

## ПАТОМОРФОЛОГІЯ

© Ю. В. Сорока, К. С. Волков, Н. Є. Лісничук

УДК 616-006. 6-085. 28-06:616. 61-091. 8]-092. 9

Ю. В. Сорока, К. С. Волков, Н. Є. Лісничук

**СТРУКТУРНІ ПОРУШЕННЯ НИРКИ БІЛИХ ЩУРІВ ПРИ  
ДИМЕТИЛГІДРАЗИНОВОМУ КАНЦЕРОГЕНЕЗІ НА ТЛІ ЗАСТОСУВАННЯ  
КОМПОНЕНТІВ ХІМІОТЕРАПІЇ**

**ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет**

**імені І. Я. Горбачевського МОЗ України» (м. Тернопіль)**

Експериментальні дослідження здійснювалися на базі Центральної науково – дослідної лабораторії ТДМУ та є частиною НДР на тему: «Структурно-метаболичні зміни кори головного мозку, нирок і печінки, зумовлені хронічною неопластичною інтоксикацією і компонентами цитостатичної терапії, та їх сорбційна корекція», № держ. реєстрації 0113U001276.

**Вступ.** Процес розвитку злоякісних новоутворень є власне процесом ремоделювання тканини, при якому нормальна тканина у результаті декількох стадій перетворення замінюється на пухлинну [1]. Проведення хіміотерапії у разі онкологічних і онкогематологічних захворювань супроводжується низкою ускладнень, які можуть розвинути як під час лікування (синдром лізису пухлини), так і в перервах між курсами або після їх завершення (тромботичні ускладнення, гематологічна й органна токсичність) [4, 5]. Більшість цитостатиків виводиться нирками, а деякі (цисплатин, тіофосфамід, метотрексат, блеоміцин) метаболізуються в них. До основних механізмів негативної дії протипухлинних препаратів на нирки належать їх безпосередня цитотоксичність і аутоімунний характер ускладнень. Відомо, що ступінь токсичного ураження нирок цитостатиками залежить від дози препарату, супутньої патології нирок, кліренсу креатиніну, діурезу [9, 10].

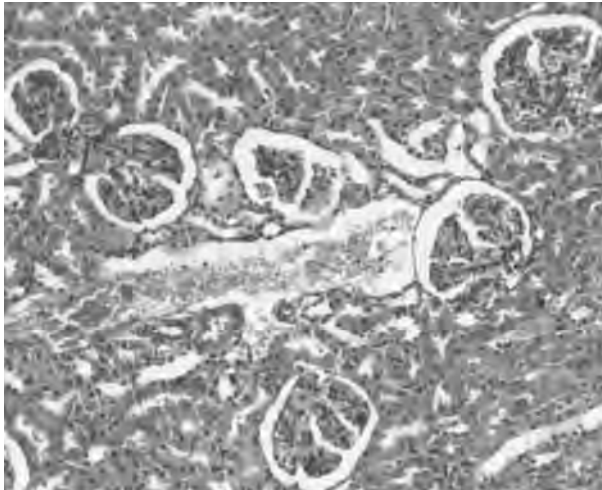
На сьогодні недостатньо вивченими залишаються питання впливу протипухлинних препаратів на розвиток змін структурних компонентів нирки на мікроскопічному та електронномікроскопічному рівнях її структурної організації.

**Метою** даного експериментального дослідження стало встановлення особливостей структурних змін кіркової речовини нирки білих щурів за умов диметилгідрозин-індукованого канцерогенезу на тлі застосування цитостатичних препаратів, що застосовуються у хіміотерапії злоякісних новоутворів.

**Об'єкт і методи дослідження.** Робота виконана на 45 лабораторних білих щурах-самцях з масою тіла ( $190 \pm 5$ ) г, які утримувались у стандартних умовах віварію. Всі маніпуляції з експериментальними тваринами проводили із дотриманням правил

«Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей», а також згідно «Науково-практичних рекомендацій з утримання лабораторних тварин та роботи з ними» [6, 8]. Піддослідні тварини були розділені на такі групи: інтактна – 5 щурів; група тварин із змодельованою неопластичною інтоксикацією – 20 щурів; група тварин із змодельованою неопластичною інтоксикацією на тлі введення компонентів цитостатичної терапії – 20 щурів. Хронічну неопластичну інтоксикацію моделювали шляхом введення несиметричного 1,2-диметилгідрозин гідрохлориду (ДМГ) (фірми SIGMA-ALDRICH CHEMIE, виробництва Японії, серія D161802), попередньо розведеного ізотонічним розчином натрію хлориду. Хімічний канцероген вводили підшкірно в міжлопаткову ділянку в дозі 7,2 мг/кг (в розрахунку на діючу речовину) 1 раз на тиждень впродовж 30 тижнів [2]. Як компоненти цитостатичної терапії використовували препарати доксорубіцин та метотрексат. Метотрексат вводили внутрішньошлунково 2 рази на тиждень з розрахунку 15 мг/кг маси тварини, доксорубіцин вводили внутрішньоочеревинно в дозі 10 мг/кг перший раз і далі по 5 мг/кг щотижнево паралельно з введенням ДМГ впродовж останніх 8 тижнів [3]. Для мікроскопічних досліджень шматочки нирки фіксували в 10% нейтральному формаліні та заливали у парафінові блоки. Гістологічні зрізи фарбували гематоксилін-еозинном. Мікропрепарати вивчали за допомогою світлового мікроскопа SEO SKAN та фотодокументували за допомогою відео камери Vision CCD Camera. Для електронномікроскопічних досліджень маленькі шматочки нирки фіксували в 2,5% розчині глютаральдегіду, постфіксували в 1% розчині тетраоксиду осмію на фосфатному буфері рН 7,2-7,4, зневоднювали в спиртах і пропіленоксиді та заливали в суміш епоксидних смол з аралдитом. Ультратонкі зрізи, виготовлені на ультрамікротомі LKB-3 (Швеція), контрастували уранілацетатом та цитратом свинцю за методом Рейнольдса і вивчали в електронному мікроскопі ПЕМ-125К [7].

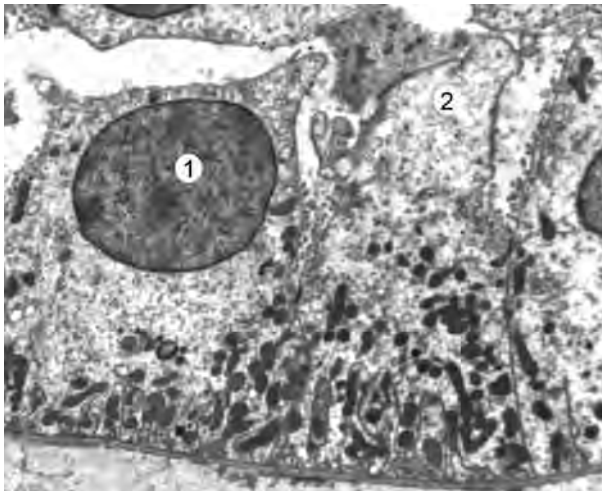
**Результати досліджень та їх обговорення.** Мікроскопічні дослідження нирок піддослідних тварин



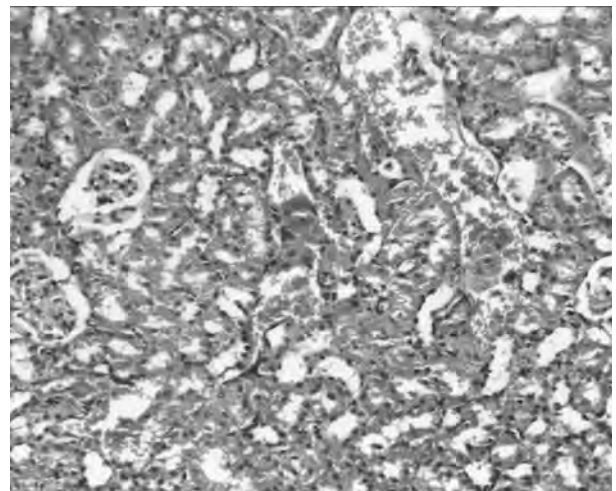
**Рис. 1.** Гістологічні зміни нирки тварини за умов хронічної дії ДМГ. Розширені, кровонаповнені судини, змінені ниркові тільця і каналці нефронів. Забарвлення гематоксилином і еозином. Зб. x 200.



**Рис. 2.** Ультраструктурні зміни ниркового тільця. Кіркова речовина нирки тварини за умов хронічної дії ДМГ. Просвіт капіляра з еритроцитами (1), цитоплазма ендотеліоцита (2), цитоподії (3). Зб. x 12 000.



**Рис. 3.** Ультраструктурний стан епітеліоцитів проксимального відділу каналця нефрона. Нирка тварини за умов хронічної дії ДМГ. Ядро епітеліоцита (1), світла апікальна (2) ділянка цитоплазми. Зб. x 12 000.

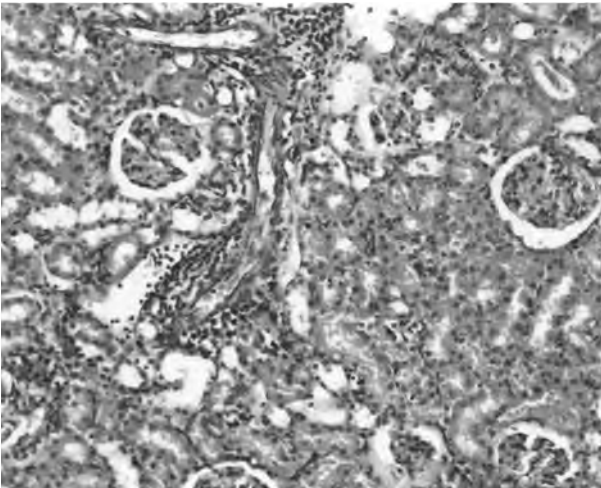


**Рис. 4.** Гістологічні зміни нирки тварини при за умов хронічної дії ДМГ та цитостатиків. Розширені, кровонаповнені просвіти судин, ділянка крововиливу. Змінені компоненти нефрона. Забарвлення гематоксилином і еозином. Зб. x 200.

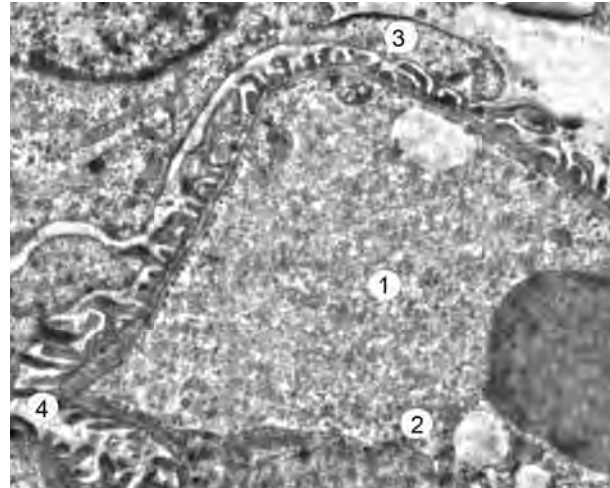
за умов хронічної дії 1,2-диметилгідрозину встановили, що характерними змінами кіркової речовини органу є розлади кровообігу, які проявляються розширенням багатьох судин, капілярів перитубулярної сітки та частини гемокарілярів клубочків. Спостерігається складування еритроцитів та стази (**рис. 1**). Периваскулярна строма виглядає набряклою, відмічаються ділянки лейкоцитарної інфільтрації. Частина ниркових тілець і їх судинні клубочки гіпертрофовані, спостерігаються також ниркові тільця зміненої форми та зменшених розмірів. У гіпертрофованих ниркових тільцях збільшені просвіти капсул Шумлянського-Боумана. Мікроскопічні зміни спостерігаються і в проксимальних та дистальних відділах каналців нефрона. Найявні каналці та збірні трубочки з розширеними просвітами.

Субмікроскопічно також встановлена реорганізація всіх компонентів нефрона. У судинному клубочку ниркових тілець наявний набряк і просвітлення цитоплазми ендотеліоцитів, пошкоджені органели, погано виражені фенестри у цитоплазматичних ділянках клітин. Базальна мембрана кровоносних капілярів нерівномірна, місцями витончена, контури її нечіткі, а тришаровість її будови на окремих ділянках втрачається. У подоцитах виявляється набряк цитоплазми, деструкція органел, потовщення цитотрабекул. Для цитоподій характерні гетерогенні зміни (**рис. 2**).

В епітеліоцитах каналців нефрона відбуваються зміни ядер і структур цитоплазми. Для ядер клітин проксимальних і дистальних відділів нефрона характерне просвітлення каріоплазми. В круглих ядрах більшу частину каріоплазми займають



**Рис. 5.** Мікроскопічні зміни нирки тварини при за умов хронічної дії ДМГ та препаратів хіміотерапії. Периваскулярний набряк та лейкоцитарна інфільтрація. Змінені компоненти нефрона. Забарвлення гематоксилином і еозином. Зб. х 200



**Рис. 6.** Субмікроскопічні зміни гемокапіляра нирки за умов хронічної дії ДМГ та цитостатиків. Широкий просвіт (1), набрякла цитоплазма ендотеліоцита (2), цитотрабекула (3), вузькі цитоподії. Зб. х 9 000.

електроннопрозорі та еухроматинові ділянки. Погано контурюються мембрани ядерної оболонки. Базальні складки плазмолем не протяжні, у таких ділянках неупорядковано розташовані мітохондрії. Серед епітеліоцитів проксимальних канальців наявні клітини з осміофільною цитоплазмою, в них погано контурюються органели, є вторинні лізосоми. На апікальній ділянці епітеліоцитів частково пошкоджені мікрворсинки. У дистальних канальцях є епітеліоцити з електроннопрозорими апікальними ділянками цитоплазми, в них мало органел, наявні вакуолеподібні структури (рис. 3).

Мікроскопічні дослідження нирок тварин за умов диметилгідразинового канцерогенезу на тлі застосування цитостатичних препаратів встановили посилення деструктивних змін всіх компонентів органу. Просвіти судин, особливо венозного відділу, значно розширені, кровонаповнені, їх стінки витончені, відмічаються крововиливи та набряк периваскулярної сполучної тканини (рис. 4). У кірковій речовині у гіпотрофованих ниркових тільцях спостерігається різке зморщення судинних клубочків, зниження їх кровонаповнення та розширення просторів капсул. Наявні ділянки, де значно виражена лейкоцитарна інфільтрація. Звивисті та прямі канальці нефронів мають як розширені, так і вузькі просвіти, епітеліоцити дистальних канальців з набряклого цитоплазмою, що погано фарбується (рис. 5).

Субмікроскопічно в судинних клубочках ниркових тілець виявлялися кровоносні капіляри як з широкими, так і зі звуженими просвітами, вповнені еритроцитами. Ендотеліоцити мають цитоплазму різної електронної щільності, є набряклі, електроннопрозорі ділянки, інші – осміофільні, ущільнені, в яких погано виявляються фенестри. Органели значно пошкоджені, не протяжні канальці гранулярної ендоплазматичної сітки фрагментовані, невеликі

мітохондрії з просвітленим матриксом та частково зруйнованими кристами. Наявні ендотеліоцити з пікнотично зміненими ядрами, осміофільною каріоплазмою. Базальна мембрана капілярів виглядає гомогенною, порушується її тришарова будова. У електроннопрозорій цитоплазмі подоцитів та цитотрабекул міститься мало органел і вони деструктивно змінені. Частина цитотрабекул втрачають цитоподії, стають гладкими, щільно прилягають до базальної мембрани. Частина цитоподій мають подовгасту форму, витончені, між ними розширені просвіти (рис. 6).

Кровоносні капіляри перитубулярної сітки мають також нерівномірні просвіти. Наявні розширені з еритроцитами, сладж ефектами, або звужені. Такий їх стан відображає застійні явища і порушення трофіки звивистих епітеліальних канальців нефронів. Субмікроскопічно встановлено, що частина епітеліоцитів проксимальних канальців мають набряклу електроннопрозору цитоплазму, в якій зменшена щільність органел.

**Висновок.** Проведені гістологічні та електронномікроскопічні дослідження показали, що за умов змодельованого хронічного неопластичного процесу в нирці відбуваються істотні судинні розлади, які призводять до деструктивних змін компонентів нефронів. Порушується мікроциркуляція у нирковому тільці та перитубулярній сітці, розвиваються деструктивні зміни епітеліоцитів проксимальних і дистальних канальців. За умов поєданого застосування цитостатиків при індукованому канцерогенезі встановлено посилення деструктивних змін судинного русла та компонентів нефронів. У подоцитах ниркових тілець та епітеліоцитах проксимальних і дистальних канальців відбувається значна деструкція плазматичних, ядерних та органодних мембран. Така структурна реорганізація негативно впливає на



функціональні можливості нирки, порушується фазний характер сечоутворення.

**Перспективи подальших досліджень.** Результати проведеного дослідження показали, що за умов хронічного впливу хімічного канцерогену у кірковій речовині нирки розвиваються структурні зміни, що визначають порушення як процесу фільтрації, так і процесу реабсорбції. Патоморфогенез цих змін визначається токсичним впливом проміжних

продуктів, що утворюються при метаболізмі 1,2-диметилгідрозину, та визначають розвиток істотних метаболічних порушень. У цьому контексті перспективним є дослідження ефективності застосування методів детоксикаційної терапії з метою зменшення токсичного пресингу на організм та покращення структури і функції нирок в умовах індукованого канцерогенезу.

### Література

1. Белицкий Г. А. Химический канцерогенез / Г. А. Белицкий // Современные проблемы токсикологии. – 2010. – № 2. – С. 5 – 21.
2. Дерягина В. П. Экспериментальное изучение действия (Шиитаке) на рост опухоли у мышей на моделях трансплантационного и химического канцерогенеза / В. П. Дерягина, Н. И. Рыжова, А. Н. Разин // Российский онкологический журнал. – 2009. – № 1. – С. 33-38.
3. Зарипова И. В. Эндогенная интоксикация в формировании патологии сердца, вызванной компонентами цитостатической химиотерапии (экспериментальное исследование) : автореф. дис. на соискание ученой степени канд. мед. наук : спец. 14. 00. 15 «Патологическая анатомия» / И. В. Зарипова – Волгоград, 2008. – 22 с.
4. Іщенко Р. В. Профілактика ускладнень внутрішньоартеріальної поліхіміотерапії у хворих з метастазами колоректального раку / Р. В. Іщенко, Ю. І. Сєдакова // Вестник неотложной и восстановительной медицины. – 2011. – Т. 12, № 1. – С. 124 – 126.
5. Кондратьев В. Б. Осложнения химиотерапии рака ободочной кишки и методы их лечения / В. Б. Кондратьев // Практическая онкология. – 2000. – № 1. – С. 31 – 36.
6. Кожем'якін Ю. М. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко, Г. А. Сайфетдінова. – Київ : Авіцена, 2002. – 156 с.
7. Саркисов Д. С. Микроскопическая техника / Д. С. Саркисов, Ю. Л. Перова. – М.: Медицина, 1996. – 362 с.
8. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe, Strasbourg, 1986. – 56 p.
9. Hemingway T. J. Hyperviscosity Syndrome / T. J. Hemingway, E. A. Savitsky // Електронний ресурс. Режим доступу: [www.emedicine.com/emerg/topic756.htm](http://www.emedicine.com/emerg/topic756.htm)
10. Higdon M. L. Treatment of Oncologic Emergencies / M. L. Higdon, J. A. Higdon // Am Fam Physician. – 2006. – Vol. 74. – P. 1873 – 80.

УДК 616-006.6-085.28-06:616.61-091.8]-092.9

#### **СТРУКТУРНІ ПОРУШЕННЯ НИРКИ БІЛИХ ЩУРІВ ПРИ ДИМЕТИЛГІДРАЗИНОВОМУ КАНЦЕРОГЕНЕЗІ НА ТЛІ ЗАСТОСУВАННЯ КОМПОНЕНТІВ ХІМІОТЕРАПІЇ**

**Сорока Ю. В., Волков К. С., Лісничук Н. Є.**

**Резюме.** В роботі наведено результати вивчення морфологічних змін структурних компонентів кіркової речовини нирки білих щурів в умовах експериментального канцерогенезу, індукованого 1,2-диметилгідрозином, на тлі застосування компонентів хіміотерапії. Гістологічними та електронномікроскопічними дослідженнями виявлено наявність виражених судинних розладів, що спричиняють деструктивні зміни структури нефронів. Порушення мікроциркуляції у ниркових тільцях і перитубулярній сітці, деструктивні зміни епітеліоцитів проксимальних та дистальних каналців, порушення інтрацелюлярного гомеостазу подоцитів визначають розвиток ниркової недостатності та порушення фазного характеру сечоутворення.

**Ключові слова:** нирка, диметилгідрозиновий канцерогенез, хіміотерапія.

УДК 616-006.6-085.28-06:616.61-091.8]-092.9

#### **СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПОЧКИ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ДИМЕТИЛГИДРАЗИНОВОМ КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ КОМПОНЕНТОВ ХИМИОТЕРАПИИ**

**Сорока Ю. В., Волков К. С., Лісничук Н. Є.**

**Резюме.** В работе представлены результаты изучения морфологических изменений структурных компонентов коркового вещества почки белых крыс в условиях экспериментального канцерогенеза, индуцированного 1,2-диметилгидразинном, на фоне применения компонентов химиотерапии. Гистологическими и электронномикроскопическими исследованиями выявлено наличие выраженных сосудистых расстройств, вызывающих деструктивные изменения структуры нефронов. Нарушения микроциркуляции в почечных тельцах и перитубулярной сети, деструктивные изменения эпителиоцитов проксимальных и дистальных каналцев, нарушение интрацелюлярного гомеостазу подоцитов определяют развитие почечной недостаточности и нарушение фазного процесса мочеобразования.

**Ключевые слова:** почка, диметилгидразиновый канцерогенез, химиотерапия.

UDC 616-006. 6-085. 28-06:616. 61-091. 8]-092. 9

### **Structural Changes in White Rats Kidney in Dimethylhydrazine Carcinogenesis against the Background of Application of Chemotherapy Components**

**Soroka Y. V., Volkov K. S., Lisnychuk N. Y.**

**Abstract.** Antitumor therapy in oncological diseases is attended by several complications that may be developed both during the treatment and recess periods and after their finishing. Most of the cytostatic agents are excreted by kidneys and some of them, including methotrexate, metabolize in them. The main mechanisms of negative effect of antineoplastic drugs onto kidneys are expressed by its direct cytotoxicity and autoimmune nature of complications. Nowadays the aspects of antineoplastic drugs effect onto the development of changes of structural components of kidney on microscopic and electron microscopic levels of its organization are insufficiently explored. Consequently, the purpose of the experimental study was to determine the features of structural changes of cortical substance of white rats kidney in dimethylhydrazine -induced carcinogenesis under the application of cytostatic drugs, used in chemotherapy of malignant neoplasms.

The research has been done on white male rats. The chronic neoplastic intoxication was modeled by introduction of asymmetric 1,2-dimethylhydrazine hydrochloride (DMH). Chemical carcinogen was introduced subcutaneously in interscapular region, dosing of 7,2 mg/kg once a week during 30 weeks. Doxorubicine and methotrexate were introduced as components of cytostatic therapy during the last 8 weeks.

Microscopic examinations of kidneys of laboratory animals in chronic effect of DMH showed that the specific changes of cortical substance of the organ are circulatory disturbances, which are evident by enlargements of many vessels, capillaries of peritubular net and part of glomerules hemocapillars. Smoothing of erythrocytes and stasis is obvious. Perivascular stroma is edematous; areas of leucocytic infiltration are detected. Part of renal corpuscles and their choroid glomerules are hypertrophic, renal corpuscles of reduced sizes are also detected. Microscopic changes are also evident in proximal and distal portions of nephron tubules. Canaliculi and compound tubules with extended lumens are obvious.

It has been sub microscopically detected that edema and endotheliocytes cytoplasm blooming is evident in choroid glomerules, as well as affected organelles, poorly evident fenestras in cytoplasmic areas of cells. Basal membrane of blood capillaries is uneven; its trilaminar structure is lost. Edema of cytoplasm, organelles destruction, enlargement of cytotrabecules is evident in podocytes. Changes of cytoplasm nuclei and structures occur in epithelial cells of nephron tubules, borders of membranes of nuclear envelope are poor. Basal folds of plasmalemma are not long- drawn. Among epithelial cells of proximal tubules cells with osmiophil cytoplasm are evident in which organelles are with poor borders, and secondary lysosomes are obvious. In the apical portion of epithelial cells microvilli are partially affected. In the distal tubules there are epithelial cells with electronic-transparent apical portions of cytoplasm, containing few organelles and obvious vacuole-shaped structures.

Histological and electron microscopic examinations showed that in carcinogenic endotoxycosis the significant vascular changes occur in kidney, which lead to destructive changes of nephrons components. Microcirculation in renal corpuscle and peritubular net is abnormal; the destructive changes of epithelial cells of proximal and distal tubules are developed. Under the combined application of cytostatic agents in induced carcinogenesis the intensification of destructive changes of bloodstream and nephrons components has been detected. In the podocytes of renal corpuscles and epithelial cells of proximal and distal tubules the significant destruction of plasmatic, nucleous and organoid membranes is obvious. Such structural reorganization affects the renal functionality with phase uropoiesis abnormality.

**Key words:** kidney, dimethylhydrazine carcinogenesis, chemotherapy.

*Рецензент – проф. Гасюк А. П.  
Стаття надійшла 11. 11. 2013 р.*