toksik_1_2_2013:toksik_1_2_2013.qxd 27.06.2013 9:58 Page 81

УДК 615.2; 615.22;615.33; 616.091.8

ТОКСИКОДИНАМІКА ДОКСОРУБІЦИНУ (морфологічне дослідження)

С.В. Пакришень, асп., М.А. Мохорт, д.мед.н., проф.
ДУ " Інститут фармакології та токсикології АМН України", м. Київ

РЕЗЮМЕ. *. В експериментах на білих щурах встановлено, що в процесі формування доксорубіцинової кардіоміопатії (чотирикратне введення доксорубіцину в дозі 5,0 мг/кг з інтервалом 1 тиждень) гине 29% тварин, протягом наступних 14 днів спостереження загибель тварин зростає до 47%. При розтині загиблих тварин, окрім кардіальних ускладнень, виявляються виражені патологічні зміни (дистрофії, некрози, запальна інфільтрація) в нирках, печінці, легенях, селезінці. В більш ранні строки летальності в органах тварин виражені позакардіальні зміни органів та систем за відсутності виражених ознак прогресування серцевої недостатності, що підтверджує наявність у доксорубіцину як кардіотоксичної, так і загальнотоксичної дії.*
Ключові слова: доксорубіцин, антрациклінові антибіотики, кардіотоксичність.

РЕЗЮМЕ. *В опытах на белых крысах установлено, что в процессе формирования доксорубициновой кардиомиопатии (четырехкратное введения доксорубицина в дозе 5,0 мг/кг с интервалом 1 неделя) погибает 29% животных, в течение следующих 14 дней наблюдения гибель животных возрастает до 47%. При вскрытии погибших животных, кроме кардиальных осложнений, определяются выраженные патологические изменения (дистрофии, некрозы, воспалительная инфильтрация) в почках, печени, легких, селезенке. В более ранние сроки летальности, в органах животных выражены внекардиальные изменения органов и систем при отсутствии явных признаков прогрессирования сердечной недостаточности, что подтверждает наличие у доксорубицина как кардиотоксического, так общетоксического действия.*
Ключевые слова: доксорубицин, кардиотоксичность, кардиомиопатия.

SUMMARY. *According to our experimentel test 29% of rats died due to Doxorubicin's cardiomyopathy formation process (four injections of doxorubicin in a dose of 5,0 mg/kg with an intervals of 1 week were performed). The animals' death increased to 47% in the following 14 days after. After animals' autopsy being done the distinct pathological changes (dystrophy, necrosis, inflammatory, infiltration) in kidneys, liver, lungs and spleen including cardiac complications were registered. In the earlier mortality period the extracardiac organs' changes were found excluding the exposed heart failure progression signs, that confirm the cardiotoxicity and systemic toxicity of Doxorubicin.*
Key words: Doxorubicin, cardiotoxicity, cardiomyopathy.

Значне місце серед методів лікування злоякісних пухлин займає хіміотерапія, яка часто супроводжується розвитком побічних реакцій по відношенню до активно функціонуючих (проліферуючих) клітин різних органів і тканин (Зборовський А.Б., Тюренков Н.Н., 2003). Антрацикліни відносяться до хіміотерапевтичних антимітотичних антибіотиків, які покращують прогноз при лейкеміях, лімфомах, деяких солідних пухлинах (3). Найтяжчим ускладненням при застосуванні антрациклінів є їх кардіотоксичність, що в подальшому призводить до розвитку застійної серцевої недостатності. Але окрім кардіальних ушкоджень, доксорубіцин справляє загальнотоксичний вплив на всі органи та системи, що призводить до погіршення якості життя та передчасної смерті онкологічних хворих (1, 3). Найчастіше зустрічаються гематологічні (тромбоцитопенія, лейкопенія, анемія) та гастроінтестинальні ускладнення (стоматит, езофагіт, блювання, діарея), алергічні реакції (кропивниця, анафілактоїдні реакції), порушення функції репродуктивної та видільної систем (2,4,5). У даному дослідженні для вивчення некардіальних ускладнень використовується доксорубіцин, що має зальнотоксичну та кардіотоксичну дію.

Метою роботи було вивчення морфологічних змін органів щурів при застосуванні доксорубіцину.

Матеріали та методи. Дослідження проводилось на 34 статевозрілих білих щурах обох статей, яким внутрішньоочеревинно вводили доксорубіцин у дозі 5,0 мг/кг маси тіла тварини чотири рази з інтервалом 1 тиждень. Спостереження за тваринами проводили не лише протягом 28 діб формування патологічного процесу, а й протягом наступних 14 діб після закінчення введення доксорубіцину. Об'єктом морфологічного дослідження слугував міокард лівого шлуночка серця, фрагменти нирок, печінки, легень, селезінки, кишечнику. Шматочки органів фіксували в 10% розчині нейтрального формаліну та рідині Карнуа, за стандартизованою методикою зневоднювали в етанолі зростаючої концентрації й поміщали в парафін. Гістологічні зрізи органів товщиною 4-5 мкм фарбували гематоксиліном і еозином. Гістологічні препарати (зрізи) фотографували за допомогою фотоапарату Canon PowerShot A510 на мікроскопі Leica DM LS2.

Результати та їх обговорення. На фоні введення доксорубіцину відмічено, що при збільшенні терміну спостереження стан тварин прогресивно погіршувався, спостерігалось зниження рухової активності, зниження маси тіла, зменшення вживання їжі та води, аж до повної відмови деяких тварин, зміни шерсті — настовбурченість та злипання, серозні виділення з носу та очей, скупченість тварин у кутках кліток.

toksik_1_2_2013:toksik_1_2_2013.qxd 27.06.2013 9:58 Page 82

При спостереженні за тваринами виявлено, що на першому тижні застосування доксорубіцину загинули 2 тварини, що становить 2,5 % , протягом наступного тижня введення доксорубіцину кількість загиблих тварин не змінилась (2 тварини), протягом 3 тижнів розвитку патологічного процесу загинуло ще 8 тварин. На 28 день експерименту кількість загиблих тварин становила 10 особин (29 %), кількість загиблих тварин на 7 добу після закінчення експерименту — 14 осіб (41 %), на 14 добу — 16 тварин (47%).

При розтині загиблих тварин у деяких особин виявлено: збільшення та дряблість печінки з ознаками жирової дистрофії, збільшення та розм'якшення селезінки, повнокрів'я, вогнищеві крововиливи та змазаність меж кіркового та мозкового шарів нирок, наявність ексудату в плевральних порожнинах, вогнищеве ущільнення легеневої тканини, тьмяність парієтального та вісцерального листків очеревини за рахунок нашарувань фібрину, помірна кількість мутноватого ексудату з фібрином у черевній порожнині.

Макроскопічно виявляється помірне розширення порожнин серця, в яких містяться згустки крові, ендокард гладкий, блискучий, в деяких випадках — ознаки пристінкового тромбозу; міокард з вогнищами нерівномірного кровонаповнення та дрібними вогнищами склерозу, які більш виражені в пізні терміни загибелі. Мікроскопічно в міокарді має місце мозаїчність будови внаслідок чергування м'язових волокон з ділянками атрофії та міоцитолізу, в деяких зонах поперечна посмугованість майже не визначається. Виявляються дрібновогнищеві ділянки некрозу та розростання сполучної тканини. Явища альтерації та атрофії кардіоміоцитів супроводжують вогнищевий набряк та проліферація клітинних елементів міокарда (рис 1). Інтрамуральні кровоносні судини з плазматичним просоченням стінки та периваскулярним набряком, в просвіті розширених повнокровних судин виявляються ознаки сладжу та агрегації тромбоцитів (рис. 2), подекуди мають місце вогнищеві периваскулярні крововиливи та зони нерівномірного кровонаповнення.

Печінка загиблих тварин дещо збільшена в розмірах, м'якуватої консистенції, на розрізі коричнево-жовтого кольору з крововиливами. При мікроскопічному дослідженні печінки загиблих тварин спостерігаються альтеративні зміни гепатоцитів. Мають місце фокальні некрози з лімфоцитарною інфільтрацією як навколо самих вогнищ некрозу, так і в перипортальній зоні (рис. 3). У більшості загиблих тварин поширені дистрофічні зміни гепатоцитів у вигляді жирової та

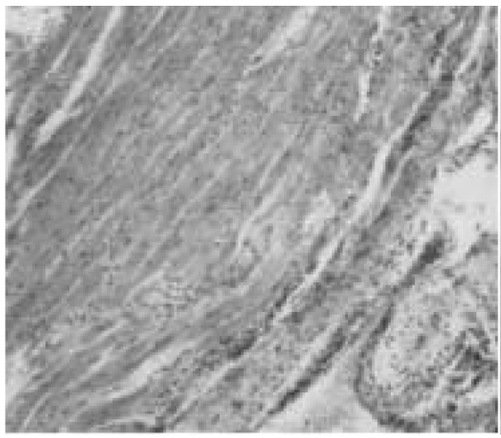

Рис 1. Явища осередкового міоцитолізису та організації в міокарді щура. Фарбування гематоксиліном і еозином. х 100.

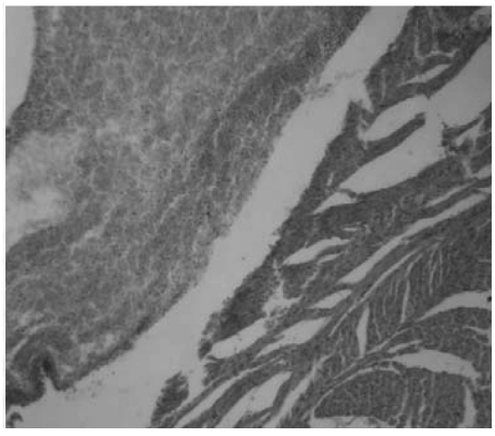

Рис 2. Пристінковий тромбоз в ендокарді щура. Фарбування гематоксиліном і еозином. х 100.

гіаліново-крапельної дистрофії, що проявляється у появі значної кількості "оптично порожніх" вакуоль різних розмірів в гепатоцитах та гепатоцитів з еозинофільними включеннями цитоплазми. У деяких тварин відмічається повнокрів'я центральних зон печінкової дольки та дистрофічні зміни гепатоцитів по периферії з явищами формування "мускатної" печінки різного ступеня вираженості, що більш виражене у тварин з подовженим терміном життя при введенні доксорубіцину (рис. 4).

Макроскопічна структура дихальних шляхів та легень у частини загиблих щурів характеризується вогнищевим ущільненням легеневої тканини, на розрізі з цих відділів виділяється мутна кров'яниста рідина. Слизова оболонка трахеї, бронхів гіперемована, в просвіті міститься значна кількість слизу. При мікроскопічному дослідженні визначається виражене повнокрів'я судин з ознаками стазу, сладжу, тромбозу, периваскулярно є вогнищеві крововиливи. Вогнищево мають місце потовщення міжальвеолярних перегородок, подекуди просвіти альвеол майже не визначаються за ра-

toksik_1_2_2013:toksik_1_2_2013.qxd 27.06.2013 9:58 Page 83

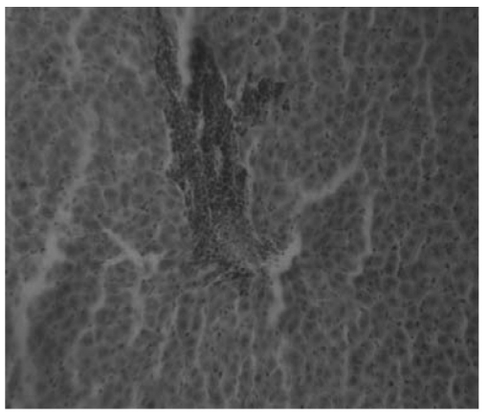

Рис 3. Повнокрів'я судин і осередки перипортального некрозу в печінці щура. Фарбування гематоксиліном і еозином. х 200.

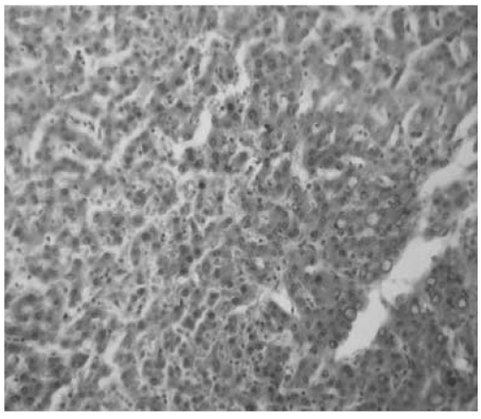

Рис 4. Повнокрів'я з явищами "мускатної" печінки, жирова дистрофія гепатоцитів щурів. Фарбування гематоксиліном і еозином. х 200.

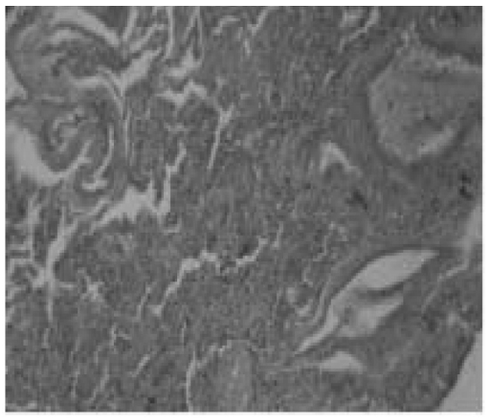

Рис 5. Виражене повнокрів'я судин, крововиливи, осередки лейкоцитарної інфільтрації та склерозування тканини легень щура. Фарбування гематоксиліном і еозином. х 100.

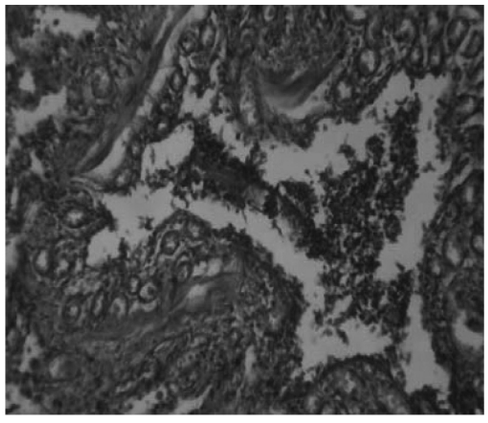

Рис 6. Перибронхіальний склероз з ангіоматозом і запальною інфільтрацією, в просвіті бронху визначається десквамований епітелій. Фарбування гематоксиліном і еозином. х 200

хунок набряку, ателектазів, дистелектазів, в цих ділянках паренхіма легень інтенсивно інфільтрована поліморфноядерними лейкоцитами, в просвіті альвеол — незначна кількість еозинофільної рідини, злущені альвеолоцити, лейкоцити, також зустрічаються поля розростання сполучної тканини (рис. 5). Стінки бронхів потовщені, фіксується набряк та запальна інфільтрація, в просвітах значна кількість злущеного багатошарового епітелію, лейкоцити. Перибронхіально в деяких тварин спостерігається розростання грануляційної тканини з вираженим ангіоматозом (рис.6). У поодиноких тварин відбувається потовщення вісцеральної плеври за рахунок нашарувань фібрину.

У частини загиблих тварин відмічається різко виражене повнокрів'я судин нирок, змазаність контурів шарів паренхіми. При мікроскопічному дослідженні має місце склерозування та гіаліноз частини клубочків, подекуди з формуванням "гіалінових шарів", в паренхімі візуалізуються поодинокі ділянки некронефрозу з лімфоїдно-макрофагальною інфільтрацією (рис. 7). Епітелій ниркових канальців з ознаками зернистої дистрофії, в поодиноких канальцях — некроз епітелію та накопичення в просвітах канальців білкових еозинофільних мас (рис. 8).

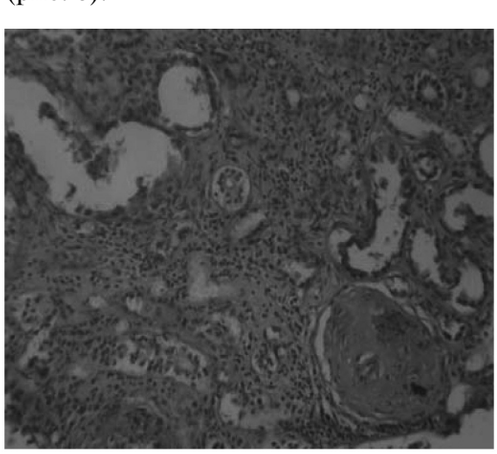

Рис 7 . Склероз клубочків, інтерстиціальний фіброз паренхіми нирки з осередками перигломерулярного фіброзу. Фарбування гематоксилін-еозином. х 100

toksik_1_2_2013:toksik_1_2_2013.qxd 27.06.2013 9:58 Page 84

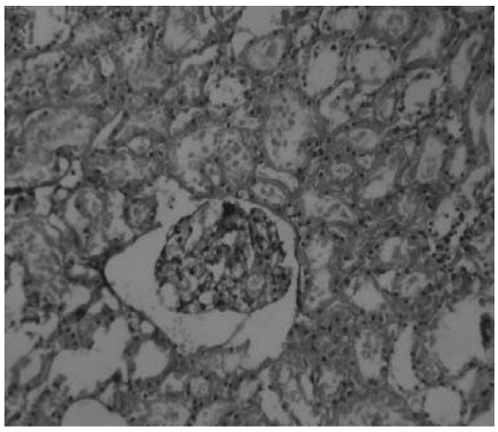

Рис. 8. Повнокрів'я та вогнищевий склероз капілярів клубочка, білкова та гіаліново-крапельна дистрофія, вогнищевий некроз епітелію ниркових канальців. Фарбування гематоксиліном і еозином. х 200

У деяких тварин спостерігаються фіброзні нашарування на вісцеральному та парієтальному листках очеревини, також спайки різного ступеня щільності між петлями кишечнику з наявністю помірної кількості мутнуватого ексудату. При мікроскопії в стінці кишечнику відмічається різке розширення, повнокрів'я судин підслизового шару, вогнищеві крововиливи, відмічається набряк та розрихлення сполучної тканини, дифузна лімфо-гістіоцитарна інфільтрація. Епітелій кишечнику з ознаками дистрофії з дрібними вогнищами дисплазії (рис. 9). Серозна оболонка кишечнику потовщена за рахунок набряку, крововиливів, нашарувань фібрину з ознаками організації та лейкоцитарною інфільтрацією (рис.10).

У більшості загиблих тварин відмічається помірне збільшення селезінки, на розрізі з вираженим повнокрів'ям та в'ялістю пульпи. При світловій мікроскопії спостерігається спустошення, подекуди повна відсутність реактивних центрів, звуження, а іноді, повна відсутність маргінальної зони. Червона пульпа представлена розширеними, заповненими кров'ю, венозними синусоїдами, значною кількістю еритроцитів, сидерофагів (рис.11).

Збільшення летальності тварин протягом 4 тижнів введення доксорубіцину та 14 днів спостереження при сформованій доксорубіциновій патології можна пояснити не лише формуванням та прогресуванням регенераторно-пластичної недостатності міокарда, а й декомпенсацією порушених функцій інших органів та систем, які виникали або потенціювалися під впливом доксорубіцину, оскільки доксорубіцин має як кардіотоксичну, так і загальнотоксичну дію. Окрім цього, доксорубіцин володіє імунодепресивними властивостями, що може призводити до більш тяжкого перебігу та загострення інфекційних хвороб, які

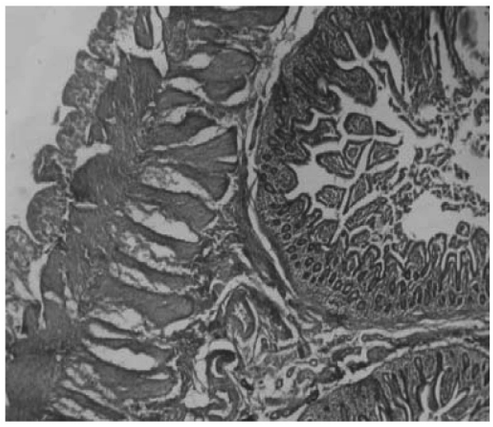

Рис. 9. Ознаки набряку, крововиливи, нашарування фібрину з просоченням кров'ю на серозній оболонці кишечнику. Фарбування гематоксиліном і еозином. х 200

Рис. 10. Стінка кишечнику щура з дифузною лейкоцитарною інфільтрацією, нашарування фібрину з ознаками організації. Фарбування гематоксиліном і еозином. х 100

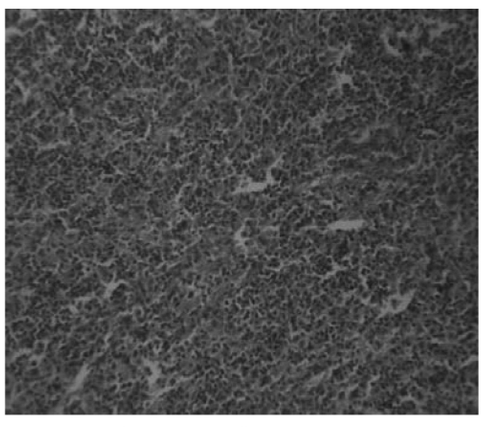

Рис 11. Повнокрів'я червоної пульпи з ознаками застою, зменшення об'єму білої пульпи, відсутність гермінативних центрів. Фарбування гематоксиліном і еозином. х 200.

при імунодефіцитних станах мають виражену тенденцію до генералізації патологічного процесу, і як наслідок, збільшувати кількість летальних випадків у піддослідних тварин. Виявлено, що в ранні строки летальності, значно

toksik_1_2_2013:toksik_1_2_2013.qxd 27.06.2013 9:58 Page 85

більшу вираженість мають альтеративні зміни в інших органах та системах, при відсутності виражених ознак прогресування серцевої недостатності внаслідок ураження міокарда.

Висновки

- Доксорубіцин у дозі 5,0 мг/ кг при чотирикратному введенні білим щурам (1 раз на тиждень) викликає загибель 29% тварин. Протягом наступних 14 діб спостереження смертність тварин зростає до 47%.
- При дослідженні загиблих тварин виявлено, що значна кількість піддослідних тварин мають виражені позакардіальні ушкодження інших органів, які можуть виникати або прогресувати внаслідок опосередкованого впливу доксорубіцину.
- Летальність тварин можна пояснити не лише формуванням та прогресуванням регенераторно-пластичної недостатності міокарда, а й декомпенсацією порушених функцій інших органів, які виникали або потенціювалися під впливом доксорубіцину.
- У ранні строки летальності значно більшу вираженість мають альтернативні зміни в інших органах та системах за відсутності виражених ознак прогресування серцевої недостатності внаслідок ураження міокарда.
- Доксорубіцин має як кардіотоксичну, так і загальнотоксичну дію.

ЛІТЕРАТУРА

1. Хамдоллоева Нуринисо. Профилактика и лечение печеночной и кожной токсичности на фоне лекарственной терапии у больных околоректальным раком: дис.канд.мед наук: 14.01.12. / Нуринисо Хамдоллоева. — Санкт–Петербург, 2011
2. Переводчикова Н.И. Противоопухолевая химиотерапия: Справочник./ Н.И. Переводчикова — М.:Медицина, — 2003. — 224с.
3. Самура Б.Б. Повреждения миокарда, индуцированные антрациклинами. Диагностика и лечение / Б.Б. Самура // Электронный ресурс.
4. Шаповалова С.П. Действие доксорубицина на иммуногенез / С.П. Шаповалова, И.В. Малькова // Антибиотики и химиотерапия. — 1983. — №4. — С.304–307.
5. Шаповалова С.П. Коррекция иммунотоксичности цитостатиков сборами лекарственных растений / С.П. Шаповалова, Г.И. Нежинская // Растительные ресурсы. — 2008. — №3. — С.133–139.
6. Shen F. Quantitation of Doxorubicin Uptake, Efflux, and Modulation of Multidrug Resistance in MDR Human Cancer Cells / F. Shen, S. Chu, A. Bence //J. Pharmacol. and Exp. Ther. — 2008. — V.324, №1. — P.95–102.

Надійшла до редакції 9.01.2013 р.