

ПРОЯВИ РЕТИНОТОКСИЧНОСТІ ЦИСПЛАТИНУ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Р.Л. Вадюк

Кафедра гістології, цитології та ембріології (зав. – д. мед. н., проф. С. Б. Геращенко), Івано-Франківський національний медичний університет. 76000 Україна, м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2. E-mail: histology@ifnmu.edu.ua

MANIFESTATION OF CISPLATINE RETINOTOXICITY IN EXPERIMENT

R.L. Vaduk

SUMMARY

Platinum drugs are basical in various combination therapy of tumours and are among the most effective in a modern chemotherapy as cancer cells of tumours have weak resistance to cysplatin in compare with other cytostatics. Histopathological researches of retina under the influence of cytostatics are single in literature datas.

ПРОЯВЛЕННЯ РЕТИНОТОКСИЧНОСТІ ЦИСПЛАТИНА В ЕКСПЕРИМЕНТЕ

Р.Л. Вадюк

РЕЗЮМЕ

В експерименте на 60 белых крысах установлено, что в динамике эксперимента с введением цисплатина в сетчатке развиваются значительные морфологические изменения дистрофического характера (отек, деструкция нейроцитов), подтвержденные морфометрически (утолщение фоторецепторного, наружного сетчатого и внутреннего ядерного, ганглионарного слоев и истончение наружного ядерного и внутреннего сетчатого слоев). Разные по степени выраженности и распространения дистрофические процессы сохраняются в сетчатке на протяжении 28 сут после последнего введения цисплатина.

Ключові слова: сітківка, цисплатин, морфометрія.

Препарати платини є базовими в різноманітних програмах комбінованої терапії пухлин і вважаються одними з найефективніших у сучасній хіміотерапії, оскільки ракові клітини пухлин не виробляють або мають слабу резистентність до цисплатину, порівняно з іншими цитостатиками [1]. Водночас цитостатики мають високу токсичність. Хіміотерапія супроводжується значною побічною дією, яка пошкоджує життєво важливі органи і системи організму, призводить до зниження адаптивно-компенсаторних механізмів, прогресування і генералізації пухлинного процесу, загострення супутніх захворювань [4].

У літературі повідомляється про зорову токсичність цисплатину, яка може мати незворотну дію [8, 7]. Описані токсичні нейропатії, які включали набряк диска і сітківки, неврит зорового нерва під впливом цисплатину [10]. Літературні дані щодо патогістологічних досліджень сітківки за умов впливу цитостатиків поодинокі [9].

Мета дослідження. Вивчити морфофункціональний стан сітківки в динаміці розвитку цисплатин-індукованої ретинотоксичності в експерименті на щурах.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Експерименти були проведені на 60 білих рандомбредних щурах-самцях (*Rattus Norvegicus* L.) масою 150–170 г. I група — 30 тваринам вводили хіміопрепарат Цисплатин-КМП (№ Р.09.03/07324) внутрішньоочеревинно в дозі 2 мг/кг маси тіла 1 раз на тиждень, 9 тижнів. II група (контрольна) — 30 тва-

ринам вводили в ті ж самі терміни внутрішньоочеревинно 1,5 мл ізотонічного розчину NaCl. 10 інтактних тварин слугували для визначення морфометричних показників сітківки в нормі. Утримання тварин і маніпуляції проводилися відповідно до “Загальних етичних принципів експериментів на тваринах”, ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001 р.) та вимог додатку 4 до “Правил проведення робіт з використанням експериментальних тварин”, затверджених наказом Міністерства охорони здоров’я № 755 від 12 серпня 1977 р. “Про заходи щодо подальшого удосконалення організаційних форм роботи з використанням експериментальних тварин”, що узгоджується з положеннями Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1985 р.).

Забір матеріалу проводили на 1-у, 3-ю, 7-у, 14-у, 21-у і 28-у доби. Тварин виводили з експерименту шляхом знечулення ефірним наркозом. Приготування матеріалу для світлооптичного дослідження проводили за загальноприйнятими методиками (Меркулов Г. А., 1969). Гістологічні препарати, забарвлені гематоксилином і еозином, піддавали якісному і морфометричному аналізу. Морфометричне дослідження сітківки проводили з допомогою окуляр-мікрометра МОВ-1–15х. Вимірювалася товщина кожного шару сітківки на строго поперечному зрізі.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Через одну добу після останнього введення цисплатину у фоторецепторному шарі в окремих

ділянках спостерігали набряк, зменшення довжини зовнішніх сегментів паличок і колбочок, а інколи відсутність останніх. В окремих ділянках виявлялося переміщення ядер із зовнішнього ядерного шару у фоторецепторний шар. Товщина шару паличок і колбочок становила $(36,94 \pm 0,61)$ мкм, інтактні – $(21,50 \pm 0,29)$ мкм, збільшення на 41,80%, $p < 0,05$. У зовнішньому ядерному шарі часто спостерігалися гомогенні дифузні безклітинні зони, потоншення зовнішнього ядерного шару до $(32,56 \pm 0,44)$ мкм, інтактні – $(41,76 \pm 0,30)$ мкм, зменшення на 22,30%, $p < 0,05$. Зовнішній сітчастий шар розширювався – $(13,34 \pm 0,41)$ мкм, інтактні – $(5,62 \pm 0,11)$ мкм, збільшення на 137,36%, $p < 0,05$. У внутрішньому ядерному шарі часто виявлялися амакринові клітини з великим об'ємом цитоплазми. Ширина внутрішнього ядерного шару досягла $(20,22 \pm 0,41)$ мкм, інтактні – $(16,80 \pm 0,13)$ мкм, збільшення на 16,91%, $p < 0,05$. Внутрішній сітчастий шар звужився до $(18,58 \pm 0,38)$ мкм, інтактні – $(25,86 \pm 0,22)$ мкм, зменшення на 28,15%, $p < 0,05$. У гангліонарному шарі визначалися мікрокісти (мікрокістозна дегенерація), набряк і зменшення кількості нервових клітин. Його товщина збільшилася вдвічі – до $(10,30 \pm 0,25)$ мкм, інтактні – $(5,16 \pm 0,22)$ мкм, зростання на 49,90%, $p < 0,05$. Шар нервових волокон мало змінився, його товщина визначалася $(2,52 \pm 0,15)$ мкм, інтактні – $(2,36 \pm 0,10)$ мкм, зменшення на 6,78%, $p > 0,05$. У ньому траплялися невеликі крововиливи. Внутрішня погранична мембрана потовщена, а Під внутрішньою пограничною мембраною розрізнялися крововиливи. Товщина сітківки досягла $(134,46 \pm 1,01)$ мкм, інтактні – $(118,68 \pm 0,59)$ мкм, збільшення на 13,30%, $p < 0,05$.

Через 3 доби після останнього введення цисплатину у фоторецепторному шарі визначалося порушення цілості зовнішніх сегментів паличок і колбочок. Між окремими групами виявлялися великі пухири. Товщина фоторецепторного шару продовжувала зростати (збільшення на 70,51%, $p < 0,05$). Мембрана Бруха потовщена. Зовнішній ядерний шар залишався звуженим. У ньому спостерігався набряк. У деяких ділянках виявлялося переміщення ядер зовнішнього ядерного шару у фоторецепторний. Зовнішній сітчастий шар розширений до $(10,14 \pm 0,18)$ мкм, $p < 0,05$, з невеликими крововиливами. У внутрішньому ядерному шарі залишалися прояви набряку на тлі мікроцистоїдної дегенерації. Ширина внутрішнього ядерного шару збільшена. Внутрішній сітчастий шар залишався звуженим. У шарі гангліонарних клітин спостерігалися мікроаневризми. Товщина цього зросла до $(9,36 \pm 0,60)$ мкм, $p < 0,05$. Товщина сітківки зменшилася від 1-ї доби до $(130,32 \pm 2,73)$ мкм, $p < 0,05$, але збереглася великою, порівняно з нормою. Морфологічні зміни, які ми спостерігали через 1-3 доби після останнього введення цисплатину, стосуються всіх шарів сітківки. Отримані нами результати доповнили дані морфологічних досліджень В.І. Катц [9] у людини.

7-а доба досліджу характеризувалася подальши-

ми змінами у всіх шарах сітківки: посилювалося переміщення ядер із зовнішнього ядерного у фоторецепторний шар, виявилася втрата чи зменшення зовнішніх сегментів фоторецепторних клітин. Товщина фоторецепторного шару залишалася збільшеною на 64,47%, порівняно з нормою, зовнішнього ядерного шару зменшеною на 21,46%, зовнішнього сітчастого шару збільшеною на 74,02%, внутрішнього ядерного шару збільшеною на 13,93%, звуження внутрішнього сітчастого шару на 23,66%. Товщина гангліонарного шару мало відрізнялася від 3-ї доби експерименту. Ядра нейронів мали неправильну форму, спостерігалися ознаки вакуолізації та некрозу окремих нейронів і мікрокістозної дегенерації. Шар нервових волокон був дещо потовщений із невеликими крововиливами. Внутрішня погранична мембрана потовщена. Порушення, які виявляються в сітчастих шарах і шарі нервових волокон, сигналізують за втягнення в патологічний процес аксонів фоторецепторних, біполярних і гангліонарних нейронів сітківки, що можна пояснити, як і в дослідах з метаноловою інтоксикацією шурів [3], токсичними впливами цисплатину.

Через 14 діб після припинення введення цисплатину товщина шару паличок і колбочок залишалася збільшеною. Ділянки з укороченими за довжиною зовнішніми сегментами паличок і колбочок траплялися рідко. Тривало переміщення поодиноких ядер із зовнішнього ядерного шару у фоторецепторний шар. У зовнішньому ядерному шарі спостерігався набряк. Товщина зовнішнього ядерного шару поступово зменшувалася. Зовнішній сітчастий шар широкий, набряклий. Товщина внутрішнього ядерного шару наближалася до показника в інтактних тварин. Внутрішній сітчастий шар із цього терміну дослідів у динаміці до 28-ї доби прогресивно зменшувався. У гангліонарному шарі визначалося зменшення кількості нервових клітин, поодинокі мікрокісти. Траплялися нейрони з ядрами в стані каріопікнозу. Товщина гангліонарного шару найбільша з усіх термінів експерименту – $(9,96 \pm 0,20)$ мкм, $p < 0,05$. Шар нервових волокон починав динамічно стоншуватися. Внутрішня погранична мембрана залишалася потовщеною. Загалом товщина сітківки в цей термін наближалася до нормальних величин і становила $(119,14 \pm 0,10)$ мкм, $p > 0,05$. Отримані морфометричні дані відповідають результатам В.А. Науменко [5] при визначенні товщини сітківки за допомогою оптичної когерентної томографії в клініці.

Протягом 21-28 діб спостерігали подальші патоморфологічні зміни сітківки На 28-у добу зовнішні сегменти фоторецепторних клітин мали майже однакову довжину. Мембрана Бруха потовщена. У зовнішньому ядерному шарі набряк. Товщина зовнішнього ядерного і зовнішнього сітчастого шарів залишалася зменшеною. У гангліонарному шарі визначалося зменшення кількості нейронів або їх відсутність

на окремих ділянках. Траплялися нейроцити з каріопікнозом і гранулярною цитоплазмою. Товщина гангліонарного шару зменшилася до $(6,02 \pm 0,14)$ мкм, $p < 0,05$. Шар нервових волокон став найтоншим з усіх термінів досліджу. У сітківці зростали атрофічні процеси, що проявилось найвиразнішим її потоншенням, порівняно з нормою. Її товщина досягла $(81,24 \pm 1,12)$ мкм, $p < 0,05$. Морфологічна картина клітин сітківки в пізні терміни дослідження (21-28 діб після останнього введення цисплатину) характеризувалася, у першу чергу подальшими дистрофічними порушеннями у фоторецепторному шарі, як і при інших токсичних впливах [2]. У клініці це може проявитися ознаками часткової атрофії зорового нерва з погіршенням гостроти зору і показників сумарних меж полів зору і порогу електричної чутливості зорового нерва по фогсену [6].

ВИСНОВКИ

Цисплатин-індукована ретинотоксичність характеризується значними гістологічними і морфометричними змінами сітківки, які проявляються найбільшою вираженістю до 14-ї доби після проведеного 9-тижневого курсу цисплатину (набряк, потовщення фоторецепторного, зовнішнього сітчастого і гангліонарного шарів сітківки зі збереженням потоншених інших шарів). Через 21-28 доби шари, які містять ядра нейроцитів (зовнішній і внутрішній ядерні, гангліонарний) продовжують потоншуватися, що асоціюється зі зменшенням кількості клітин у цих шарах, а стоншення шару нервових волокон засвідчує зменшення кількості аксонів нейроцитів, що складають зоровий нерв.

Перспективи подальших досліджень. Встановлені факти цисплатин-індукованої ретинотоксичності потребують подальшого дослідження клітин сітківки на ультраструктурному рівні з метою визначення напрямку їх корекції і поліпшення якості життя хворих, яким призначаються курси протипухлинного лікування з застосуванням цисплатину.

ЛІТЕРАТУРА

1. Дорожовець Х. Майбутнє нашої онкології за цисплатином. Імпортом чи українським? Х. Дорожовець// Аптека Галицька. — 2003. — № 11. — С. 8–9.
2. Жабоедов Г. Д. Ультраструктурные изменения хориореtinального комплекса и их роль в патогенезе светового ретинального ожога/Г. Д. Жабоедов, Н. К. Гребень, Л. А. Стеченко [и др.]//Офтальмологический журнал. — 2003. - № 4. — С. 91–94.
3. Жабоедов Г. Д. Влияние трофина на морфо-функциональное состояние зрительного анализатора крыс при метаноловой интоксикации/Г. Д. Жабоедов, В. И. Цымбалюк, А. Т. Носов [и др.]//Офтальмологический журнал. — 2004. — № 5. — С. 62–66.
4. Мосиенко В. С. Возможности, недостатки и перспективы лекарственной терапии опухолевой болезни/В. С. Мосиенко//Український хіміотерапевтичний журнал. — 2001. — № 1 (9). — С. 10–13.
5. Науменко В. А. Исследование толщины сетчатки макулярной области с помощью оптической когерентной томографии в норме и при сахарном диабете/В. А. Науменко//Офтальмологический журнал. — 2004. — № 1. — С. 50–53.
6. Салдан Й. Р. Класифікація часткової атрофії зорового нерва/Й. Р. Салдан, І. В. Галінська//Офтальмологический журнал. — 2003. — № 6. — С. 93–95.
7. Семиглазов В. Ф. Новые результаты эндокринотерапии рака молочной железы (роль аромасина)/В. Ф. Семиглазова, В. В. Семиглазов, А. А. Клетцель [и др.]//Вопросы онкологии. — 2004. — № 6. — С. 729–736.
8. Fraunfelder F. T. Drug-Induced Ocular Side Effects/F. T. Fraunfelder, F. W. Fraunfelder//Boston: Butterworth Heinemann, 2001. — P. 446–450.
9. Katz B. J. Persistent severe visual and electroretinographic abnormalities after intravenous Cisplatin therapy/B. J. Katz, J. H. Ward, K. B. Digre [et al.]//J. Neuroophthalmol. — 2003. — Vol. 23, № 2. — P. 132–135.
10. Martin M. Toxic optic neuropathy due to cisplatin therapy: a case report/M. Martin, J. Weber-Varszegi, J. Flammer//Klin. Monatsbl. Augenheilkd. — 2005. — Vol. 222, № 3. — P. 244–247.