogo let po obsevanju ter nastane kot rezultat več različnih dejavnikov.

V okviru raziskovalnih projektov, ki potekajo v sodelovanju Onkološkega inštituta Ljubljana, Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani in Univerzitetnega kliničnega centra Ljubljana proučujemo klasične laboratorijske, slikovne in novejšje molekularne označevalce kardiotoksičnosti pri bolnicah z neinvazivnim rakom dojk, zdravljenih z operacijo in obsevanjem.

Uvod

Obsevanje je del standardnega zdravljenja tako pri invazivnem kot pri neinvazivnem raku dojk. Najpomembnejši neželeni učinek zdravljenja raka dojk z obsevanjem je kardiotoksičnost, ki lahko pusti trajne okvare na srčnih strukturah in pomembno vpliva na zdravje in kvaliteto življenja bolnic več let po zaključenem zdravljenju raka dojk.¹

Obsevanje v področju srca poveča tveganje za bolezni koronarnih arterij, miokardno disfunkcijo, okvare zaklopke in bolezni perikarda.¹ Ker srce običajni leži neposredno pod levo dojko, je kardiotoksičnost neželeni učinek predvsem obsevanja leve strani prsnega koša. Pri načrtovanju obsevanja leve dojke smo zato posebno pozorni na dozo sevanja, ki jo bo med zdravljenjem prejelo srce in jo kolikor se le da omejimo. Ker srce pogosto leži zelo blizu ležišča tumorja, sevanja namreč ne moremo usmeriti samo na tarčno tkivo, ne da bi pri tem nekaj doze prejelo tudi srce. Raziskave so pokazale, da je okvara na srcu zaradi sevanja povezana z velikostjo prejete doze in se pomembno poveča z vsakim prejetim Gy sevanja.¹

Kardiotoksičnost zdravljenja raka dojk z obsevanjem je zaradi svoje pomembnosti zelo proučevana tema in vezni člen več raziskovalnih projektov, ki trenutno potekajo v sodelovanju Onkološkega inštituta Ljubljana, Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani ter Univerzitetnega kliničnega centra Ljubljana (J3-60064, OI-3-24) ali pa so se že zaključili (J3-1753, J3-2527). Ker smo želeli izključiti toksični vpliv sistemskega onkološkega zdravljenja na srce, smo v vseh navedenih projektih raziskovali oziroma raziskujemo kardiotoksičnost pri bolnicah z neinvazivnim rakom dojk (*duktalni karcinom in situ* (DCIS)), ki so v okviru standardne onkološke obravnave zdravljene samo z operacijo in pooperativnim obsevanjem.

Kardiotoksičnost želimo raziskati z več različnih vidikov, saj nanjo lahko poleg prejete doze in klasičnih dejavnikov, kot so kajenje, povišana vrednost maščob v krvi, debelost in sladkorna bolezen, vplivajo še drugi, predvsem genetski in drugi molekularni dejavniki, ki so trenutno v veliki meri še nepojasnjeni.

Klinična raziskava

Cilji

Troponin in NT-proBNP sta klasična označevalca kardiotsičnosti, ki ju uporabljamo v redni klinični praksi. Zanimalo nas je, ali se med obsevanjem vrednost klasičnih označevalcev kardiotsičnosti pri bolnicah z DCIS pomembno spremeni.

Ultrazvočna preiskava (UZ) srca v onkologiji še vedno predstavlja zlati standard za spremljanje kardiotsičnosti sistemskega zdravljenja.² Ker zgodnji učinki sevanja na strukturo in delovanje srca še niso dobro raziskani, smo želeli zgodnjo kardiotsičnost po obsevanju oceniti s pomočjo UZ in magnetno resonančne preiskave (MR) srca.

Epigenetski dejavniki, na primer miRNA, predstavljajo potencialen nov označevalec kardiotsičnosti, saj izpostavljenost sevanju pogosto spremeni njihovo izražanje. MiR-21 in miR-34a sta med najpomembnejšimi miRNA, povezanimi z obsevanjem.³ Raziskati smo želeli tudi, ali se izražanje miR-21 in miR-34a spremeni po obsevanju in ali genetska variabilnost vpliva na njuno izražanje, ter preučiti vpliv izražanja miR-21 in miR-34a ali njune genetske variabilnosti na pojav akutnih neželenih učinkov obsevanja na srcu pri bolnicah z DCIS.

Metode

V prospektivno longitudinalno klinično raziskavo smo vključili bolnice z DCIS, zdravljene v okviru redne klinične prakse z ohranitveno operacijo in pooperativnim obsevanjem na Onkološkem inštitutu Ljubljana med letoma 2019 in 2024. Kriteriji za izključitev so bili znana srčna bolezen, predhodna sistemska kemoterapija ali predhodno zdravljenje z obsevanjem. Vse bolnice so v raziskavo privolile prostovoljno in podale pisno soglasje. Lahko so se odločile samo za oddajo vzorcev krvi ali pa privolile tudi v slikovne preiskave. Raziskavo je odobrila Komisija Republike Slovenije za medicinsko etiko (KME 0120-54/2015-2 (39/05/15), 0120-54/2015-11 in 0120-54/2015-14).

Bolnice so bile zdravljene s 3-dimenzionalnim konformnim obsevanjem (3D CRT) ali z intenzitetno modulirajočim obsevanjem (IMRT). Levo dojko smo obsevali v globokem zadržanem vdihu, če je bilo to izvedljivo. Pred in po zdravljenju z obsevanjem so vse bolnice opravile klinični pregled in oddale vzorec krvi. Pred in največ dva tedna po obsevanju so opravile tudi UZ srca in MR srca, v kolikor so v to privolile. Za spremljanje neželenih učinkov na srcu smo poleg omenjenih slikovnih metod uporabili koncentracijo N-konca pro-B-tipa natriuretičnega peptida (NT-proBNP) in troponina v serumu. Prav tako smo iz vzorcev periferne krvi izolirali DNA, iz plazme pa miRNA za molekularne analize. Izražanje miRNA smo določili s PCR v realnem času, izbrane polimorfizme pa smo genotipizirali z alelna specifičnim PCR.

Rezultati

Klasični označevalci kardiotsičnosti

Pri 194 bolnicah (mediana starost 56 (50-63) let) po obsevanju ni bilo pomembnih razlik v klasičnih označevalcih kardiotsičnosti. Mediana vrednost NT-proBNP je bila pred zdravljenjem z obsevanjem 73 (50-116,8) ng/l, po zaključenem zdravljenju z obsevanjem pa 72 (50-112) ng/l ($p = 0,779$). Povišane vrednosti NT-proBNP (>125 ng/l) so bile pred obsevanjem prisotne pri 45 (23,2 %) bolnicah, po obsevanju pa pri 41 (21,1 %) bolnicah. Po obsevanju se je vrednost povišala pri 79 (40,7 %) bolnicah. Mediana vrednost troponina ni niti pred niti po obsevanju dosegla vrednosti nad 10 ng/l (pred obsevanjem 4 (1,5-5) ng/l, po obsevanju 5 (1,5-5) ng/l, $N = 114$). Statistično značilnih razlik v dinamiki NT-proBNP in troponina nismo opazili niti pri ločeni analizi bolnic glede na obsevano stran.

Slikovni označevalci kardiotoksičnosti

Ultrazvočna preiskava srca

V podskupini 124 bolnic, pri katerih smo opravili UZ srca, je bila povprečna doza sevanja na srce $0,92 \pm 0,49$ Gy in je bila značilno večja pri bolnicah, ki so obsevale levo dojko kot pri bolnicah, ki so obsevale desno ($1,10 \pm 0,59$ Gy v primerjavi z $0,72 \pm 0,28$ Gy; $p < 0,001$). Opazili smo šibko korelacijo med povprečno dozo sevanja na srce in kazalcem globalne longitudinalne sistolične deformacije levega prekata (GLS) ($p = 0,001$) ter neinvazivno oceno polnilnega tlaka levega prekata (E/e') ($p = 0,001$). Vendar pa po obsevanju ni bilo pomembnih sprememb parametrov sistolične in diastolične funkcije, ne glede na stran obsevanja.

Magnetna resonanca srca

MR srca pred in po obsevanju je opravilo 40 bolnic. Pri tistih, ki so obsevale levo dojko, je prišlo do statistično značilnega povišanja vrednosti T2 ($p = 0,044$), kar najverjetneje predstavlja prisotnost edema miokarda. Pri drugih preiskovanih parametrih ni bilo značilnih razlik. Pri nobeni bolnici se ni razvil perikardialni izliv.⁴

Novejši molekularni označevalci kardiotoksičnosti

Po obsevanju je bilo pri bolnicah ($N = 119$) povišano izražanje miR-21 ($p = 0,001$) in miR-34a ($p < 0,001$) v plazmi. Povišano izražanje miR-21 po obsevanju je bilo povezano z višjo vrednostjo NT-proBNP ($p = 0,044$) po zaključku obsevanja. Polimorfizmi v genih za miR-21 in miR-34a v naši raziskavi niso vplivali na proučevane parametre⁵.

Razprava in zaključek

Kardiotoksičnost obsevanja je dobro znan neželeni učinek zdravljenja raka dojke z obsevanjem, a ga v standardni klinični praksi zaenkrat še ne znamo diagnosticirati v zgodnji, predklinični fazi, ko nastajajoče obolenje srca še ne dela težav in ne ogroža bolnice ter bi lahko z zgodnjim ukrepanjem morda zavrla nadaljnji razvoj bolezni. Standardna označevalca kardiotoksičnosti, troponin in NT-proBNP, se uporabljata v klinični praksi, ko ima bolnica že težave, za ugotavljanje predkliničnih sprememb na srcu po obsevanju pa se zaenkrat nista pokazala kot ustrezna označevalca, ker sta premalo občutljiva, kar smo potrdili tudi v naši raziskavi.

Slikovne metode, kot sta UZ srca in MR srca prav tako predstavljajo pomembno diagnostično orodje pri že znani bolezni srca. Dinamika parametrov UZ srca, ki smo ga izvedli pred in po obsevanju, kaže, da sodobno obsevanje raka dojke ne povzroča pomembnih zgodnjih škodljivih učinkov na delovanje levega ali desnega srca. Zdi se, da je sodobna radioterapija varna v smislu zgodnjih kardiotoksičnih učinkov, vendar je potrebno nadaljnje UZ spremljanje srca za oceno morebitnih dolgoročnih neželenih učinkov.

Kot je pokazala naša raziskava, bi morda lahko MR srca uporabljali za odkrivanje zgodnjih morfoloških sprememb srčne mišice po obsevanju, saj povišane vrednosti T2 po obsevanju najverjetneje predstavljajo edem miokarda, vendar pa je potrebno naše rezultate validirati še na večjem številu preiskovank ter po daljšem časovnem obdobju po obsevanju.⁴

Obetavno je tudi področje modernih molekularnih označevalcev, ki spremenijo svoje izražanje med obsevanjem, kot smo na primer v naši raziskavi prikazali za miR-21 in miR-34a⁵, saj cirkulirajoči označevalci omogočajo longitudinalno spremljanje bolnic z minimalno invazivnimi metodami. Morda bomo nekoč na podlagi dinamike molekularnih označevalcev v vzorcih krvi, odvzetih pred in po obsevanju, lahko pri posameznih bolnicah napovedali večjo ogroženost za razvoj obolenja srca ter z nadaljnjimi preventivnimi ukrepi preprečili nastanek bolezni ali jo vsaj omejili.

Slikovni in moderni molekularni označevalci bi torej lahko prispevali k bolj prilagojenemu in usmerjenemu kardiološkemu nadzoru bolnic po zdravljenju raka dojke, vendar pa so za natančnejšo

pojasnitev njihovih vlog potrebne dodatne prospektivne raziskave.

Zahvala

Zahvaljujemo se vsem sodelavkam in sodelavcem OI, MF in UKC Ljubljana, ki sodelujejo v raziskavi, ter vsem bolnicam, ki so privolile v sodelovanje v raziskavi.

Raziskovalna sredstva: ARIS J3-60064, J3-1753, J3-2527 ,OI-3-24, UKC LJ terciarni projekt 20210086 in 20240198.

Literatura

1. Meattini I, et al. Association of Breast Cancer Irradiation With Cardiac Toxic Effects: A Narrative Review. *JAMA Oncol.* 2021;7(6):924-932.
2. Podlesnikar T, et al. Radiotherapy-Induced Cardiotoxicity: The Role of Multimodality Cardiovascular Imaging. *Front Cardiovasc Med.* 2022;28(9):887705.
3. Petrović N, et al. MicroRNAs in Prostate Cancer Following Radiotherapy: Towards Predicting Response to Radiation Treatment. *Curr Med Chem.* 2022;29(9):1543-1560.
4. Podlesnikar T, et al. Early effect of contemporary radiotherapy protocol on myocardium in patients with breast cancer assessed with cardiac magnetic resonance. *European Heart Journal - Cardiovascular Imaging.* 2023; 24(1).
5. Redenšek Trampuž S, et al. Genetic variability and expression of miR-21 and miR-34a as biomarkers of cardiotoxicity after radiotherapy in breast cancer. *ESHG Pharmacogenetics Course: book of abstracts: Portorož, Slovenija, 22.-24. Sept 2022.*