

На правах рукописи

КУШНАРЕВА

Екатерина Алексеевна

**ОЦЕНКА ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ПРЕДИКТОРОВ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ
ОСЛОЖНЕНИЙ ТЕРАПИИ ИНГИБИТОРАМИ КОНТРОЛЬНЫХ ТОЧЕК
ИММУННОГО ОТВЕТА**

3.1.20 – Кардиология

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург – 2023

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор
Моисеева Ольга Михайловна

Официальные оппоненты:

Гендлин Геннадий Ефимович – доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова" Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра госпитальной терапии имени академика Г.И. Сторожакова, профессор кафедры.

Баллюзек Марина Феликсовна – доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение здравоохранения Санкт-Петербургская клиническая больница Российской академии наук, администрация, заместитель главного врача по медицинской части.

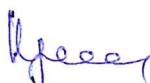
Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится «25» сентября 2023 г. в 15:30 на заседании диссертационного совета 21.1.028.02 (Д 208.054.04) на базе Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (197341, г. Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (197341, г. Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2; адрес сайта www.almazovcentre.ru).

Автореферат разослан « » 2023 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
21.1.028.02 (Д 208.054.04)
доктор медицинских наук, профессор



**Недошин
Александр Олегович**

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования и степень ее разработанности

Последние два десятилетия кардиоонкология активно развивается, как самостоятельное научно-практическое направление медицины. Независимо от характера проводимых исследований, основными задачами кардиоонкологии являются: изучение механизмов развития кардиотоксичности, выявление пациентов из группы высокого риска развития сердечно-сосудистых осложнений, поиск методов снижения риска развития осложнений до, во время и после проведения потенциально кардиотоксичной терапии и поиск наиболее предпочтительных методов диагностики осложнений противоопухолевой терапии (Wickramasinghe C. et al., 2016).

Основными предпосылками для развития данного направления стало совершенствование методов противоопухолевой терапии и увеличение продолжительности жизни онкологических пациентов. Так, на 2014 год в Соединенных Штатах Америки проживало 14,5 миллионов пациентов, выживших после противоопухолевого лечения и по прогнозам данное значение должно возрасти до 19 миллионов к 2024 году (Verdecchia A. et al., 2002; Siegel R. et al., 2014). Наряду с этим, многие противоопухолевые методы лечения обладают спектром краткосрочной и отдаленной кардиотоксичности, которая выходит на передний план как фактор, существенно влияющий на дальнейшую продолжительность и качество жизни онкологических пациентов.

На протяжении последних 10 лет в онкологическую практику активно внедряются препараты из группы иммунной противоопухолевой терапии, ингибиторы контрольных точек (ИКТ) иммунного ответа. Противоопухолевая иммунотерапия во многих клинических исследованиях демонстрирует свое значимое преимущество в сравнении со стандартной полихимиотерапией у пациентов с различными опухолевыми локализациями на поздних стадиях заболевания (Mok T. et al., 2019; Borghaei H et al., 2021). При этом по сей день показания к назначению различных групп ИКТ ежегодно расширяются и соответственно значимо увеличивается количество пациентов, получающих данный вид противоопухолевой терапии (Tjulandin S. et al., 2021; Kudo M. et al., 2022).

Несмотря на изначально, как предполагалось, лучший профиль безопасности данной группы препаратов в сравнении с химиотерапией, с 2016 года активно стали появляться первые опубликованные случаи миокардитов, ассоциированных с терапией ИКТ, число которых ежегодно неуклонно росло (Johnson D. et al., 2016; Moslehi J. et al., 2018). Позднее стало понятно, что миокардиты – неединственное сердечно-сосудистое осложнение, которое влияет на продолжительность, качество жизни пациентов и возможность дальнейшего получения высокоэффективной противоопухолевой терапии. Так, ряд ретроспективных исследований показал развитие на фоне терапии ИКТ иммунного ответа и таких сердечно-сосудистых событий, как сердечная недостаточность, инсульты, инфаркты миокарда, фибрилляция предсердий с высоким процентом последующей отмены противоопухолевой терапии (Jain P. et al., 2021; Li C. et al., 2022). Помимо этого, активно изучаются вопросы влияния иммунной противоопухолевой терапии на развитие и прогрессирование атеросклероза (Drobni Z. et al., 2020).

Механизмы развития сердечно-сосудистых осложнений ИКТ до конца не изучены. Имеются предпосылки считать, что механизм развития побочных эффектов тесно связан с механизмом реализации противоопухолевого эффекта иммунотерапии, в пользу чего говорит наличие корреляции между качеством опухолевого ответа на терапию и развитием иммуноопосредованных побочных эффектов (Das S. et al., 2019; Eggermont A. et al., 2020; Johnson D. et al., 2022). Также имеются предположения, что токсичность иммунотерапии развивается вследствие механизмов, не задействованных в реализации противоопухолевого ответа, а связанных с микробиомом, вирусными и тканеспецифическими факторами (Dubin K. et al., 2016; Andrews M. et al., 2021).

Ряд ретроспективных исследований дают основания предполагать, что наличие исходной сердечно-сосудистой патологии может быть предрасполагающим фактором к развитию ИКТ-ассоциированных сердечно-сосудистых событий (Oren O. et al., 2020; Jain P. et al., 2021). Экспериментальные исследования демонстрируют роль белков, являющихся мишенями для ИКТ, таких как PD-1 и PD-L1, в развитии воспалительных заболеваний миокарда, а также в развитии и прогрессировании атеросклероза (Grabie N. et al., 2007; Lucas J. et al., 2008; Grievink H. et al., 2021). В одной из работ показано значимое увеличение экспрессии PD-1 и PD-L1 в криповрежденных кардиомиоцитах в сравнении с интактными клетками (Baban V. et al., 2015). Можно предположить, что поврежденные вследствие различных сердечно-сосудистых заболеваний кардиомиоциты начинают экспрессировать на своей поверхности вышеуказанные белки, становясь дополнительной мишенью для ИКТ иммунного ответа.

На сегодняшний день отсутствуют валидированные инструменты стратификации пациентов на группы риска развития сердечно-сосудистых осложнений при применении терапии ИКТ, которые имеются для других потенциально кардиотоксичных групп препаратов, таких как антрациклины, HER-2 ингибиторы, ингибиторы эндотелиального фактора роста (Lyon A. et al., 2022). В основном это связано с ограниченным числом проспективных исследований, направленных на детальный кардиомониторинг онкологических пациентов, находящихся на иммунной противоопухолевой терапии. Так, только с середины 2022 года стали появляться результаты краткосрочных проспективных наблюдений с небольшими выборками пациентов и ограниченным объемом лабораторных и инструментальных методов обследования пациентов, получающих терапию ИКТ иммунного ответа (Liu J. et al., 2022; Xu A. et al., 2022).

Таким образом, актуальным представляется изучение патогенетических и клинических особенностей развития и течения ИКТ-ассоциированных сердечно-сосудистых событий с целью выявления факторов риска их развития.

Цель исследования

Определить предикторы развития сердечно-сосудистых событий, ассоциированных с терапией ингибиторами контрольных точек иммунного ответа, и оценить динамику состояния сердечно-сосудистой системы на фоне противоопухолевой иммунотерапии.

Задачи исследования

1. Проанализировать встречаемость сердечно-сосудистых заболеваний и отдельных факторов риска, а также частоту развития новых событий у пациентов, получающих ингибиторы контрольных точек иммунного ответа.
2. Провести мониторинг клинико-инструментальных и лабораторных данных на фоне иммунной противоопухолевой терапии.
3. Оценить экспрессию PD-L1 в миокарде у пациентов с сердечной недостаточностью различной этиологии в сравнении с пациентами без сердечно-сосудистых заболеваний.
4. Оценить предиктивную ценность параметров, характеризующих исходное состояние сердечно-сосудистой системы, в отношении развития сердечно-сосудистых событий на фоне иммунной противоопухолевой терапии.

Научная новизна

1. В ходе проспективного наблюдательного исследования зафиксирован высокий процент (23,3%) развития сердечно-сосудистых событий, включая бессимптомное снижение фракции выброса и глобальной продольной деформации левого желудочка, отвечающее установленным критериям кардиотоксичности. Доля летальных событий в структуре сердечно-сосудистых осложнений составила 28,6%.

2. На фоне 3-х месячной терапии ингибиторами контрольных точек отмечено увеличение конечного систолического объема на 7,9% и снижение фракции выброса левого желудочка на 3,125%, выявлено увеличение доли пациентов с атеросклеротическим поражением сонных артерий на 16%, а с нарушениями ночного дыхания на 30%. Отмечены более выраженные темпы прироста мозгового натрийуретического пропептида у пациентов с исходными сердечно-сосудистыми заболеваниями. Через 9 месяцев наблюдения определены более высокие значения тропонина I у пациентов с исходными сердечно-сосудистыми заболеваниями, установлено увеличение размерных эхокардиографических параметров (диаметр восходящей аорты, размер левого предсердия, размер правого желудочка) и продолжающееся увеличение конечного систолического объема на 14,3% и снижение фракции выброса левого желудочка в среднем на 6,25% от исходного уровня.

3. Исходное значение индекса Tei для левого желудочка является независимым предиктором развития нетромбоэмболических сердечно-сосудистых событий на фоне терапии ингибиторами контрольных точек. Среди факторов, влияющих на степень снижения фракции выброса левого желудочка, наиболее значимыми признаны анамнез сахарного диабета 2 типа, ожирение, прием статинов, как дополнительный маркер предшествующей сердечно-сосудистой патологии, исходный уровень фракции выброса левого желудочка и уровень мозгового натрийуретического пропептида в сыворотке крови.

4. Впервые охарактеризована экспрессия PD-L1 в миокарде у пациентов с сердечной недостаточностью ишемической и неишемической этиологии. Цитоплазматическая экспрессия и экспрессия PD-L1 во вставочных дисках кардиомиоцитов выявлена как при ишемическом, так и неишемическом генезе поражения миокарда с большим преобладанием экспрессии во вставочных дисках в группе пациентов с дилатационной кардиомиопатией. Мембранный и эндотелиальный паттерны экспрессии были характерны только для пациентов с перенесенным инфарктом миокарда различной давности. Миокард пациентов без сердечно-сосудистой патологии не имел специфической экспрессии PD-L1.

5. Выявлена корреляционная связь между объемом экспрессии PD-L1 в миокарде и эхокардиографическими, а также клинико-лабораторными параметрами. Установлена положительная корреляция параметров экспрессии PD-L1 с конечным диастолическим объемом левого желудочка и количеством лейкоцитов и нейтрофилов периферической крови, а также отрицательная корреляция параметров экспрессии PD-L1 с фракцией выброса левого желудочка.

Теоретическая и практическая значимость

1. В рамках настоящего проспективного исследования, текущая стратегия определения пациентов высокого риска развития кардиотоксичности на фоне иммунной противоопухолевой терапии не продемонстрировала прогностической ценности в отношении развития сердечно-сосудистых событий, что требует проведения дальнейших исследований с целью поиска факторов риска развития осложнений.

2. Отсутствие значимого динамического изменения маркеров повреждения миокарда (тропонин I) и сердечной недостаточности (мозговой натрийуретический пропептид), как у пациентов с развитием сердечно-сосудистых событий, так и без них, ставит под сомнение целесообразность частого контроля данных лабораторных показателей на фоне терапии ингибиторами контрольных точек иммунного ответа.

3. С учетом прогностической ценности ряда исходных параметров в отношении риска развития летального исхода, сердечно-сосудистых событий и степени снижения фракции выброса левого желудочка целесообразна оценка сердечно-сосудистой коморбидности, выполнение эхокардиографии с оценкой индекса производительности левого желудочка, определение уровня С-реактивного белка и мозгового натрийуретического пропептида в сыворотке крови всем пациентам до старта иммунной противоопухолевой терапии ингибиторами контрольных точек.

4. Сердечно-сосудистые заболевания, ассоциированные с повреждением кардиомиоцитов, приводят к повышению экспрессии PD-L1 в миокарде, что можно

рассматривать как потенциальный фактор риска развития сердечно-сосудистых событий, ассоциированных с ингибиторами контрольных точек, ввиду наличия дополнительных мишеней для моноклональных антител.

5. Уровень лейкоцитов и нейтрофилов в периферической крови, конечный диастолический объем левого желудочка и фракция выброса левого желудочка могут быть суррогатными маркерами наличия экспрессии PD-L1 в миокарде пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями.

Методология и методы исследования

Исследование состоит из трех разделов: ретроспективный анализ, проспективное исследование, а также гистологический и иммуногистохимический анализ образцов миокарда.

В ретроспективный анализ включены онкологические пациенты с различными опухолевыми локализациями, получавшие иммунную противоопухолевую терапию ингибиторами контрольных точек в стационарах Санкт-Петербурга. Сбор необходимой информации осуществлялся в архивах медицинской документации или в электронных медицинских информационных системах в зависимости от стационаров, предоставлявших доступ к медицинской информации.

В проспективное исследование включались пациенты, соответствующие критериям включения, согласно дизайну исследования, одобренному локальным этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» МЗ РФ (протокол № 12032020 от 16 марта 2020 года). Помимо объема обследования, предусмотренного текущими кардиоонкологическими рекомендациями, выполнены дополнительные исследования согласно настоящему дизайну. Все применяемые методы обследования были стандартными и выполнялись на стандартизированном оборудовании с учетом имеющихся рекомендаций.

Для гистологического и иммуногистохимического исследования отобраны образцы миокарда левого желудочка от умерших пациентов, соответствующих дизайну исследования. Подготовка материала для окрашивания и иммуногистохимического исследования проводилась по стандартизированному протоколу. Для определения экспрессии белков в миокарде использовались клинически валидированные клоны антител. Окрашивания выполнялись автоматизированным путем на профессиональном оборудовании согласно инструкциям.

Статистический анализ выполнен с помощью общепринятых подходов статистической обработки медицинских данных с использованием методов описательной, сравнительной статистики, корреляционного и регрессионного анализов.

Примененные методы отвечают цели и задачам исследования.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Две трети пациентов до старта терапии ингибиторами контрольных точек иммунного ответа имеют клинически значимые факторы риска или уже установленные сердечно-сосудистые заболевания. В процессе проспективного наблюдения частота развития новых сердечно-сосудистых событий составила 22,3%. На фоне противоопухолевой иммунотерапии регистрируются увеличение эхокардиографических показателей камер сердца и крупных сосудов, а также снижение фракции выброса левого желудочка, увеличение доли пациентов с нарушениями дыхания во сне и прогрессированием атеросклероза сонных артерий. Индекс Tei до старта терапии является независимым предиктором развития нетромбоэмболических сердечно-сосудистых событий. Анамнез сахарного диабета, ожирение, прием статинов, исходный уровень фракции выброса и уровень мозгового натрийуретического пропептида являются факторами, влияющими на степень снижения фракции выброса левого желудочка в динамике.

2. Миокард пациентов с сердечной недостаточностью ишемической и неишемической этиологии характеризуется наличием специфических паттернов экспрессии PD-L1: эндотелиальным, мембранным, цитоплазматическим и экспрессией во вставочных

дисках кардиомиоцитов. Степень экспрессии PD-L1 тесно связана со значениями конечного диастолического объема и фракции выброса левого желудочка, а также с уровнем нейтрофилов и лейкоцитов периферической крови.

Степень достоверности и апробация результатов

Основные результаты настоящей научно-исследовательской работы были представлены в виде докладов в рамках всероссийских и международных конференций и конгрессов: на Российском национальном конгрессе кардиологов (Казань (онлайн), 2020; Санкт-Петербург (онлайн), 2021, Казань (онлайн), 2022), на IV инновационном Петербургском медицинском форуме (Санкт-Петербург, 2021), на азиатском конгрессе Европейского общества медицинской онкологии [European society of medical oncology Asia congress] (Сингапур (онлайн), 2020), на международной платформе Европейского общества сердечной недостаточности [HFA Discoveries] (онлайн, 2020).

Личный вклад автора

Автор принимал непосредственное участие в разработке дизайна, планировании и организации всех этапов исследования. Лично осуществил сбор данных для ретроспективной части исследования. Осуществлял координацию, консультирование и динамическое наблюдение пациентов, включенных в проспективное исследование. Самостоятельно провел отбор гистологического материала для иммуногистохимического исследования и принимал участие в анализе материала. Диссертант лично осуществлял ведение баз данных и статистический анализ. Автору принадлежит ведущая роль в написании полноразмерных статей по теме диссертации под руководством научного руководителя.

Внедрение в практику

Результаты настоящей научно-практической работы цитируются в Согласованном мнении Российских экспертов по профилактике, диагностике и лечению сердечно-сосудистой токсичности противоопухолевой терапии и внедрены в диагностический процесс онкологических пациентов, получающих терапию ингибиторами контрольных точек иммунного ответа. Теоретические положения, сформулированные в ходе данного диссертационного исследования, могут быть использованы в рамках учебного процесса Института медицинского образования ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» МЗ РФ.

Публикации

По результатам настоящего исследования опубликовано 8 печатных работ, из которых 3 полнотекстные статьи в изданиях, включенных в перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией для опубликования основных результатов диссертаций на соискание ученых степеней кандидата и доктора наук и в журналах, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, 2 полнотекстные статьи на английском языке в изданиях индексируемых Scopus и Web of Science, 3 тезиса в сборниках трудов российских научных конференций.

Структура и объем диссертации

Диссертационное исследование представлено на 117 страницах печатного текста и состоит из стандартных разделов: введение, обзор литературы, материал и методы, результаты исследования, обсуждение результатов исследования, выводы, практические рекомендации, список литературы. Работа сопровождается 12 таблицами и иллюстрирована 18 рисунками. Библиографический список содержит 113 источников литературы: 2 отечественных, 111 зарубежных.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

Диссертационное исследование состоит из ретроспективного анализа, гистологического и иммуногистохимического исследования миокарда, а также проспективного наблюдательного когортного исследования.

В ретроспективный анализ включено 150 пациентов с примерно равным соотношением мужчин и женщин (76 мужчин, 74 женщины), имеющих показания к противоопухолевой терапии ИКТ иммунного ответа и получавших лечение в течение 2020 года в городских онкологических стационарах Санкт-Петербурга. Средний возраст включенных пациентов составил $60,2 \pm 13,0$ лет. Проанализированы истории болезни с оценкой первичной опухолевой локализации, характера получаемой терапии и частоты встречаемости сердечно-сосудистых заболеваний и отдельных факторов риска.

Дизайн проспективного исследования одобрен локальным этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» МЗ РФ (протокол № 12032020 от 16 марта 2020 года) и представлен на рисунке 1. Исследование носит проспективный наблюдательный когортный характер. Набор пациентов проводился с февраля 2021 по сентябрь 2022 года. Начало набора пациентов в проспективную группу было задержано в виду особенностей функционирования медицинских учреждений в период пандемии коронавирусной инфекции, не позволяющих проводить обследование в полном объеме согласно запланированному дизайну исследования.

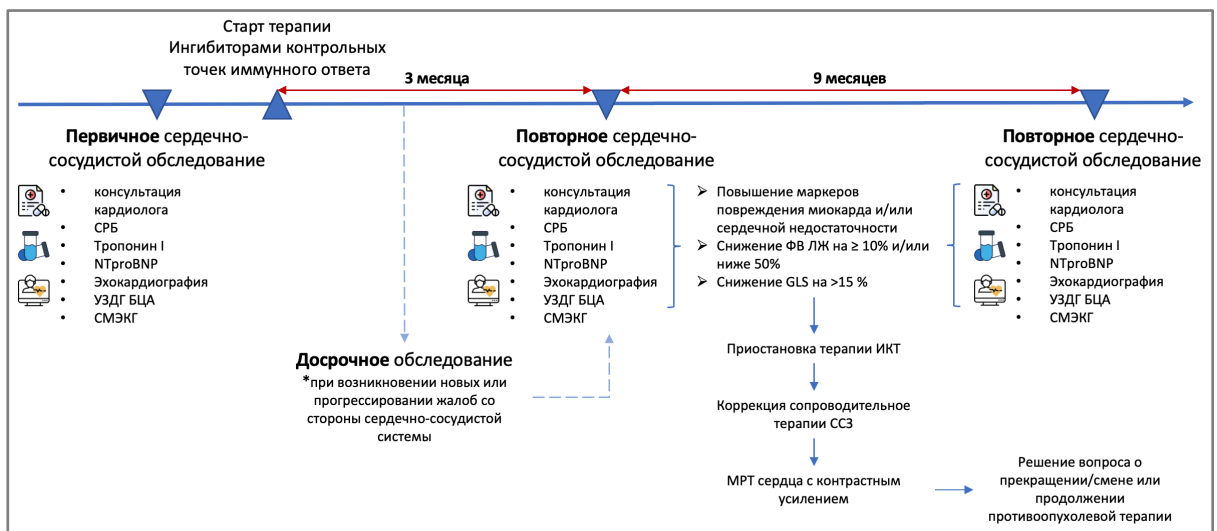


Рисунок 1 – Дизайн проспективного наблюдения за пациентами на фоне терапии ингибиторами контрольных точек иммунного ответа

Примечания: БЦА – брахиоцефальные артерии, ИКТ – ингибиторы контрольных точек, ЛЖ – левый желудочек, МРТ – магнитно-резонансная томография, СМЭКГ – суточное мониторирование ЭКГ, ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания, УЗДГ – ультразвуковая доплерография, ФВ – фракция выброса, СРБ – С-реактивный белок, GLS – глобальная продольная деформация, NTproBNP – мозговой натрийуретический пропептид

Включено 60 онкологических пациентов (32 мужчины и 28 женщин), отобранных на иммунную противоопухолевую терапию анти-PD-1/анти-PD-L1 ИКТ иммунного ответа в монотерапии или в комбинации с анти-CTLA4. Описание основных клинических характеристик исследуемой группы представлено в таблице 1.

Критерии включения: (1) верифицированный диагноз злокачественной опухоли, требующей терапии ИКТ; (2) возраст старше 18 лет; (3) общее состояние пациента по шкале ECOG – 0-2; (4) наличие подписанного информированного согласия на обследование сердечно-сосудистой системы на протяжении терапии моноклональными антителами.

Критерии невключения: (1) наличие текущей неконтролируемой инфекции; (2) отсутствие возможности выполнения регулярных визитов к кардиологу для оценки текущего состояния.

Таблица 1 – Описание клинических характеристик пациентов, включенных в проспективное наблюдение

Показатели		Общая группа (n=60)	С исходными ССЗ (n=34)	Без исходных ССЗ (n=26)	p*
Возраст, лет		64±10	68±9	60±8	<0,001
Мужской пол, n (%)		32 (53,3)	16 (47,1)	16 (61,5)	0,265
Локализация первичного опухолевого очага	меланома, n (%)	15 (25)	8 (23,5)	7 (26,9)	0,513
	легкие, n (%)	20 (33,3)	13 (38,2)	7 (26,9)	
	ЖКТ, n (%)	4 (6,7)	3 (8,8)	1 (3,8)	
	ЖПС, n (%)	2 (3,3)	2 (5,9)	0 (0)	
	МВС, n (%)	11 (18,3)	4 (11,8)	7 (26,9)	
	ГиШ, n (%)	5 (8,3)	2 (5,9)	3 (11,5)	
	иные, n (%)	3 (5)	2 (5,9)	1 (3,8)	
Класс ИКТ	Анти-CTLA4, n (%)	1 (1,7)	0 (0)	1 (3,8)	0,504
	Анти-CTLA4+анти-PD-1,n(%)	11 (18,3)	6 (17,6)	5 (19,2)	
	Анти-PD-1, n (%)	37 (61,7)	23 (67,6)	14 (53,8)	
	Анти-PD-L1, n (%)	11 (18,3)	5 (14,7)	6 (23,1)	
1 линия противоопухолевой терапии,n(%)		29 (48,3)	20 (58,8)	9 (34,6)	0,063
Курение, n (%)		36 (60,0)	20 (62,5)	16 (61,5)	0,940
Артериальная гипертензия, n (%)		36 (60,0)	28 (82,4)	8 (30,8)	<0,001
Ожирение, n (%)		12 (20,0)	6 (17,6)	6 (23,1)	0,747
СД 2, n (%)		6 (10,0)	6 (17,6)	0 (0,0)	0,031
Сопутствующие ССЗ	ИБС, n (%)	11 (18,3)			-
	ПИКС, n (%)	5 (8,3)			-
	ХСН, n (%)	12 (20)			-
	ФП, n (%)	4 (6,7)			-
	ОНМК/ТИА, n (%)	4 (6,7)			-
	ПА, n (%)	24 (40)			-
Сопутствующая терапия	иАПФ, n (%)	21 (35,0)	16 (47,1)	5 (19,2)	0,009
	АРА, n (%)	12 (20,0)	10 (29,4)	2 (7,7)	0,050
	Бета-адреноблокаторы, n (%)	26 (43,3)	16 (47,1)	10 (38,5)	0,441
	АМКР, n (%)	7 (11,7)	6 (17,7)	1 (3,9)	0,121
	Статины, n (%)	19 (31,7)	17 (50,0)	2 (7,7)	<0,001
	Антикоагулянты, n (%)	11 (18,3)	7 (20,6)	4 (15,4)	0,740
	Антиагреганты, n (%)	13 (21,7)	12 (35,3)	1 (3,9)	0,004

Примечания: * значения p представлены для сравнения групп в зависимости от наличия исходных сердечно-сосудистых заболеваний, АГ – артериальная гипертензия, АМКР – антагонисты минералокортикоидных рецепторов, АРА – антагонисты рецепторов ангиотензина II, ГиШ – голова и шея, ЖКТ – желудочно-кишечный тракт, ЖПС – женская половая система, иАПФ – ингибиторы ангиотензин превращающего фермента, ИБС – ишемическая болезнь сердца, ИКТ – ингибиторы контрольных точек, МВС – мочевыделительная система, ОНМК/ТИА – острое нарушение мозгового кровообращения/транзиторная ишемическая атака, ПА – периферический атеросклероз, ПИКС – постинфарктный кардиосклероз, СД 2 – сахарный диабет 2 типа, ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания, ФП – фибрилляция предсердий, ХСН – хроническая сердечная недостаточность

Все пациенты обследованы на базе ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» МЗ РФ до старта противоопухолевой терапии (точка 0), через 3 (точка 1) и 9 (точка 2) месяцев после ее начала. Обязательный объем обследования регламентирован дизайном данного исследования и включал в себя: оценку лабораторных показателей (СРБ, тропонина I, NT-proBNP), эхокардиографическое исследование с оценкой параметров деформации левого желудочка, суточное мониторирование ЭКГ, ультразвуковое исследование сонных артерий.

При выявлении повышения маркеров повреждения сердца (тропонин I) и сердечной недостаточности (NT-proBNP), снижения систолической функции левого желудочка, появлении впервые возникших нарушений ритма сердца пациентам выполнялась магнитно-резонансная томография для верификации диагноза миокардит.

Определение уровня С-реактивного белка осуществлялось на автоматическом биохимическом анализаторе «CobasIntegra 400+» турбидиметрическим методом (C-Reactive Proteine Latex, Roche). Оценка сывороточной концентрации NT-proBNP выполнялось электрохемилюминесцентным методом на анализаторе Elecsys (Roche Diagnostic). Оценка уровня высокочувствительного тропонина выполнялась при помощи тест-систем Abbott ARCHITECT STAT High Sensitive Troponin-I на автоматическом анализаторе Abbott Architect i2000.

Серии эхокардиографических исследований выполнялись одним врачом-исследователем на аппарате Vivid 7 (General Electric, США) по стандартному эхокардиографическому протоколу согласно рекомендациям Американского общества эхокардиографии и Европейской ассоциации сердечно-сосудистой визуализации с включением оценки глобальной продольной деформации левого желудочка (GLS), специфичной для оценки сократительной способности левого желудочка у онкологических пациентов согласно совместным рекомендациям Британского эхокардиографического общества и Британского общества кардиоонкологии. Эхокардиография выполнялась с ЭКГ синхронизацией.

Ультразвуковое исследование сонных артерий проводилось на аппарате высокого разрешения Vivid 7 (General Electric, США) с использованием линейного датчика (7 МГц). Измерение комплекса интима-медиа (КИМ) выполнялось на расстоянии 1 см от бифуркации общей сонной артерии в бассейне правой и левой общей сонной артерии. Толщину КИМ определяли как расстояние между первой и второй эхогенными линиями артерии. При наличии атеросклеротического поражения учитывался участок максимального стенозирования в бассейне правой и левой сонных артерий, доступный для визуализации. Процент стенозирования рассчитывался относительно просвета сонной артерии дистальнее места стеноза по методу North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial (NASCET).

12-канальное суточное мониторирование ЭКГ (СМЭКГ) выполнялось на системе «Кардиотехника» (ИНКАРТ, Санкт-Петербург). Электроды размещены по системе Мейсона-Ликара: электроды с рук размещались в подключичных ямках медиальнее места прикрепления дельтовидной мышцы, электрод с левой ноги помещался посередине между краем реберной дуги и гребнем подвздошной кости по левой передней подмышечной линии [66].

Магнитно-резонансная томография (МРТ) сердца с контрастным усилением выполнялась на аппарате SIEMENS MAGNETOM Trio A Tim (3.0 Тл). Оценка воспалительных изменений в миокарде проводилась согласно критериям Lake-Louise: регионарное или глобальное увеличение интенсивности сигнала в миокарде на T2 взвешенных изображениях, повышенный коэффициент раннего контрастного усиления миокарда на T1 взвешенных изображениях, наличие по крайней мере одного фокального поражения с неишемическим распределением на T1 взвешенных изображениях с инверсным восстановлением – «позднее контрастное усиление». Наличие хотя бы 2 из вышеперечисленных критериев указывало на подозрение на текущий миокардит.

Для гистологического и иммуногистохимического исследований взяты образцы тканей миокарда неонкологических пациентов с ишемическим (группа 1, n=12) и

неишемическим (группа 2, n=7) генезом сердечной недостаточности. Группу сравнения (группа 0, n=10) составили онкологические пациенты без сердечно-сосудистого анамнеза и атеросклеротического поражения коронарных артерий по данным аутопсии, не получавшие неоадьювантную противоопухолевую терапию и умершие в раннем послеоперационном периоде.

Для исследования группы 1 был взят аутопсийный материал миокарда левого желудочка пациентов с анамнезом перенесенного инфаркта миокарда. Образец ткани был взят из области инфаркт-зависимой артерии на границе зоны инфаркта. Средний возраст пациентов на момент смерти составил $66,1 \pm 7,0$ лет. Для пациентов, умерших в остром периоде инфаркта миокарда (n=9), среднее время от развития симптомов острого коронарного синдрома до смерти составило $7,9 \pm 4,3$ дней. За время госпитализации 10 пациентам была выполнена ангиография со стентированием инфаркт-зависимой коронарной артерии, 1 пациенту выполнено аорто-коронарное шунтирование.

Для исследования группы 2 были использованы эксплантированные в раках ортотопической трансплантации сердца пациентов с дилатационной кардиомиопатией (ДКМП), которым предварительно был исключен ишемический и воспалительный генез сердечной недостаточности. Образец ткани был взят с передней стенки левого желудочка. Средний возраст пациентов на момент выполнения трансплантации сердца составил $52,1 \pm 9,8$ лет.

Для исследования группы 0 были взяты аутопсийные образцы ткани миокарда онкологических пациентов без сердечно-сосудистого анамнеза, которым при секционном исследовании исключено значимое атеросклеротическое поражение коронарных артерий. Образец ткани был взят с передней стенки левого желудочка. Средний возраст пациентов на момент смерти составил $59,5 \pm 12,4$ лет.

Исследуемые образцы миокарда были зафиксированы в 10% нейтральном забуференном формалине с последующим формированием парафиновых блоков. Для визуализации структуры миокарда было использовано окрашивание гематоксилином и эозином (ГЭ). Иммуногистохимическое исследование выполнено на автоматизированной системе окрашивания Autostainer Link 48 (Dako, USA) для оценки экспрессии PD-L1 и Ventana Benchmark Ultra (Roche, Switzerland) для оценки экспрессии CD3, маркера Т-лимфоцитов. Иммуностейнинг срезов тканей был выполнен с помощью мышиных моноклональных антител против PD-L1 (клон 22C3, 1:50, Dako) и кроличьим моноклональным антителом против CD3 (клон 2GV6, Ventana).

Окрашенный материал отсканирован с использованием сканирующего микроскопа Panoramic 1000 (3D Histech) с применением объектива на х60. Экспрессию исследуемых белков определяли с помощью анализа цифровых изображений, отсканированных программным обеспечением QuPath. Экспрессия CD3 оценивалась количественно. Для оценки экспрессии PD-L1 в ткани миокарда нами был разработан метод оценки комбинированной миокардиальной положительной экспрессии (combined myocardial positive score – CMPS). CMPS рассчитывался, как процент ткани миокарда с мембранной и/или цитоплазматической и/или эндотелиальной экспрессией PD-L1 по отношению ко всей площади образца. Также отдельно оценивался процент экспрессирующих вставочных дисков кардиомиоцитов (ВДК), который рассчитывался, как процент окрашенных ВДК по отношению ко всей площади продольных срезов кардиомиоцитов.

Статистический анализ выполнен с использованием программных обеспечений StatTech v. 2.7.0 и Statistica 12.

Все количественные показатели при объеме выборки менее 50 оценивались на нормальность распределения при помощи критерия Шапиро-Уилка. При нормальном распределении количественных показателей описание выполнялось с помощью средних арифметических значений (M) и стандартных отклонений (SD), границ 95% доверительного интервала (95% ДИ). При распределении количественных показателей отличном от

нормального описание выполнялось с помощью медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q1 – Q3).

Для сравнения количественных переменных, имеющих нормальное распределение, при условии равенства дисперсий применялся t-критерий Стьюдента. Сравнение количественных переменных, распределение которых отличалось от нормального, выполнялось с применением U-критерия Манна-Уитни. При сравнении нормально распределенных количественных переменных, для двух связанных выборок, использовался парный t-критерий Стьюдента. При сравнении количественных переменных с распределением отличным от нормального, для двух связанных выборок, применялся критерий Уилкоксона. Категориальные данные описывались с указанием абсолютных значений и их процентных долей в общей выборке. Сравнение бинарных переменных для двух связанных совокупностей проводилось при помощи теста МакНемара.

Оценка функции выживаемости пациентов проводилась по методу Каплана-Мейера. Графики оценки функции выживаемости представляют собой убывающую ступенчатую линию, значения функции выживаемости между точками наблюдений считаются константными.

Корреляции количественных переменных рассчитывались при помощи коэффициента корреляции Спирмана для непараметрических выборок.

Прогностическая модель, характеризующая зависимость количественной переменной от факторов, разрабатывалась с помощью метода линейной регрессии. Построение прогностической модели вероятности определенного исхода выполнялось с помощью метода логистической регрессии. Мерой определенности, указывающей на ту часть дисперсии, которая может быть объяснена с помощью логистической регрессии, служил коэффициент R^2 Найджелкерка. Статистически значимыми результаты анализа считались при значении $p < 0,05$.

Результаты исследования

Ретроспективное исследование. Включено 150 пациентов, получавших терапию ИКТ в течение 2020 года в городских онкологических стационарах Санкт-Петербурга.

Преобладающими локализациями, по поводу которых была назначена иммунная противоопухолевая терапия, были злокачественные новообразования кожи – 30%, легких – 24,7% и опухоли мочевыделительной системы – 13,3%. С меньшей частотой терапия назначалась по поводу новообразований желудочно-кишечного тракта – 10%, женской репродуктивной системы – 8,7%, опухолей головы и шеи – 7,3% и других локализаций – 6%.

По характеру противоопухолевой терапии 8,8% пациентов получали комбинированную терапию анти-CTLA4+анти-PD-1 ингибиторами, больше половины пациентов (66,7%) получали монотерапию препаратами из группы анти-PD-1 (ниволумаб, пембролизумаб) и 9,3% получали монотерапию анти-PD-L1 (атезолизумаб) ингибиторами.

Только 27,3% пациентов на старте иммунной противоопухолевой терапии не имели каких-либо ССЗ или их факторов риска. У 62% (n=93) пациентов имела место артериальная гипертензия, у 34% (n=51) – ишемическая болезнь сердца, у 25,3% (n=38) – хроническая сердечная недостаточность, у 11,3% (n=17) – ожирение, у 10% (n=15) – сахарный диабет 2 типа, с меньшей частотой встречались венозные тромбозы (8%), фибрилляция предсердий (7,3%) и нарушения мозгового кровообращения (5,3%).

Проспективное наблюдение.

Анализ развития новых сердечно-сосудистых событий. В 23,3% случаев (n=14) имели место впервые возникшие сердечно-сосудистые события, в том числе бессимптомное снижение ФВ и GLS левого желудочка, соответствующее установленным критериям кардиотоксичности (рисунок 2). Из них 4 случая (28,6%), среди которых 2 случая развития острой сердечной недостаточности, 1 ТЭЛА, 1 инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST, носили летальный характер. Медиана времени до развития событий составила 3,0 [2,2;3;8] месяцев.

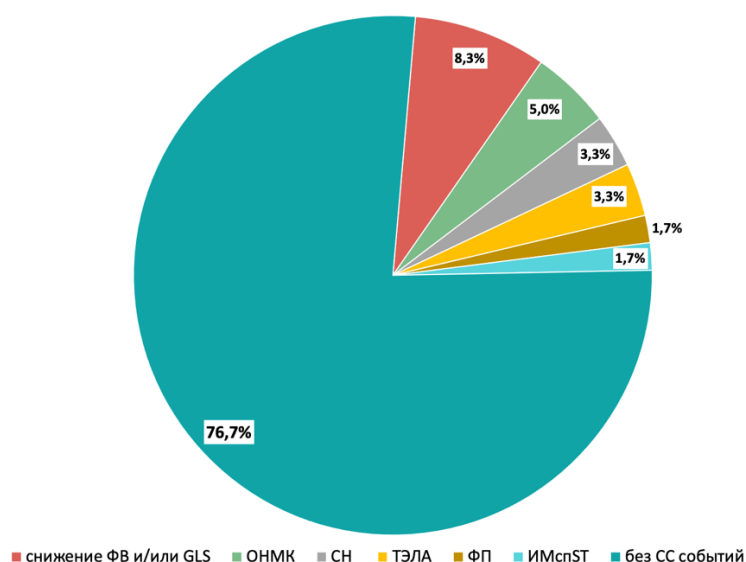


Рисунок 2 – впервые возникшие сердечно-сосудистые события на фоне терапии ингибиторами контрольных точек иммунного ответа

Примечания: ИМснST – инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST, ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения, СН – сердечная недостаточность, СС – сердечно-сосудистые, ТЭЛА – тромбоэмболия легочной артерии, ФВ – фракция выброса, ФП – фибрилляция предсердий, GLS – глобальная продольная деформация

При сравнение исходных данных пациентов с и без развития новых сердечно-сосудистых событий получены следующие результаты, представленные в таблицах 2 и 3.

Таблица 2 – Сравнение исходных клинических характеристик пациентов с и без развития новых сердечно-сосудистых событий, включая бессимптомное снижение фракции выброса и глобальной продольной деформации левого желудочка

Показатели		Без СС событий (n=46)	С СС событиями (n=14)	р
Возраст, лет		63±10	65±7	0,595
Мужской пол, n (%)		26 (56,5)	7 (50)	0,763
Локализация первичного опухолевого очага	меланома, n (%)	12 (26,1)	3 (21,4)	0,984
	легкие, n (%)	15 (32,6)	5 (35,7)	
	ЖКТ, n (%)	3 (6,5)	1 (7,1)	
	ЖПС, n (%)	2 (4,3)	0 (0,0)	
	МВС, n (%)	8 (17,4)	3 (21,4)	
	ГиШ, n (%)	4 (8,7)	1 (7,1)	
иные, n (%)	2 (4,3)	1 (7,1)		
Класс ИКТ иммунн ого	Анти-CTLA4, n (%)	1 (2,2)	0 (0,0)	0,175
	Анти-CTLA4+анти-PD-1, n (%)	9 (19,6)	2 (14,3)	
	Анти-PD-1, n (%)	31 (67,4)	7 (50,0)	
	Анти-PD-L1, n (%)	5 (10,9)	5 (35,7)	
1я линия противоопухолевой терапии, n (%)		22 (47,8)	8 (57,1)	0,761
Курение, n (%)		27 (61,4)	9 (64,3)	1,000
Артериальная гипертензия, n (%)		29 (63,0)	7 (50,0)	0,535
СД 2, n (%)		7 (15,2)	0 (0,0)	0,184
Ожирение, n (%)		12 (26,1)	0 (0,0)	0,052
Со пу тст ву	ИБС, n (%)	8 (17,4)	2 (14,3)	1,000
	ПИКС, n (%)	3 (6,5)	1 (7,1)	1,000

Сопутствующая терапия	ХСН, n (%)	10 (21,7)	2 (14,3)	0,713
	ФП, n (%)	2 (4,3)	2 (14,3)	0,230
	ОНМК/ТИА, n (%)	3 (6,5)	1 (7,1)	1,000
	Блокаторы РАС, n (%)	22 (48,9)	9 (64,3)	0,370
	Бета-адреноблокаторы, n (%)	18 (40)	8 (57,1)	0,358
	АМКР, n (%)	4 (8,9)	3 (21,4)	0,340
	Статины, n (%)	16 (35,6)	3 (21,4)	0,514
	Антикоагулянты, n (%)	7 (15,6)	4 (28,6)	0,432
Антиагреганты, n (%)	13 (28,9)	0 (0,0)	0,026	
Высокий риск кардиотоксичности по ESC/EHA/ESTRO/IC-OS 2022, n (%)		32 (69,6)	6 (42,4)	0,112

Примечания: АГ – артериальная гипертензия, АМКР – антагонисты минералокортикоидных рецепторов, ГиШ – голова и шея, ЖКТ – желудочно-кишечный тракт, ЖПС – женская половая система, ИБС – ишемическая болезнь сердца, ИКТ – ингибиторы контрольных точек, МВС – мочевыделительная система, ОНМК/ТИА – острое нарушение мозгового кровообращения/транзиторная ишемическая атака, ПИКС – постинфарктный кардиосклероз, РАС – ренин-ангиотензиновая система, СД 2 – сахарный диабет 2 типа, СС – сердечно-сосудистый, ФП – фибрилляция предсердий, ХСН – хроническая сердечная недостаточность

Таблица 3 – Сравнение исходных лабораторных и инструментальных данных пациентов с и без развития новых сердечно-сосудистых событий, включая бессимптомное снижение фракции выброса и глобальной продольной деформации левого желудочка

Показатели	Без СС событий (n=46)	С СС событиями (n=14)	p
Лабораторные данные			
Гемоглобин, г/л	134 [115;140]	129 [113;132]	0,376
Эритроциты, 10 ¹² /л	4,33±0,50	4,05±0,52	0,170
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	294 [240;353]	249 [195;365]	0,608
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	7,35 [6,13;9,93]	7,05 [6,00;10,92]	0,915
С-реактивный белок, г/л	8,55 [2,55;59,92]	5,37 [2,16;32,96]	0,378
Креатинин, мкмоль/л	76,4 [67,8;87,2]	81,9 [74,0;107,7]	0,116
Глюкоза, ммоль/л	5,51 [5,18;6,07]	4,91 [4,40;5,45]	0,084
Общий холестерин, ммоль/л	5,11±1,41	4,87±1,09	0,607
ХС-ЛПНП, ммоль/л	3,18±1,27	2,86±1,10	0,488
ХС-ЛПВП, ммоль/л	1,19 [0,92;1,39]	1,36 [1,11;1,87]	0,051
Триглицериды, ммоль/л	1,59 [1,07;2,23]	0,88 [0,67;1,13]	0,003
Тропонин I, нг/мл	0,002 [0,001;0,004]	0,005 [0,001;0,010]	0,269
NT-proBNP, пг/мл	143,95 [89,39;379,60]	263,25 [124,6;532,27]	0,260
Тиреотропный гормон, мМЕ/л	1,75 [0,89;2,62]	0,95 [0,60;1,83]	0,171
Эхокардиография			
Аорта на уровне синусов Вальсальвы, мм	35±4	35±3	0,929
Восходящий отдел аорты, мм	33 [31;36]	32 [30;35]	0,324
Левое предсердие, мм	39±6	43±11	0,111
Индекс объема левого предсердия, мл/м ²	30,2 [24,8;37,6]	35,8 [29,2;46,2]	0,174
Межжелудочковая перегородка, мм	10 [9;12]	10 [9;11]	0,600
Задняя стенка, мм	9 [9;10]	10 [9;10]	0,442
Относительная толщина сердца, отн.ед.	0,41 [0,38;0,46]	0,40 [0,38;0,44]	0,504
КДР ЛЖ, мм	48±5	48±6	0,892

КДО ЛЖ, мл	104±24	108±26	0,589
КСО ЛЖ, мл	40 [30;46]	41 [33;50]	0,523
ФВ ЛЖ (С), %	63 [59;66]	63 [58;66]	0,551
ТАPSE, см	2,3±0,3	2,3±0,5	0,960
ТАV _s , см/с	13±2	12±3	0,705
ФИП, %	43±9	47±8	0,212
S правого предсердия, см ²	16 [14;18]	17 [13;20]	0,952
Легочная артерия, мм	21 [20;23]	20 [20;22]	0,823
pСДЛА, мм.рт.ст.	30 [25;33]	30 [28;30]	0,571
Ve/Va, отн.ед.	0,84 [0,74;1,27]	1,16 [0,78;1,28]	0,405
T _{dec} , мс	207 [160;246]	197 [157;228]	0,759
GLS ЛЖ, %	-17,5±2,9	-18,5±3,8	0,352
Индекс Te _i для левого желудочка, отн.ед.	0,47 [0,43;0,54]	0,53 [0,50;0,61]	0,060
Индекс Te _i >0,5, %	40,6%	81,8%	0,034
Ультразвуковое исследование брахиоцефальных артерий			
КИМ справа, мм	0,69 [0,55;0,99]	0,72 [0,60;0,79]	0,861
КИМ слева, мм	0,70 [0,56;0,84]	0,68 [0,62;0,73]	0,670
Наличие АСБ в бассейне ОСА, %	48,5%	46,2%	1,000

Примечания: АСБ – атеросклеротическая бляшка, КДО – конечный диастолический объем, КДР – конечный диастолический размер, КИМ – комплекс интима-медиа, КСО – конечный систолический объем, ЛЖ – левый желудочек, ОСА – общая сонная артерия, pСДЛА – расчетное систолическое давление в легочной артерии, ФВ(С) – фракция выброса по Симпсону, ФИП – фракционное изменение площади правого желудочка, ХС-ЛПВП – холестерин липопротеинов высокой плотности, ХС-ЛПНП – холестерин липопротеинов низкой плотности, GLS – глобальная продольная деформация, NTproBNP – мозговой натрийуретический пропептид, ТАPSE – систолическая экскурсия кольца трехстворчатого клапана, ТАV_s – скорость движения латеральной части фиброзного кольца трикуспидального клапана, T_{dec} – время замедления раннего трансмитрального потока, Te_i – индекс производительности

Как видно из представленных данных развитие сердечно-сосудистых событий не зависело от пола, возраста, характера получаемой противоопухолевой терапии. Также не выявлено различий между группами по характеру исходной сердечно-сосудистой патологии. Назначение антиагрегантов до старта терапии ИКТ отмечено только в группе пациентов без последующего развития новых сердечно-сосудистых событий.

Анализ результатов лабораторных и инструментальных методов исследования показал наличие различий в исходном уровне триглицеридов крови с более высокими значениями у пациентов без развития сердечно-сосудистых событий и большую встречаемость в группе пациентов с развитием сердечно-сосудистых событий исходного индекса Te_i для левого желудочка, превышающего 0,5.

Стоит отметить, что у пациентов, стратифицированных в группы низкого и высокого риска развития кардиотоксичности на фоне терапии ИКТ согласно рекомендациям ESC/EHA/ESTRO/IC-OS 2022 года, частота новых сердечно-сосудистых событий не различалась.

Анализ клиничко-лабораторно-инструментальной динамики. Из 60 включенных в исследование пациентов в точке 1 (3 месяца) обследовано 34 пациента, в точке 2 (9 месяцев) – 15 пациентов. График общей выживаемости пациентов, взятых под наблюдение, представлен на рисунке 3. При межгрупповом анализе выявлены различия выживаемости, представленные на рисунке 4 (p=0,050).

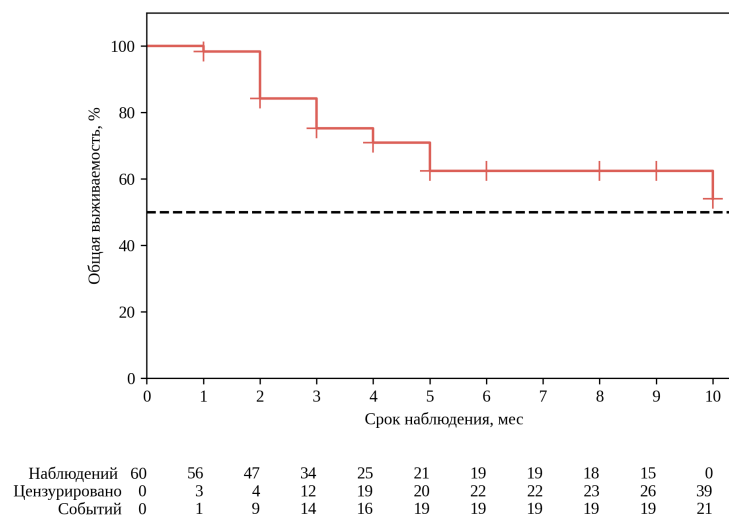


Рисунок 3 – график общей выживаемости, включенных в проспективное наблюдение пациентов

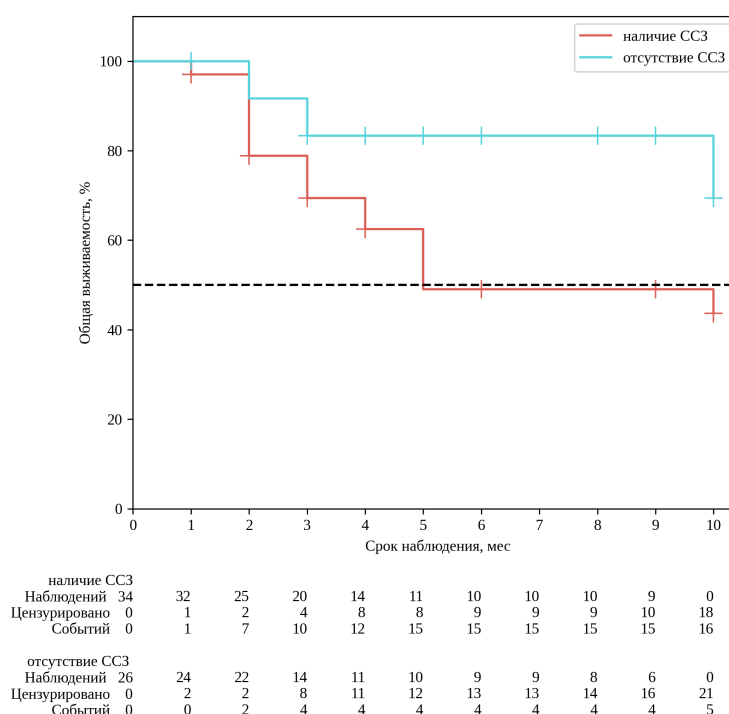


Рисунок 4 – график общей выживаемости в зависимости от наличия исходных сердечно-сосудистых заболеваний

Примечание: ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания

Через 3 месяца не установлено значимых изменений исследуемых лабораторных параметров: СРБ, тропонина I, NT-proBNP в сыворотке крови. Отмечен прирост уровня ХС-ЛПНП в общей группе (таблица 4). При межгрупповом анализе пациентов с и без исходной сердечно-сосудистой патологии значимый прирост уровня общего холестерина и ХС-ЛПНП зафиксирован в группе пациентов без исходных ССЗ ($p=0,008$ и $p=0,014$ соответственно). У пациентов с исходными ССЗ степень прироста NT-proBNP была выше в сравнении с группой сравнения (22,6 [-10,5;83,3] пг/мл против -20,4 [-85,9;7,9] пг/мл соответственно, $p=0,016$).

Таблица 4 – Трехмесячная динамика лабораторных показателей в общей группе пациентов

Параметр	0 мес (n=34)	3 мес (n=34)	p
Гемоглобин, г/л	125±17	116±21	0,085
Эритроциты, $10^{12}/л$	4,24±0,49	3,95±0,71	0,101

Тромбоциты, $10^9/\text{л}$	296±104	296±110	0,198
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	8,02±3,08	6,79±3,17	0,040
Креатинин, мкмоль/л	75,9 [66,7;87,5]	73,5 [67,8;95,3]	0,124
АЛТ, Ед/л	12 [8;2]	12 [10;26]	0,465
АСТ, Ед/л	20±10	20±7	0,843
СРБ, мг/л	4,64 [1,9;12,4]	4,4 [1,67;7,74]	0,308
Глюкоза, ммоль/л	5,49±0,88	6,02±0,91	0,080
Общий холестерин, ммоль/л	4,83±1,08	5,05±0,90	0,273
ХС-ЛПНП, ммоль/л	2,94±0,81	3,25±0,89	0,041
ХС-ЛПВП, ммоль/л	1,33 [1,15;1,49]	1,25 [1,17;1,35]	0,970
Триглицериды, ммоль/л	1,10 [0,85;1,86]	1,27 [0,80;1,39]	0,233
Тропонин I, нг/мл	0,002 [0,001;0,004]	0,002 [0,001;0,005]	0,935
NTproBNP, пг/мл	134,8 [83,7;282,4]	177,2 [86,4;258,3]	0,804
ТТГ, мМЕ/л	1,87 [0,91;2,41]	1,38 [0,47;2,75]	0,543

Примечания: АЛТ – аланинаминотрансфераза, АСТ – аспаратаминотрансфераза, ТТГ – тиреотропный гормон, ХС-ЛПВП – холестерин липопротеинов высокой плотности, ХС-ЛПНП – холестерин липопротеинов низкой плотности, СРБ – С-реактивный белок, NTproBNP – мозговой натрийуретический пропептид

Через 9 месяцев наблюдения также отсутствовала динамика СРБ, тропонина I и NT-proBNP в сыворотке крови. Однако, при отсутствии исходных различий в уровне тропонина I между группами в зависимости от наличия ССЗ, через 9 месяцев терапии ИКТ пациенты с сердечно-сосудистой патологией имели более высокие значения тропонина I, которые составили 0,004 [0,003;0,008] нг/мл для группы с ССЗ против 0,001 [0,001;0,003] нг/мл для группы без ССЗ ($p=0,031$).

Результаты эхокардиографического исследования в трех временных точках: исходно, через 3 и 9 месяцев после инициации терапии ИКТ представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Динамика параметров эхокардиографии общей группы пациентов

Параметр	0 мес (n=60)	3 мес (n=34)	9 мес (n=15)	p* 0-3мес	p** 0-9мес
Аорта на уровне синусов, мм	34,8±3,7	34,6±3,6	35,4±3,5	0,325	0,012
Восходящая аорта, мм	33,5±4,6	33,6±5,2	35,1±6,0	0,110	0,046
Левое предсердие, мм	40 [35;44]	38 [35;45]	40 [36;46]	0,650	0,013
Объем левого предсердия, мл	56 [48;73]	62 [49;71]	66 [52;74]	0,872	0,131
ИОЛП, мл/м ²	32,0 [25,6;38,8]	33,3 [28,6;37,5]	37,2 [34,0;40,5]	0,327	0,057
МЖП, мм	10±2	10±2	11±1	0,682	0,239
ЗС, мм	9±1	9±1	9±1	0,386	0,512
КДР ЛЖ, мм	48±5	47±9	47±3	0,828	0,347
ОТС, отн.ед.	0,42±0,06	0,39±0,05	0,42±0,04	0,176	0,603
КДО ЛЖ, мл	105,1±24,4	106,5±20,9	96,8±21,6	0,397	1,000
КСО ЛЖ, мл	40 [30;36,5]	40 [34;47]	40 [34;46]	0,026	0,044
ФВ ЛЖ (С), %	63 [60;66]	62 [58;66]	59 [58;64]	0,043	0,012
Правый желудочек, мм	29,7±3,6	30,4±3,1	31,6±3,3	0,364	0,011
ТАРСЕ, см	2,3±0,3	2,3 [2,0;2,5]	2,4 [2,2;2,5]	0,489	0,220
ТАVs, см/с	13±2	12±2	12 [11;14]	0,911	0,205
ФИП, %	44±9	43±8	46±9	0,522	0,858

Легочная артерия, мм	21±3	21 [20;23]	23±3	0,406	0,276
pСДЛА, мм.рт.ст	30 [25;32]	28 [25;36]	30±11	0,216	0,870
Максимальная скорость на АК, м/с	1,3 [1,2;1,5]	1,3 [1,1;1,5]	1,2±0,2	0,970	0,255
Максимальный градиент на АК, мм рт.ст.	7,0 [5,7;9,0]	6,2 [5,4;9,0]	6,3±1,8	0,812	0,365
Ve/Va, отн.ед.	0,87 [0,74;1,27]	1,00±0,35	0,87±0,35	0,677	0,471
Tdec, мс	206±66	223 [159;257]	220 [153;244]	0,846	0,057
GLS ЛЖ, %	-17,8±3,1	-18,1±2,8	-17,1±3,0	0,611	0,945
Индекс Tei для ЛЖ, отн.ед.	0,49 [0,43;0,56]	0,53 [0,48;0,61]	0,53±0,10	0,074	0,449
Индекс Tei для ПЖ, отн.ед.	0,51 [0,42;0,60]	0,51±0,17	0,48±0,10	0,603	0,112

Примечания: * - значения p представлены для попарно связанных выборок между месяцами 0 и 3 (n=34), ** - значения p представлены для попарно связанных выборок между месяцами 0 и 9 (n=15), АК – аортальный клапан, ЗС – задняя стенка, ИОЛП – индекс объема левого предсердия, КДО – конечный диастолический объем, КДР – конечный диастолический размер, КСО – конечный систолический объем, ЛЖ – левый желудочек, МЖП – межжелудочковая перегородка, ОТС – относительная толщина стенок, ПЖ – правый желудочек, pСДЛА – расчетное систолическое давление в легочной артерии, ФВ(С) – фракция выброса по Симпсону, ФИП – фракционное изменение площади правого желудочка, GLS – глобальная продольная деформация, TAPSE – систолическая экскурсия кольца трехстворчатого клапана, TAVs – скорость движения латеральной части фиброзного кольца трикуспидального клапана, Tdec – время замедления раннего трансмитрального потока, Tei – индекс производительности

На этапе 3-месячного контроля установлено увеличение КСО с 38±12мл до 41±11мл, снижения ФВ левого желудочка с 64% [61;66] до 62% [58;66] и тенденция к повышению индекса Tei левого желудочка с 0,47 [0,42;0,51] до 0,53 [0,48;0,61] в общей группе пациентов. При межгрупповом анализе снижение ФВ левого желудочка с 65% [61;67] до 62% [58;64] сохранялось в группе пациентов с исходными ССЗ. В этой же группе отмечен прирост диаметра восходящей аорты на уровне синусов Вальсальвы с 34±3мм до 35±4мм (рисунок 5).

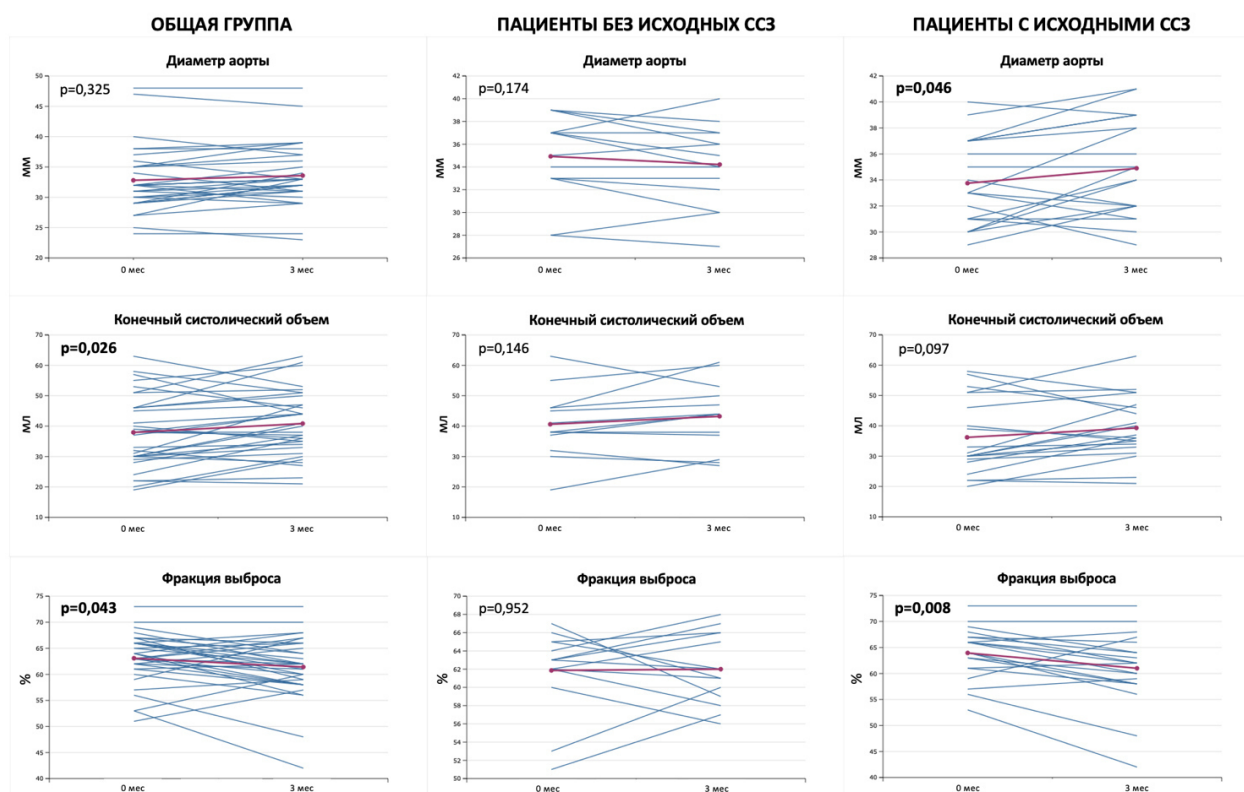


Рисунок 5 – трехмесячная динамика диаметра аорты, конечного систолического объема, фракции выброса левого желудочка в исследуемых группах

Примечания: КСО – конечный систолический объем, ЛЖ – левый желудочек, ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания, ФВ – фракция выброса

На этапе 9-месячного контроля в общей группе пациентов сохранялось продолжающееся увеличение КСО с 35 ± 10 мл до 40 ± 9 мл, снижение ФВ левого желудочка с $64 \pm 4\%$ до $60 \pm 6\%$. Выявлены прирост диаметра аорты на уровне синусов Вальсальвы с 34 ± 4 мм до 35 ± 4 мм и в восходящем отделе с 33 ± 6 мм до 35 ± 6 мм, увеличение размеров левого предсердия с $36 [34;42]$ мм до $40 [36;46]$ мм и размеров правого желудочка с 29 ± 3 мм до 32 ± 3 мм (таблица 5). При межгрупповом анализе динамика КСО в сторону увеличения с 33 ± 10 мл до 41 ± 11 мл ($p=0,041$) и динамика ФВ левого желудочка в сторону снижения с $64 \pm 5\%$ до $58 \pm 7\%$ ($p=0,004$) сохранялась в группе пациентов с исходными ССЗ.

Динамика результатов суточного мониторинга ЭКГ представлена в таблице 6. По данным СМЭКГ через 3 месяца наблюдения отмечено увеличение доли пациентов с нарушениями дыхания во время сна, выявлен значимый прирост эпизодов апноэ и гипопноэ. При межгрупповом анализе прирост доли пациентов с нарушениями ночного дыхания наблюдался только у пациентов с исходными ССЗ в сравнении с группой без ССЗ ($p=0,046$ и $p=0,317$ соответственно).

Таблица 6 – Трехмесячная динамика суточного мониторинга электрокардиограммы

Параметр	0 мес (n=24)	3 мес (n=24)	p
Минимальная ЧСС, уд/мин	56 [48;59]	54 [48;57]	0,757
Максимальная ЧСС, уд/мин	124 ± 18	126 ± 21	0,690
Среднесуточная ЧСС, уд/мин	75 ± 9	75 ± 11	0,950
Доля пациентов с достижением субмаксимальной ЧСС, %	50	50	1,000
Желудочковая экстрасистолия, n	8 [4;33]	22 [4;60]	0,068
Время желудочковой экстрасистолии, n	0,01 [0,00;0,03]	0,02 [0,00;0,06]	0,160
Наджелудочковая экстрасистолия, n	82 [18;376]	62 [31;376]	0,709

Доля пациентов с пароксизмами наджелудочковой тахикардии, %	45,8	45,8	1,000
Доля пациентов с наличием пауз >2 секунд, %	12,5	8,3	0,564
Максимальный интервал PQ, мсек	189 ± 29	198 ± 26	0,076
Максимальный интервал QT, мсек	476 ± 16	474 ± 13	0,499
Доля пациентов с наличием нарушений ночного дыхания, %	60	90	0,034
Количество эпизодов апноэ, n	0 [0;12]	13 [4;28]	0,055
Количество эпизодов гипопноэ, n	2 [0;6]	8 [0;25]	0,099
Количество эпизодов апноэ+гипопноэ, n	8 [2;20]	22 [10;61]	0,044

По данным ультразвукового исследования сонных артерий не выявлено увеличения толщины КИМ в процессе динамического наблюдения. Отмечено увеличение через 3 месяца доли пациентов с атеросклеротическим поражением в бассейне ОСА с 44% до 60%. А доля пациентов с увеличением степени стенозирования, включая появление новых АСБ, составила 34,6%. При межгрупповом анализе отмечена тенденция к появлению новых атеросклеротических бляшек в группе пациентов без исходных ССЗ.

Анализ предиктивных факторов развития сердечно-сосудистых событий и изменения состояния сердечно-сосудистой системы. При анализе зависимости развития сердечно-сосудистых событий от наличия исходных сердечно-сосудистых заболеваний достоверных взаимосвязей выявлено не было ($p=0,386$).

В группе пациентов с развитием нетромбоэмболических сердечно-сосудистых событий исходное значение индекса Te_i левого желудочка было значимо выше в сравнении с остальными пациентами и составило 0,53 [0,50;0,64] и 0,47 [0,42;0,54] соответственно ($p=0,035$). При бинарном логистическом регрессионном анализе индекс Te_i до старта терапии ИКТ показал себя, как независимый предиктор развития нетромбоэмболических сердечно-сосудистых событий. Наблюдаемая зависимость описывается формулой (1):

$$P = 1 / (1 + e^{-z}) \times 100\%; z = -4,933 + 6,681X_{Te_i} (1)$$

где P – вероятность развития нетромбоэмболических событий;

X_{Te_i} – исходное значение индекса Te_i

Полученная регрессионная модель является статистически значимой ($p = 0,012$) и объясняет 21,5% наблюдаемой дисперсии.

Среди пациентов, умерших от любых причин, в том числе больших сердечно-сосудистых событий, исходный уровень СРБ был значимо выше, чем в группе пациентов, оставшихся под наблюдением (42,08 [6,31;65,03] против 5,16 [2,05;19,55], $p=0,030$). По результатам ROC-анализа площадь под ROC-кривой составила $0,673 \pm 0,007$ с 95% ДИ: 0,523 – 0,823. Полученная прогностическая модель была статистически значимой ($p=0,030$). Пороговое значение СРБ в точке cut-off, которому соответствовало неивысшее значение индекса Юдена, составило 23,69 мг/л. Чувствительность и специфичность – 60% и 75,5% соответственно.

В ходе регрессионного анализа ΔTe_i левого желудочка на этапе 3-месячного контроля стала независимым предиктором дальнейшего выбытия пациентов из исследования по любым причинам (смерть, прогрессирование, тяжелые сердечно-сосудистые события). Полученная зависимость описывается формулой (2):

$$P = 1 / (1 + e^{-z}) \times 100\%; z = -1,315 + 10,581X_{\Delta Te_i} (2)$$

где P – вероятность дальнейшего выбытия из исследования;

$X_{\Delta Te_i}$ – значение ΔTe_i через 3 месяца от старта противоопухолевой терапии

Полученная регрессионная модель является статистически значимой ($p=0,003$) и объясняет 45,9% наблюдаемой дисперсии ΔTe_i . В ходе ROC анализа пороговое значение ΔTe_i , выше которого прогнозировалось выбытие пациентов из-под наблюдения, составило 0,11. Чувствительность и специфичность составили 77,8% и 91,7% соответственно ($p=0,008$).

Выявлена умеренная отрицательная корреляция ($r = -0,463$, $p = 0,007$) между возрастом пациентов на момент старта противоопухолевой терапии и Δ ФВ левого желудочка. Чем выше исходный возраст пациента, тем более отрицательным было значение Δ ФВ левого желудочка.

В ходе множественного регрессионного анализа выявлены наиболее значимые предикторы степени изменения ФВ левого желудочка, представленные в таблице 7.

Таблица 7 – Анализ зависимости показателя " Δ ФВ" от переменных, включенных в предиктивную модель

	B	Стд. ошибка	t	p
Intercept	-35,921	5,841	-6,150	< 0,001*
СД 2	4,067	1,625	2,503	0,019*
Ожирение	4,153	1,452	2,860	0,008*
NT-proBNP, пг/мл	-0,001	0,001	-2,074	0,048*
Прием статинов	-3,887	1,203	-3,231	0,003*
ФВ ЛЖ (С), %	0,566	0,096	5,925	< 0,001*

Примечания: СД 2 – сахарный диабет 2 типа, ФВ (С) – фракция выброса левого желудочка по Симпсону, NT-proBNP – мозговой натрийуретический пропептид

Полученная модель описывается следующей формулой (3) линейной регрессии:

$$Y_{\Delta\text{ФВ}} = -35,921 + 4,067X_1 - \text{да} + 4,153X_2 - \text{да} - 0,001X_{\text{NTproBNP}} - 3,887X_3 - \text{да} + 0,566X_{\text{ФВ}} \quad (3)$$

где X_1 – анамнез сахарного диабета 2 типа;

X_2 – анамнез ожирения;

X_3 – прием статинов

Модель характеризуется коэффициентом корреляции $r_{xy} = 0,808$, что соответствует высокой тесноте связи по шкале Чеддока. Модель была статистически значимой ($p < 0,001$) и объясняет 65,3% наблюдаемой дисперсии показателя " Δ ФВ".

Гистологическое и иммуногистохимическое исследование. В таблице 8 приведено сравнение клинических, эхокардиографических и иммуногистохимических характеристик исследуемых групп.

Таблица 8 – Клинические, эхокардиографические и иммуногистохимические характеристики экспериментальных групп

Параметр	ИБС (n=12)	ДКМП (n=7)	Контроль (n=10)	p*	p**	p***
Возраст, лет	66,1±7.0	52,1±9.8	59,5±12,4	0,008	0,197	0,186
Мужчины, n (%)	12 (100)	4 (57,1)	6 (60)	0,036	0,029	1,000
ФВ (С), %	34,9±7,2	20,3±7,1	64,0±7,0	0,005	<0,001	<0,001
КДО ЛЖ, мл	194,3±64,2	275,0±82,2	нет данных	0,071	-	-
CD3, кл/мм ²	15,3 [8;19]	4 [3;5]	0 [0;2]	0,013	<0,001	0,005
Мембранная экспрессия PD-L1, n (%)	5 (41,7)	0 (0)	0 (0)	0,068	<0,001	1,000
Цитоплазматическая экспрессия PD-L1, n (%)	10 (83,3)	7 (100)	2 (20)	0,386	0,008	0,002
Эндотелиальная экспрессия PD-L1, n (%)	4 (33,3)	0 (0)	0 (0)	0,127	0,646	1,000
Экспрессия PD-L1 в ВДК, n (%)	7 (58,3)	7 (100)	0 (0)	0,068	0,099	<0,001
PD-L1 в ВДК, %	1 [0;32,5]	90 [85;100]	0	0,003	0,005	<0,001
PD-L1 CMPS, %	10 [5;17,5]	90 [30;100]	0	0,001	<0,001	<0,001

Примечания: * - значение p для сравнения групп ИБС и ДКМП, ** - значение p для сравнения групп ИБС и контроль, *** - значение p для сравнения групп ДКМП и контроль, ВДК –

вставочные диски кардиомиоцитов, ДКМП – дилатационная кардиомиопатия, ИБС – ишемическая болезнь сердца, КДО ЛЖ – конечный диастолический объем левого желудочка, ФВ (С) – фракция выброса по Симпсону, CMPS – комбинированное значение позитивной миокардиальной экспрессии

Медиана CD3 позитивных клеток в образцах 1 группы (ИБС) составила 15,3 [8;19] клеток/мм². Пациентам с ДКМП по данным эндомикардиальной биопсии предварительно был исключен воспалительный генез сердечной недостаточности, медиана CD3 позитивных клеток составила 4 [3;5] клеток/мм².

В обеих исследуемых группах была выявлена экспрессия PD-L1 в цитоплазме кардиомиоцитов и ВДК. Только в образцах от пациентов с ишемическим генезом сердечной недостаточности (группа 1) зафиксирована мембранная и эндотелиальная экспрессия PD-L1. Особенностью цитоплазматической и мембранной экспрессии PD-L1 в 1 группе была большая ее интенсивность в периваскулярных зонах образцов. В образцах пациентов без сердечно-сосудистой патологии не выявлено специфических паттернов экспрессии PD-L1 (рисунок 6).

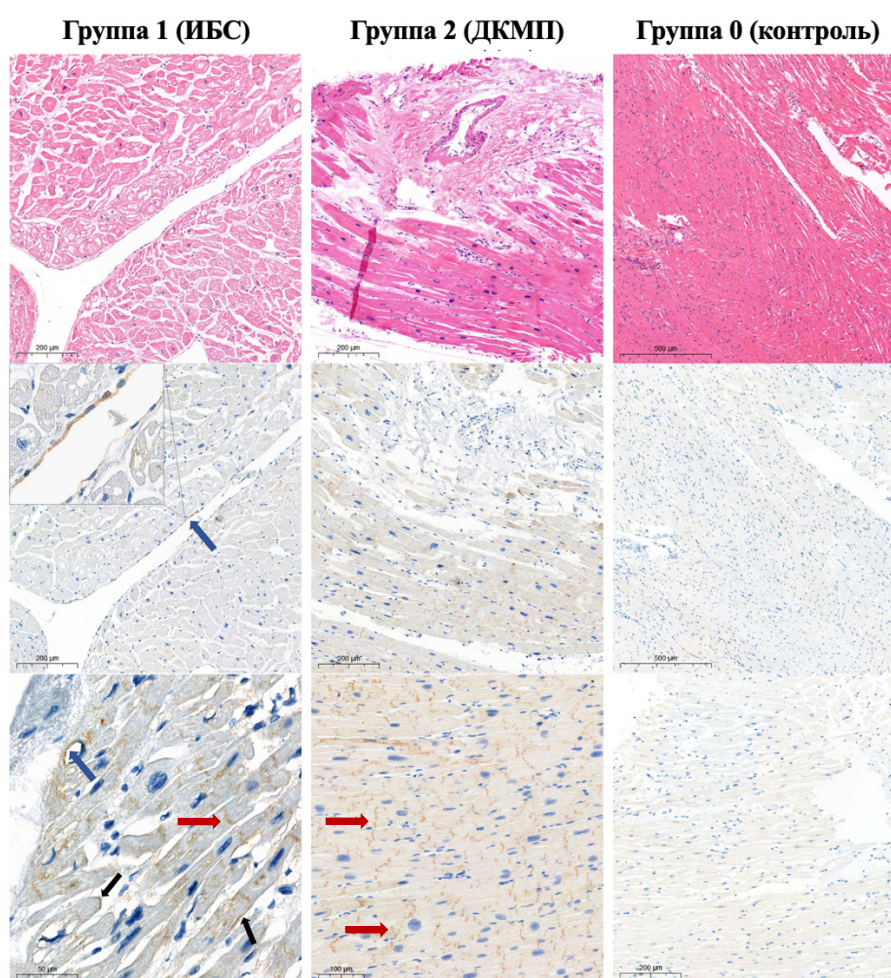


Рисунок 6 – Паттерны экспрессии PD-L1 в исследуемых группах

Примечания: верхний ряд – гематоксилин эозин исследуемых образцов, ДКМП – дилатационная кардиомиопатия, ИБС – ишемическая болезнь сердца, красные стрелки – экспрессия PD-L1 во вставочных дисках кардиомиоцитов, синие стрелки – эндотелиальная экспрессия PD-L1, черные стрелки – мембранная экспрессия PD-L1

У всех пациентов с сердечной недостаточностью выявлена положительная корреляция между CMPS и КДО левого желудочка ($R = 0,670$, $p = 0,003$) и экспрессирующими ВДК и КДО левого желудочка ($R = 0,539$, $p = 0,026$). Также имелась отрицательная корреляция между CMPS и ФВ ($R = -0,628$, $p = 0,005$) и экспрессирующими ВДК и ФВ ($R = -0,680$, $p =$

0,002). При разделении групп статистически значимая закономерность сохранялась только у пациентов с ДКМП между экспрессирующими ВДК и ФВ ($R = -0,861$, $p = 0,013$).

В группе пациентов с ИБС выявлена значимая положительная корреляция количества лейкоцитов с CMPS и экспрессией PD-L1 в ВДК ($R = 0,626$, $p = 0,030$ и $R = 0,766$, $p = 0,004$ соответственно) и количества нейтрофилов с CMPS и экспрессией PD-L1 в ВДК ($R = 0,789$, $p = 0,003$ и $R = 0,844$, $p = 0,001$ соответственно).

Выводы

1. Меньше трети пациентов (27,3%) до старта противоопухолевого лечения не имеют сердечно-сосудистых заболеваний или факторов риска, а наиболее частыми коморбидными состояниями являются артериальная гипертензия, ишемическая болезнь сердца и хроническая сердечная недостаточность.

2. Частота развития сердечно-сосудистых событий на фоне иммунной противоопухолевой терапии составила 23,3%. Пациенты с сердечно-сосудистыми осложнениями исходно имели более низкие значения триглицеридов крови, реже получали антиагрегантную терапию и чаще имели индекс Tei левого желудочка, превышающий 0,5.

3. Иммунная противоопухолевая терапия сопровождается увеличением таких эхокардиографических параметров, как диаметр восходящей аорты, размер левого предсердия, конечный систолический объем левого желудочка, размер правого желудочка и снижением фракции выброса левого желудочка. Увеличение конечного систолического объема и снижение фракции выброса левого желудочка наблюдалось только у пациентов с исходной сердечно-сосудистой патологией.

4. Определены основные паттерны экспрессии PD-L1 в ткани миокарда у пациентов с сердечной недостаточностью различной этиологии. Мембранный и эндотелиальный паттерны экспрессии характерны для пациентов с сердечной недостаточностью ишемического генеза, а цитоплазматическая экспрессия и экспрессия PD-L1 во вставочных дисках кардиомиоцитов определялись у всех пациентов с сердечной недостаточностью независимо от этиологии. Установлена положительная корреляционная связь между объемом экспрессии PD-L1 в миокарде и конечным диастолическим объемом левого желудочка, отрицательная корреляционная связь с фракцией выброса левого желудочка и положительная корреляционная связь с уровнем лейкоцитов и нейтрофилов периферической крови.

5. Исходное значение индекса Tei левого желудочка является предиктором развития нетромбоэмболических сердечно-сосудистых событий на фоне иммунной противоопухолевой терапии ингибиторами контрольных точек, тогда как исходный уровень С-реактивного белка служит предиктором летального исхода от любых причин.

6. Анамнез сахарного диабета 2 типа, ожирение, исходная фракция выброса левого желудочка, мозговой натрийуретический пропептид крови и назначение статинов могут рассматриваться в качестве предикторов снижения фракции выброса левого желудочка на фоне иммунной противоопухолевой терапии ингибиторами контрольных точек.

Практические рекомендации

1. Онкологическим пациентам с показаниями к применению иммунной противоопухолевой терапии ингибиторами контрольных точек рекомендовано проведение эхокардиографического исследования до старта и на фоне иммунотерапии по расширенному протоколу с оценкой индекса Tei левого желудочка.

2. В дополнение к рутинному кардиоонкологическому обследованию, предусмотренному текущими рекомендациями, рекомендовано выполнение ультразвукового исследования сонных артерий до старта противоопухолевой терапии и в динамике с целью оценки темпов прогрессирования атеросклероза.

3. Выполнение суточного мониторинга электрокардиограммы с оценкой эпизодов нарушения ночного дыхания может быть оправдано с целью выявления пациентов из группы повышенного риска развития сердечно-сосудистых событий.

Перспективы дальнейшей разработки темы исследования

Представляется перспективным проведение дальнейших проспективных наблюдений с оценкой клинической значимости развития бессимптомной систолической дисфункции на фоне терапии ингибиторами контрольных точек в отдаленной перспективе. Целесообразно изучение вопроса о вкладе антиагрегантов в риск развития ишемических сердечно-сосудистых событий с возможностью определения особых показаний к инициации антиагрегантной терапии для пациентов, планирующих терапию ингибиторами контрольных точек. Изучение механизмов развития и прогностической ценности выявления нарушений ночного дыхания может иметь дополнительное значение в риск-стратификации онкологических пациентов. Отдельный интерес представляет проведение дальнейших исследований, спланированных по типу случай-контроль, с анализом общей выживаемости онкологических пациентов на фоне терапии ингибиторами контрольных точек иммунного ответа, подвергающихся специализированному кардиоонкологическому наблюдению, и пациентов, получающих терапию в стандартных условиях, с целью определения клинически и экономически целесообразного объема обследования пациентов на фоне данного вида противоопухолевого лечения. Дальнейшие исследования с изучением роли PD-1/PD-L1 сигнального пути в развитии и течении отдельных сердечно-сосудистых заболеваний, а также дальнейшее проспективное наблюдение с включением большего числа пациентов на фоне иммунной противоопухолевой терапии позволят внести существенный вклад в понимание механизмов развития сердечно-сосудистых событий, ассоциированных с ингибиторами контрольных точек, и стратификацию риска развития жизнеугрожающих осложнений.

Список публикаций автора по теме диссертационного исследования

1. Кушнарeва, Е.А. Миокардиты, ассоциированные с терапией ингибиторами контрольных точек: систематический анализ клинических случаев / Е.А. Кушнарeва, О.М. Моисеева // *Российский кардиологический журнал*. – 2020. – Т.25. №11. – С.185-191
2. Кушнарeв, В.А. Оценка в биоптатах немелкоклеточных карцином легкого экспрессии PD-L1 с применением алгоритма нейросетевого анализа / В.А. Кушнарeв, Н.А. Матяшина, В.А. Шапкина [и др.] // *Архив патологии*. – 2020. – Т.82. №6. – С.24-28
3. Кушнарeва, Е.А. Оценка сердечно-сосудистой коморбидности онкологических пациентов и анализ потенциальных факторов риска сердечно-сосудистых осложнений терапии Checkpoint-ингибиторами / Е.А. Кушнарeва, Т.Н. Шугинова // *Российский кардиологический журнал*. – 2021. – Т.26. №12. – С.66-70
4. Kushnareva, E. Myocardial PD-L1 Expression in Patients With Ischemic and Non-ischemic Heart Failure / E. Kushnareva, V. Kushnarev, A. Artemyeva [et al.] // *Frontiers in cardiovascular medicine*. – 2022. – Vol.8. №759972. – С.1-8
5. Kushnareva, E. Case Report: Multiple Causes of Cardiac Death After the First Infusion of Atezolizumab: Histopathological and Immunohistochemical Findings / E. Kushnareva, M. Stepanova, E. Artemeva [et al.] // *Frontiers in immunology*. – 2022. – Vol.13. №871542. – С.1-5
6. Кушнарeва, Е.А. Систематический анализ клинических случаев развития аутоиммунного миокардита на фоне противоопухолевой терапии ингибиторами контрольных точек иммунного ответа / Е.А. Кушнарeва, О.М. Моисеева // *Материалы конгресса «Российский национальный конгресс кардиологов»* – Казань, 2020. – С. 612
7. Кушнарeва, Е.А. Гистологическое и иммуногистохимическое исследование миокарда пациента, умершего после первого введения анти-PD-1 Checkpoint-ингибитора / Е.А. Кушнарeва, М.С. Степанова, Т.Н. Шугинова [и др.] // *Материалы конгресса «Российский национальный конгресс кардиологов»* – Казань, 2022. – С. 363
8. Кушнарeва, Е.А. Динамика состояния сердечно-сосудистой системы на фоне противоопухолевой терапии Checkpoint-ингибиторами / Е.А. Кушнарeва, Н.Д. Гаврилюк, Т.Н. Шугинова [и др.] // *Материалы конгресса «Российский национальный конгресс кардиологов»* – Казань, 2022. – С. 368