

- spontaneously hypertensive rat. *Kidney Int.* 2001 Mar; 59 (3): 1066-76.
11. Bibikova V.M. Morphological characteristics of neurodegenerative changes in brain tissues under repeated intracerebral hemorrhage in an experiment. *Herald of Vinnytsia National Medical University.* - 2014. - T. 18, No. 2. - P. 353-355.
12. Koldunov VV, Bibikova V.M. Morphological changes of the cerebral cortex of rats at primary and repeated hemorrhagic stroke. *World of Medicine and Biology.* - 2013. - №4 (42). - P. 81-84.
- Впервые поступила в редакцию 11.04.2019 г.
Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования*

УДК 616.36-0.85.277.3-091.8-092.9

DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.3251627>

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ В ПЕЧІНЦІ І НИРКАХ ЩУРІВ ПІСЛЯ МОДЕЛЮВАННЯ HIPEC З ЦИСПЛАТИНОМ

Пихтєєва О.Д.¹, Пихтєєв Д.М.², Третьяков О.М.¹

¹Український НДІ медицини транспорту, м. Одеса, Україна

²Біотехнологічна компанія «СМАРТСЕЛЛ», м. Одеса, Україна

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ПЕЧЕНИ И ПОЧКАХ КРЫС ПОСЛЕ МОДЕЛИРОВАНИЯ HIPEC С ЦИСПЛАТИНОМ

Пыхтеева Е.Д.¹, Пыхтеев Д.М.², Третьяков А.М.¹

¹Украинский НИИ медицины транспорта., г. Одесса, Украина

²Биотехнологическая компания «СМАРТСЕЛЛ», г. Одесса, Украина

MORPHOLOGICAL CHANGES IN RAT LIVER AND KIDNEYS AFTER HIPEC MODELING WITH CISPLATINE

Pykhtieieva E.D.¹, Pykhtieiev D.M.², Tretyakov A.M.¹

¹Ukrainian Research Institute of Transport Medicine., Odessa, Ukraine

²Biotechnology company "SMARTSELL", Odessa, Ukraine

Резюме/Summary

Experimental modeling of hyperthermic intraoperative intraperitoneal chemoperfusion (HIPEC) with cisplatin (CP) was carried out on mature Wistar rats weighing 200-220 g. The effect of chemotherapy and elevated temperature on the morphological changes in the liver and kidneys was studied. It is shown that the use of cisplatin is accompanied by dystrophic changes in the liver and kidney parenchyma. The temperature of the reagent used determines the reaction of the kidneys and the liver: when using hot cisplatin, the liver suffers more, and cold - the kidneys, which corresponds to the previously reported data on the distribution of cisplatin in these organs.

Key words: HIPEC, hyperthermia, cisplatin, rats, morphological changes

Проведено експериментальне моделювання гіпертермічної інтраопераційної інтраперитонеальної хіміоперфузії (HIPEC) з цисплатином (ЦП) на статевозрілих щурах лінії Вістар вагою 200-220 г. Досліджено вплив дії хіміопрепарата та підвищеної температури на морфологічні зміни в печінці та нирках. Показано, що застосування цисплатину супроводжується дистрофічними змінами паренхіми

печінки і нирок. При цьому температура застосовуваного реактиву визначає особливості реакції нирок і печінки: при застосуванні гарячого цисплатину більше страждає печінка, а холодного — нирки, що кореспондується з раніше наведеними даними щодо розподілу цисплатину у цих органах.

Ключові слова: HIPEC, гіпертермія, цисплатин, щури, морфологічні зміни

Проведено экспериментальное моделирование гипертермической интраоперационной интраперитонеальной химиоперфузии (HIPEC) с цисплатином (ЦП) на половозрелых крысах линии Вистар массой 200-220 г. Исследовано влияние действия химиопрепарата и повышенной температуры на морфологические изменения в печени и почках. Показано, что применение цисплатина сопровождается дистрофическими изменениями паренхимы печени и почек. При этом температура применяемого реактива определяет особенности реакции почек и печени: при применении горячего цисплатина больше страдает печень, а холодного - почки, что коррелируется с ранее приведенным данным о распределении цисплатина в этих органах.

Ключевые слова: HIPEC, гипертермия, цисплатин, крысы, морфологические изменения

Гіпертермічна інтраопераційна інтраперитонеальна хіміоперфузія (HIPEC) з цисплатином (ЦП) є сучасним методом лікування первинних і вторинних пухлин очеревини (перитонеального канцероматозу (ПК) [1], який є імплантаційним метастазуванням злоякісних пухлин з шлунково-кишкового, овариального або мезенхімального джерел. Даний патологічний процес розглядається як локальний, лікування якого в своїй більшості проводиться на основі прямого впливу на очеревинні патологічні осередки (перітонектомія, внутрішньочеревна гіпертермічна хіміоперфузія) [2-3]. При цьому проводиться перфузія перитонеальної порожнини розчином ЦП (або іншого хіміопрепарату), при температурі більше фізіологічної норми (41-43 °С), такої тривалості, яка дозволить лікарському препарату досягти своєї максимальної ефективності (30-90 хвилин). Токсична дія препаратів платини на паренхіматозні органи при такому способі хіміотерапії вивчена недостатньо, оскільки в Україні цей метод лікування використовується лише 3 роки. Традиційно вважається, що такий спосіб хіміотерапії

більш дієвий і менш небезпечний ніж традиційне внутрішньовенне введення. Для перевірки впливу HIPEC на морфологічний стан печінки та нирок нами проведено експериментальне моделювання на лабораторних щурах. Для урахування дії підвищеної температури паралельно з перфузією підігрітого до 43°C розчину цисплатину (ЦП) ми проводили перфузію розчину при температурі 20 °С. Доза ЦП обрана 4 мг/кг, з урахуванням ЛД₅₀ [4] та концентраціями, які зазвичай використовують в клініці з поправкою на видову чутливість щурів.

Матеріали та методи

Моделювання проведено статевозрілих щурах вагою 200-220 г (методика моделювання детально описана в [5]). Щури були розділені на 3 групи по 7 особин. Тваринам першої групи проводили моделювання HIPEC, другої — хіміоперфузію розчином кімнатної температури, третьої — фізіологічний розчин. Тварин вводили в наркоз за допомогою тіопенталу натрію в/б в дозі 35 мг/кг. Відразу після закінчення перфузії ЦП або фізіологічного розчину (в контрольній групі), щурів виводили з експе-

рименту. Після евтаназії та проведення розтину виділяли та зважували печінку та нирки. Шматочки органів для подальшого гістологічного дослідження вирізали одноразовим скальпелем, щоб максимально уникнути травмування об'єктів. Для мікроскопічного дослідження вирізали шматочки органів розміром 0,5x1,0x0,7 см, з таким розрахунком, щоб одержуваний зріз помістився на стандартне предметне скло. Шматочки відразу ж поміщали в фіксуючу рідину (10 % розчині нейтрального формаліну). Шматочки не обмивали водою перед фіксацією (щоб не видалити об'єкти, що мають діагностичне значення, і уникнути появи артефактів) [6]. Обсяг фіксуючої рідини перевищував обсяг шматочків приблизно в 100 разів, що забезпечило відсутність злипання і накопичення зразків на дні банки. Фіксацію проводили при кімнатній температурі. Наступної доби вирізані шматки органів розміром 0,5x1,0x0,7 см, з метою зневоднення проводили скрізь спирти зростаючої концентрації, починаючи з 10° спирту, а закінчували абсолютним спиртом. Потім шматочки занурювались в суміш спирт-ефіру, де вони проходили остаточне знежирювання протягом 1 доби. Після цього проводили заливку в целоїдин. Після закінчення терміну імпрегнації кусочки висаджувались на дерев'яні блоки, та зберігалися в 70° водному розчині спирту до самого мікротомування. Мікротомні зрізи завтовшки 5-8 мкм були нарізані на санному мікротомі та забарвлені гематоксилін-еозином. Забарвлені зрізи покривали покривним скельцем за допомогою канадського бальзаму та досліджували за допомогою світлового мікроскопу «Nikon Eclipse 50i» при

збільшенні Ок.10, Об.10, або Ок.10, Об.40. В печінці оцінювали стан гепатоцитів, жовчних проток, портальних трактів; в нирках — стан клубочків, проксимальних та дистальних відділів нефрону.

Результати та їх аналіз

Контрольні тварини.

Печінка.

У печінці спостерігається балочна будова тканини (рис. 1). Поміж балками розташовуються звичайного вигляду синусоїди, вільні від еритроцитів на великій відстані. Септальні жовчні потоки вислані високим циліндричним епітелієм з нормохромними ядрами округлої форми. Стінки міждолькових проток вистелені кубічними епітеліоцитами, ядра яких дрібні, овальної форми, нормохромні, розташовані центрально. Інфільтратів не виявлено.

Гепатоцити перипортальної зони дольки різнокаліберні, поліморфні, з витягнутими ядрами. Будова печінкових балок неоднорідна. Гепатоцити утворюють поля, що містять поліморфні клітини. Цитоплазма гепатоцитів піниста, або у стані альвеолярної дистрофії. Гепатоцити центральної зони дольки різнокаліберні, поліморфні, витягнуті. Ядра крупні, овальні, хроматин мілког-

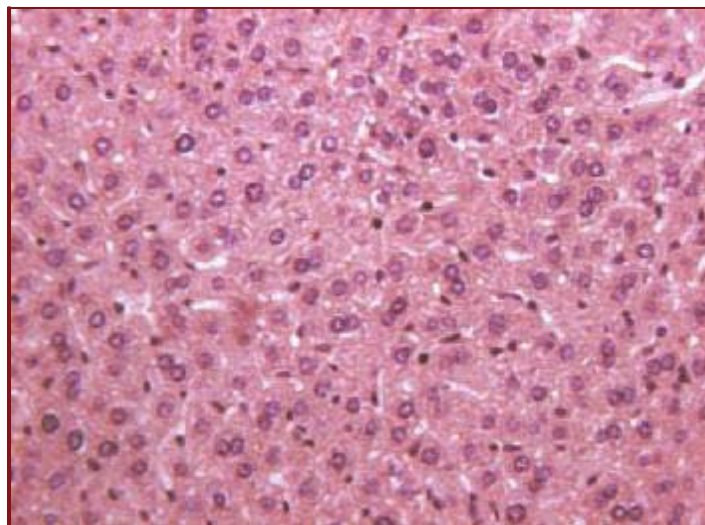


Рис. 1. Мікроскопічна картина печінки контрольного щура (мікрофото, забарвлення: гематоксилін-еозин; Об.: 20, Ок.: 10).

либчастий. Цитоплазма еозинофільна, гомогенна. Спостерігаються клітини у стадії амітотичного поділу.

Нирка

У нирках спостерігаються клубочки переважно округлої форми. Клубочки мономорфні, компактні, капілярні петлі рівномірної товщини (рис. 2). Клітинний склад клубочків представлений мезангіальними клітинами, подоцитами, вісцеральними епітеліоцитами, еритроцитами. Кровонаповнення капілярів помірне. Дистальні канальці представлені клітинами сплющеного епітелію

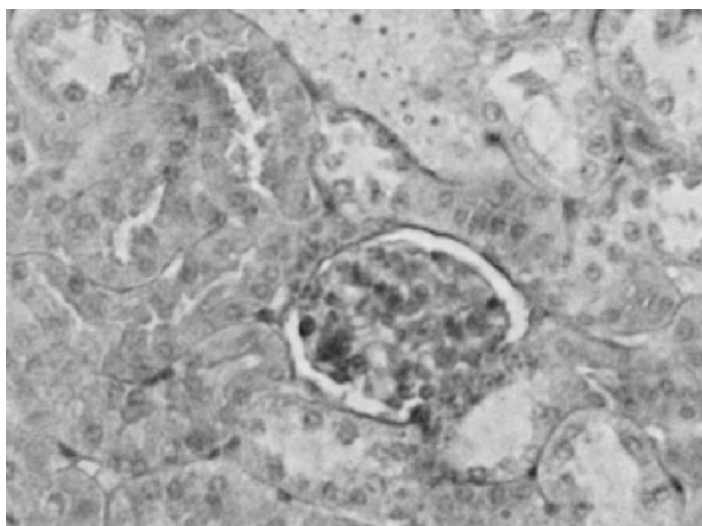


Рис. 2. Мікроскопічна картина нирки контрольного щура (мікрофото, забарвлення: гематоксилін-еозін; Об.: 40, Ок.: 10).

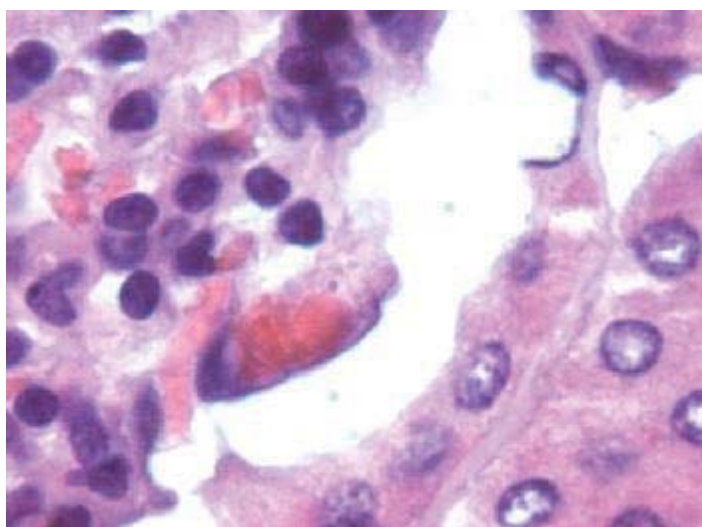


Рис. 3. Мікроскопічна картина нирки (епітеліоцити капсули Шумлянського-Боумена) (мікрофото, масляна імерсія. Забарвлення: гематоксилін-еозін; Об.: 100, Ок.: 10).

з гомогенною цитоплазмою та округлим нормохромним ядром.

У нирках спостерігалися клубочки переважно округлої форми. Клубочки мономорфні, компактні, капілярні петлі рівномірної товщини. В окремих місцях виявлялися колабовані клубочки. Клітинний склад клубочків представлений мезангіальними клітинами, подоцитами, вісцеральними епітеліоцитами, еритроцитами. Ступінь кровонаповнення капілярів характеризувалась як виразна. В окремих гломерулах виявляється гіперплазія парієнтальних епітеліоцитів з утворенням клітин, за морфологічними ознаками схожих на циліндричний епітелій (рис. 3). Необхідно звернути увагу на різкий перехід від плоского до циліндричного епітелію. Цитоплазма цих клітин гомогенна, еозинофільна. Ядра округлі, нормохромні, розташовані центрально. Проксимальні канальці представлені кубічними клітинами з гомогенною цитоплазмою та нормохромним, округлим центрально розташованим ядром.

В окремих місцях спостерігається вакуолізація цитоплазми епітеліоцитів, а подекуди – відторгнення апікальних відділів цитоплазми. В деяких канальцях виявлялися білкові преципітати в просвіті.

Тварини після моделювання НІРЕС

Печінка

Після перфузії протягом однієї години гарячого розчину цисплатину (43 °С) дольчата структура організації печінці збережена.

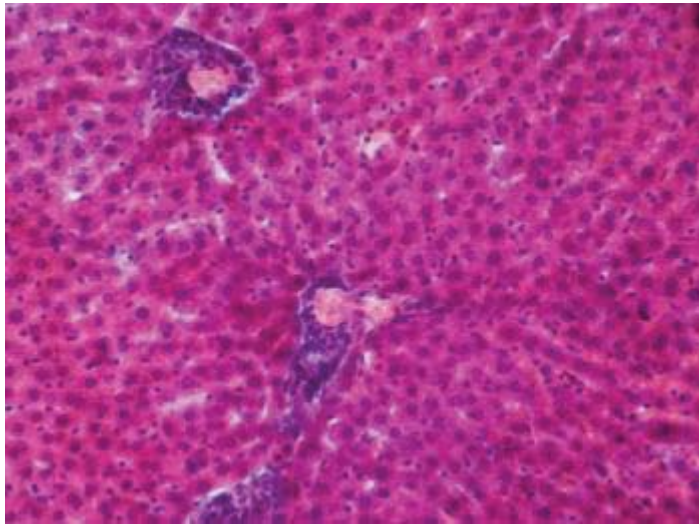


Рис. 4. Мікроскопічна картина печінки щура після моделювання HIPEC (мікрофото, Забарвлення: гематоксилін-еозин; Об.: 10, Ок.: 10).

чаються двохядерні гепатоцити (рис. 5 А). Цитоплазма гепатоцитів темно еозинофільна, грудкувата (в частині клітин). У багатьох гепатоцитах визначаються вакуолі різних розмірів, в цілому можна говорити про дистрофічні зміни паренхіми печінки (рис. 5 Б).

Нирка

При мікроскопічному дослідженні в кірковій речовині нирки визначаються ниркові тільця, що зібрані групами. Капілярні клубочки

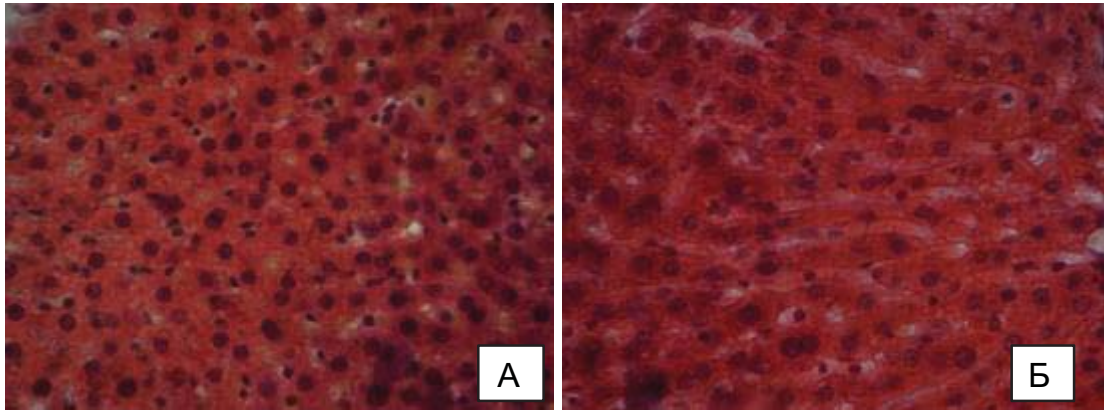


Рис. 5. Мікроскопічна картина печінки щура після моделювання HIPEC (мікрофото, забарвлення: гематоксилін-еозин; Об.: 20, Ок.: 10).

Центральна вена і судини триад застійно повнокровні. Навколо судин триад скупчення, досить щільні, з деапетезно вийшовшими лімфоцитами (рис. 4). У частині гепатоцити зібрані в балки, балки мають значну протяжність. Міжбалковий простір щілиноподібний, клітини Купфера набряклі, з округлими ядрами.

Ядра у більшості гепатоцитів дещо збільшені, форма округла, хроматин зібраний під сарколемою. Зустрі-

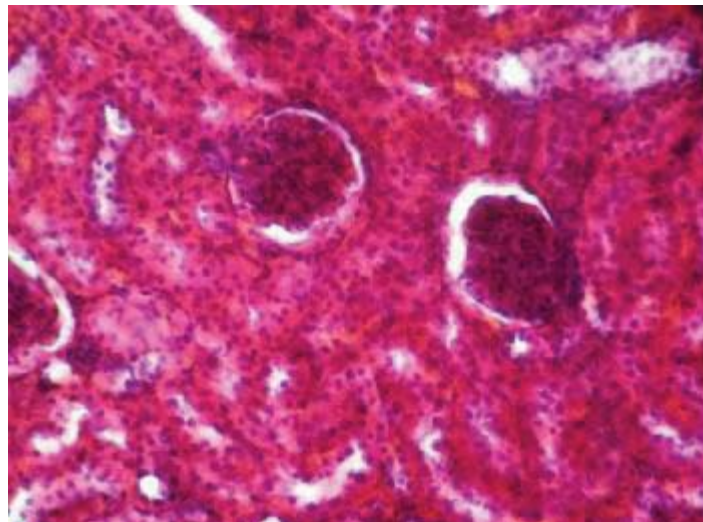


Рис. 6. Мікроскопічна картина нирки щура після моделювання HIPEC (мікрофото, забарвлення: гематоксилін-еозин; Об.: 20, Ок.: 10).

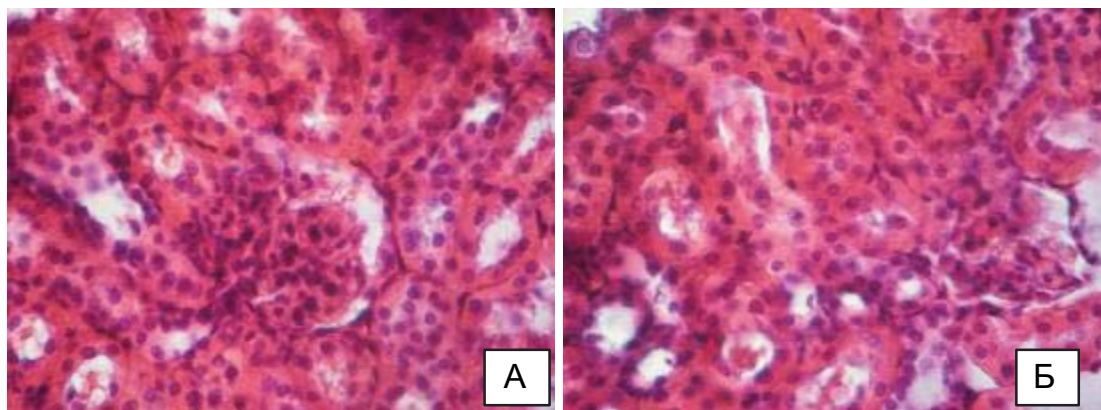


Рис. 7. Мікроскопічна картина нирки щура після моделювання HIPEC (мікрофото, забарвлення: гематоксилін-еозин; Об.: 40, Ок.: 10).

округлої форми, відокремити окремі петлі візуально не представляється можливим. Зовнішня мембрана щільна, цілісна. Боулінов простір щілеподібний (рис. 6).

Навколо ніжки ниркового тільця спостерігаються скупчення лімфоїдних елементів. Звивисті канальці коркової речовини вистелені набряклими епітеліоцитами, аж до закриття просвіту (рис. 7).

З рис. 7 можна побачити, що ядра епітеліоцитів неоднорідні. В корі визначаються поля, в яких ядра дрібні, темні. В інших — вони навпаки збільшені в розмірах, світло забарвлені.

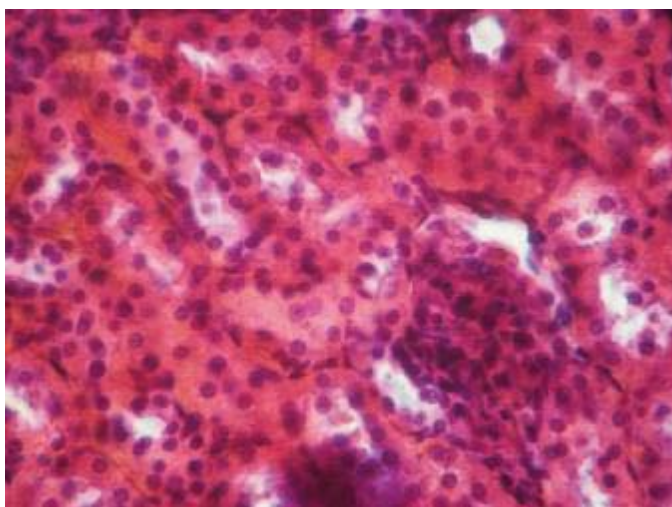


Рис. 8. Мікроскопічна картина нирки щура після моделювання HIPEC (мікрофото, забарвлення: гематоксилін-еозин; Об.: 40, Ок.: 10).

Інтерстиціальні прошарки у всій нирці тонше, але містять лімфоцити. Прямі канальці мозкової ниркової речовини викриті набряклим епітелієм. Ядра епітеліоцитів округлі (рис. 8).

Тварини після перфузії розчину цисплатину кімнатної температури.

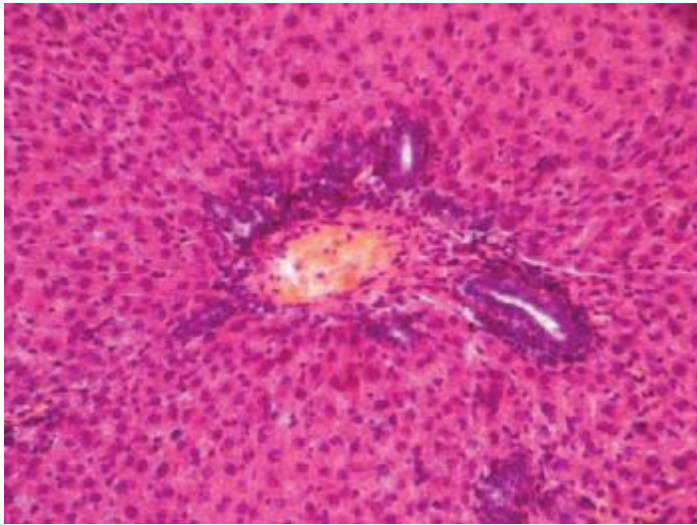
Мікроскопічна оцінка стану внутрішніх органів щурів після застосування ЦП кімнатної температури також показала наявність деяких змін.

Печінка

Організація паренхіми печінки збережена. Центральна вена і судини триад різко розширені. Спостерігаються явища плазмостаза. Самі судини тонкостінні. Всередині дольки виділити балочну організацію візуально досить важко (рис. 9).

Центральна вена і судини триад різко розширені. Спостерігаються явища плазмостазу. Самі судини тонкостінні.

Гепатоцити часто розташовані суцільним масивом. Самі гепатоцити середніх розмірів, ядра збільшені з чіткою межею. Хроматин розподілений дифузно. Цитоплазма гепатоцитів грудкува-



менше, ніж у випадку засто- сування гарячого ЦП. Дво- дерні гепатоцити визна- чуються, але дуже поодинокі. Клітини Купфера мають ок- руглі ядра.

Нирки.

При мікроскопічному дослідженні нирок піддослід- них щурів після внутришньо- очеревиної перфузії ЦП кімнатної температури звер- тало на себе увагу розши- рення просвіту ниркових су- дин і виражений плазмостаз.

Рис. 9. Мікроскопічна картина печінки після перфузії ЦП при кімнатній температурі (мікрофото, Забарвлення: гематоксилін-еозин; Об.: 20, Ок.: 10).

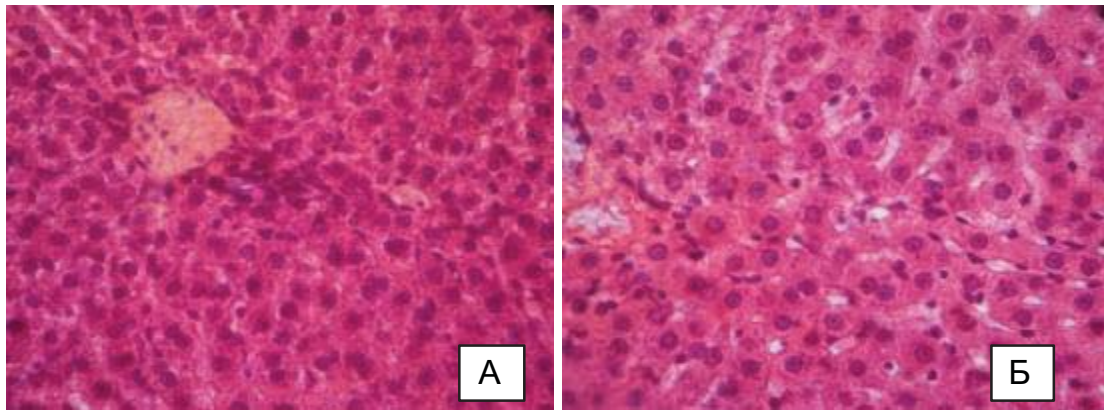


Рис. 10 Мікроскопічна картина печінки щура після внутришньоочеревиної перфузії ЦП кімнатної температури (мікрофото, забарвлення: гематоксилін-еозин; Об.: 40, Ок.: 10 (А), Об.: 20, Ок.: 10 (Б)).

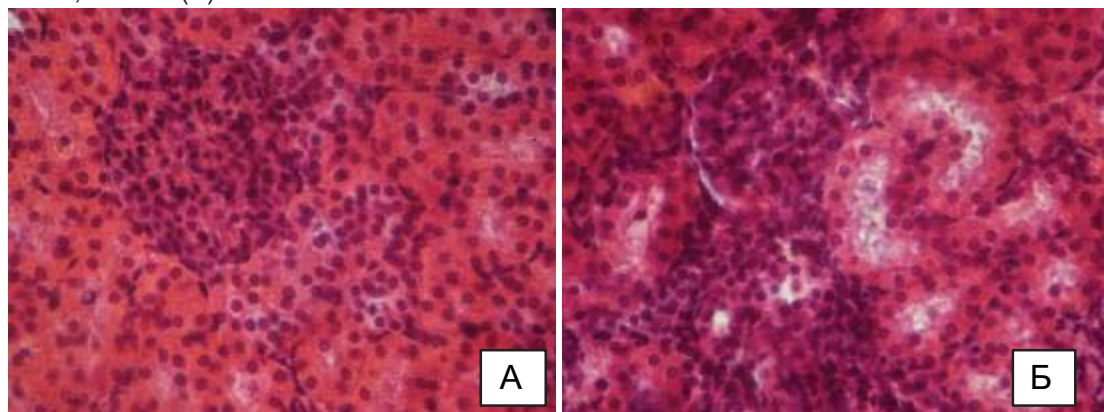


Рис. 11. Мікроскопічна картина нирки після внутришньоочеревиної перфузії ЦП кімнатної температури (мікрофото, забарвлення: гематоксилін-еозин; Об.: 40, Ок.: 10).

та. В частині з них видно окремі дрібні вакуолі. (рис. 10)

Візуально гепатоцитів з вакуолями

У кірковій речовині нирки ниркові тільця розподілені групами. Частина ниркових тілець звичайного вигляду, капілярний

клубочок в них округлий, ядра ендотеліоцитів округлі. Зовнішня мембрана щільна, цілісна (рис. 11).

Боуменовий простір — щілеподібний. Частина ниркових тілець представляє собою округле скупчення епітеліоцитів всередині залишків мембрани. Ниркові тільця в них не збережені (не визначаються) (рис. 11 А). Структура звивистих канальців звичайного вигляду, епітелій вистилає їх повністю. Епітеліоцити набряклі. Ядра в них середніх розмірів, помірної забарвлення (рис. 11 Б). Інтерстиціальні прошарки місцями потовщені. В них визначаються світло-еозинофільні розширені фіброзні волокна. Кількість фібробластів декілька підвищена. В прямих канальцях також має місце набухання епітелію (округлі ядра) і розширення частини інтерстиціальних прошарків (рис. 12).

Висновки

Таким чином, отримані дані дозволяють вважати, що застосування цисплатину супроводжується дистрофічними змінами паренхіми печінки і нирок. При цьому температура застосовуваного реактиву визначає особливості реакції нирок і печінки: при застосуванні гарячого цисплатину більше страждає печінка, а холодного — нирки, що кореспондується з раніше отриманими нами даними [7] щодо розподілу цисплатину у цих органах.

Література

1. Пыхтеева Е.Д., Максимовский В.Е., Дубинина В.Г. Применение гипертермической химиоперфузии в лечении перитонеального карциноматоза (обзор). *Актуальные проблемы транспортной медицины*. 2016, 2 (44), с. 33-42.
2. Ганцев Ш. Х. Перитонеальный канцероматоз — новый взгляд на проблему [Электронный ресурс]. Креативная он-

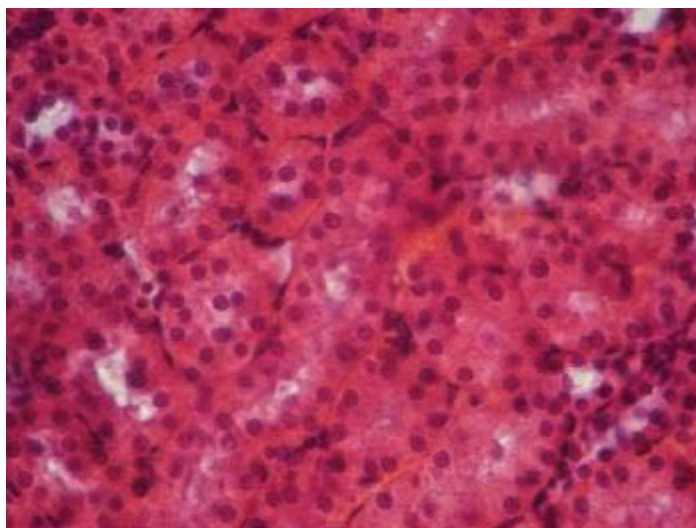


Рис. 12. Мікроскопічна картина нирки після внутрішньоочеревинної перфузії ЦП кімнатної температури (мікрофото, забарвлення: гематоксилін-еозин; Об.: 40, Ок.: 10). (Інтерстиціальні прошарки місцями потовщені.)

- кология и хирургия. 2013; № 1 (10.03.2013). Доступно по: <http://eoncolog.com/prezentatsiiperiton>
3. Coburn N, Cosby R, Klein L, Knight G, Malthaner R, Mamazza J, et al. Staging and surgical approaches in gastric cancer: a clinical practice guideline. *Curr Oncol*. 2017; 24 (5): 324-31. doi: 10.3747/co.24.3736.
4. Пихтеева О.Д., Третьяков О.М. Визначення LD50 цисплатину для щурів при внутрішньоочеревинному введенні. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2019, 1 (55), с. 69-73.
5. Pykhtieieva E.D., Tretiyakov A.N., Gozhenko A.I., Pykhtieieva E.G. Changes of microelement homeostasis when modeling HIPEC with cisplatin // *Journal of Education, Health and Sport*. — 2019. — Т. 9. — №. 2. — С. 569-577.
6. Морфологическая диагностика. Подготовка материала для гистологического исследования и электронной микроскопии: руководство / под ред. Д. Э. Коржевского. — СПб.: СпецЛит, 2013. — 127 с. ISBN 978-5-299-00569-1
7. Пихтеева О.Д., Большой Д.В., Пихтеева О.Г. Токсикокінетика і токсикодинаміка платини при моделюванні HIPEC з цисплатином XVIII читання ім. В.В. Підвисоцького, бюлетень матеріалів наукової конференції, УкрНДІ медицини транспорту: Одеса, 22-24 травня 2019

References

1. Pykhtieieva E.D., Maksimovskiy V.E., Dubinina V.G. Use of hyperthermic chemoperfusion in the treatment of peritoneal carcinomatosis (review). Actual problems of transport medicine. 2016, 2 (44), p. 33-42.
2. Gantsev Sh. H. Peritoneal carcinomatosis - a new look at the problem [Electronic resource]. Creative oncology and surgery. 2013; № 1 (03/10/2013). Available at: [http:// eoncosurg. com / prezentatsiiperiton](http://eoncosurg.com/prezentatsiiperiton)
3. Coburn N., Cosby R., Klein L., Knight G., Malthaner R., Mamazza J., et al. Clinical practice guideline. Curr Oncol. 2017; 24 (5): 324-31. doi: 10.3747 / co.24.3736.
4. Pykhtieieva E.D., Tretyakov A.M. Determination of cisplatin LD50 for intraperitoneal injection. Actual problems of transport medicine. 2019, 1 (55), p. 69-73.
5. Pykhtieieva E.D., Tretyakov A.N., Gozhenko A.I., Pykhtieieva E.G. Changes of microelement homeostasis when modeling HIPEC with cisplatin // Journal of Education, Health and Sport. - 2019. - V. 9. - №. 2. - p. 569-577.
6. Morphological diagnosis. Preparation of material for histological research and electron microscopy: a guide / ed. D. E. Korzhevsky. - SPb.: SpecLit, 2013. - 127 p. ISBN 978-5-299-00569-1
7. Pykhtieieva E.D., Bolshoy D.V., Pykhtieieva E.G. The platinum toxicokinetics and toxicodynamics in the simulation of HIPEC with cisplatin. XVIII reading them. VV Podvysotsky, bulletin of the materials of the scientific conference, UkrSRI of Transport Medicine: Odessa, 22-24 May 2019

*Впервые поступила в редакцию 18.04.2019 г.
Рекомендована к печати на заседании
редакционной коллегии после рецензирования*