

Е.Н. Бестанчук², Н.В. Марцинковская², Т.Е. Нарбутова¹, О.А.Кащенко¹

ИЗМЕНЕНИЕ МИОКАРДА КРЫС ПРИ ВВЕДЕНИИ БЛЕОМИЦИНА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

*Одесский национальный медицинский университет¹,
Одесский онкологический диспансер, Украина²*

Реферат. Исследовали морфологические изменения структур сердца и степень их выраженности при поступлении в организм противоопухолевого препарата блеомицина. Исследование проведено на 28-ми половозрелых крысах обоих полов линии Вистар, разделенных на контрольную и опытную группы. Животные опытной группы получали блеомицин интраперитонеально в дозе 0,5 МЕ/кг на 1-й и 8-й день эксперимента. Забор материала осуществляли оперативным путем на 5-й, 14-й и 28-й день эксперимента. Использовали стандартные морфологические методики. При исследовании структур сердца животных на 5-й день эксперимента обнаружен интерстициальный отек, умеренное повреждение эндотелия, сладжи, стазы в сосудах микроциркуляторного русла. В миокарде определяется контрактурная дегенерация и краевой лизис отдельных кардиомиоцитов. В ядрах некоторых клеток определяется фрагментация и маргинация хроматина. На 14-й и 28-й день степень и распространенность описанных изменений нарастает, развивается некроз кардиомиоцитов, склероз субэндокардиальных участков миокарда. Таким образом, при введении блеомицина в структуры сердца развиваются выраженные необратимые морфологические изменения, степень выраженности которых зависит от дозы и кратности введения.

Ключевые слова: блеомицин, контрактурная дегенерация кардиомиоцитов, интерстициальный отек

Последнее время новые методы профилактики, диагностики и лечения различных типов злокачественных новообразований интенсивно внедряются в практику. Разработка правильно подобранных химиотерапевтических схем имеет большое значение не только для успешного лечения основного заболевания, но и для уменьшения побочных эффектов терапии, тем самым улучшая прогноз и продлевая жизнь пациента. Средняя продолжительность жизни пациентов со злокачественными новообразованиями неуклонно увеличивается, при этом стандартизированная по возрасту 10-летняя выживаемость при раке молочной железы составляет 70%, при лимфоме Ходжкина – 80% и при раке яичка 90% [1]. К отдаленным осложнениям злокачественных новообразований относят развитие вторичных злокачественных новообразований и заболевания сердечно-сосудистой системы [4]. Кардиотоксические химиотерапевтические препараты воздействуют на сердечно-сосудистую систему: вызывают снижение систолической и диастолической функции миокарда (антрациклины, антраценидионы), вызывают или обостряют ишемию миокарда (5-фторурацил, винкалоиды, блеомицин) [5]. Кардиоваскулярная токсичность – одно из наиболее разрушительных осложнений противоопухолевой терапии, которое может развиваться как во время лечения, так и вскоре после его проведения, а иногда даже через несколько лет

[3]. Наиболее известно и хорошо изучено кардиотоксическое действие препаратов антрациклинового ряда [6].

На базе Одесского областного онкологического диспансера при подготовке пациентов с солидными опухолями (рак яичников, рак шейки матки, плоскоклеточный рак головы и шеи, трофобластическая болезнь, болезнь Ходжкина) к проведению курсов химиотерапии выполняются эхокардиоскопическое (ЭхоКС) и электрокардиографические исследования, определение биохимических кардиальных маркеров (промозгового натрийуретического пептида (pro-BNP), тропонина I. У пациентов, направлявшихся на повторные курсы по традиционным схемам, при ЭхоКС были выявлены очаги фиброза и зоны гипокинеза в задне-базальных отделах левого желудочка, базальных отделах межжелудочковой перегородки различной степени выраженности без снижения систолической функции и снижением диастолической функций левого желудочка, без расширения полостей сердца, увеличением индекса Tei.

Во всех схемах химиотерапии, при которых были выявлены вышеописанные изменения миокарда, применялся блеомицин. Блеомицин – это противоопухолевый антибиотик, представляющий собой A2-фракцию, изолированную из культуры *Streptomyces verticillatus*, содержащую собственно противоопухолевый антибиотик. Среди известных побочных эффектов блеомицина, в первую очередь, отмечается токсическое воздействие на легочную ткань с развитием фиброза легких, плеврита с болевым синдромом, нарастающей дыхательной недостаточностью; редко – токсическое действие на сосуды, включая церебральный артериит, инсульт, инфаркт миокарда, тромботическую микроангиопатию, синдром Рейно.

Учитывая вышеописанные изменения со стороны сердечно-сосудистой системы, при применении схем с использованием блеомицина было проведено экспериментальное исследование, целью которого явилось изучение наличия, характера и динамики изменений структур сердца крыс при введении блеомицина.

М а т е р и а л и м е т о д ы

Представленная работа выполнена на базе Одесского национального медицинского университета. Авторами была разработана экспериментальная модель, согласно которой исследование проведено на 28-ми половозрелых крысах обоих полов линии Вистар массой тела 237 ± 20

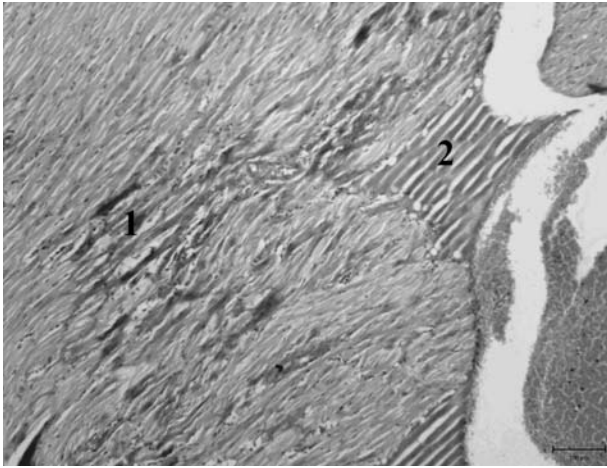


Рис.1 Фрагмент миокарда крысы опытной группы на 5-й день эксперимента. 1 – контрактурная дегенерация кардиомиоцитов. 2 – наложения фибрина на поврежденном эндокарде. Окраска MSB. Ув. X 200.

г. Крысы содержались в стандартных условиях вивария Одесского медицинского университета. Животных разделили на 2 группы: опытная группа и контрольная. Блеомицин (регистрационное свидетельство № 648 от 11.11.08г.) животным опытной группы вводился внутривентриально из расчета 0,5 МЕ/кг дважды с интервалом в неделю (1-й и 8-й день эксперимента). Забор материала выполняли оперативным путем на 5-й день эксперимента (однократное введение), на 14-й и 28-й день эксперимента (двукратное введение). Материал после взвешивания и морфометрирования фиксировали нейтральным 10 % раствором формалина и заливали в парафин. Гистологические срезы окрашивались гематоксилин-эозином, MSB, по Ван-Гизону. Выполняли световую микроскопию.

Результаты и обсуждение

У животных контрольной группы масса сердца составила $1,19 \text{ г} \pm 0,25 \text{ г}$. Миокард образован разнонаправленными слоями мышечных волокон; кардиомиоциты (КМЦ) соединены вставочными дисками между собой и могут ветвиться. Каждое волокно окружено тонкими прослойками рыхлой соединительной ткани, содержащей капилляры. Снаружи сердце покрыто эпикардом. При микроскопическом исследовании миокарда хорошо визуализируется наружный субэпикардиальный слой КМЦ, направленный от основания к верхушке сердца и средний слой КМЦ, который имеет циркулярное направление. Внутренний субэндокардиальный слой направлен продольно. Эндокард представлен эндотелием и тонким слоем подлежащей ему рыхлой соединительной ткани.

У животных опытной группы на протяжении всего эксперимента проявлений общего токсического действия препарата не отмечалось: сохранялась двигательная активность, отсутствовали изменения поведенческих характеристик, масса тела не изменялась. Динамика тканевых и клеточных изменений миокарда при введении блеомицина оценивалась по данным световой микроскопии.

На 5-й день, после однократного введения блеомицина, масса сердца опытных крыс составила $1,07 \text{ г} \pm 0,23 \text{ г}$. Макроскопических изменений при осмотре материала не выявлено. При микроскопическом исследовании тканей сердца наблюдались изменения отдельных КМЦ в виде контрактурной дегенерации с сегментарным и частично-боковым лизисом (рис.1). В ядрах некоторых КМЦ обнаруживается фрагментация хроматина с периферическим его расположением – так называемая маргинация хроматина, которая указывает на апоптоз [2, 4]. Отмечается разрушение нексусов пересокращенных КМЦ. Контрактурные изменения в большей степени выражены в зонах ветвления (физиологической дезориентации) мышечных волокон. В некоторых субэндокардиально расположенных КМЦ наблюдается некротизация без распада. На поверхности эндокарда местами обнаруживается наложение фибрина (рис.1). Вторичное, гипоксическое поражение КМЦ проявляется единичными мелкими субэпикардиальными очагами лейкоцитарной инфильтрации, в некоторых препаратах обнаруживается мелкоочаговый субэпикардиальный инфаркт. Пересокращения КМЦ субэпикардиального слоя преобладают в зонах, где развиваются расстройства гемомикроциркуляции. Так, в сосудах микроциркуляторного русла (МЦР) появляются стазы, сладжи. Венозная часть МЦР застойно полнокровна, вены перерастянуты, выстилающий их эндотелий набухший, местами слущенный. В просвете сосудов отмечается сепарация фибрина, краевое стояние лимфоцитов (хемотаксис к очагу повреждения); в капиллярах кое-где на месте разрушения стенок капилляров находятся свободные эритроциты. В артериях отмечается отек всех компонентов стенок и периваскулярного пространства, развивается очаговая лейкоцитарная инфильтрация, в некоторых участках сопровождающаяся некробиозом и некрозом элементов стенки артерии. Ядра гладкомы-

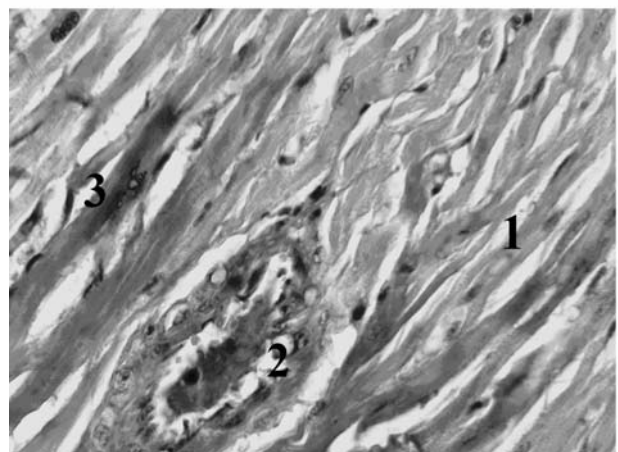


Рис.2 Ветвь коронарной артерии крысы опытной группы на 14-й день эксперимента. 1 – отек интерстициальной ткани в виде щелей между клетками. 2 – дистрофия и слущивание эндотелиоцитов видны как поврежденный внутренний выстилающий слой. 3 – контрактурная дегенерация кардиомиоцитов вокруг сосуда видны как темные фрагменты клеток. Окраска MSB. Ув. X 400.

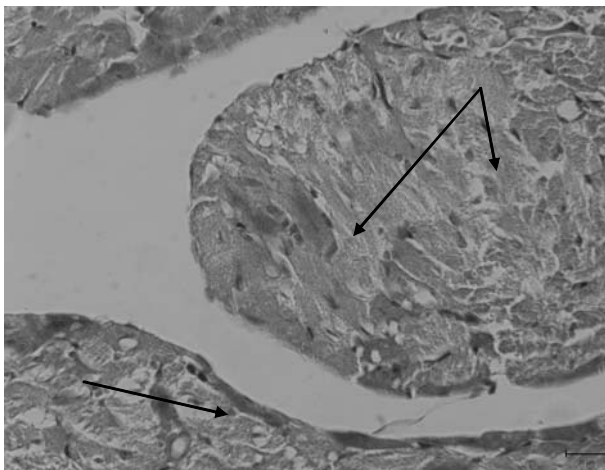


Рис. 3. Эндокард и субэндокардиальный слой миокарда крысы опытной группы на 28-й день эксперимента. Интрацеллюлярный отек с диссоциацией и изменением количества миофибрилл, вплоть до разрушения клеток указаны стрелочкой. Окраска MSB. Ув. X 400.

шечных клеток с глыбчатым или серповидным хроматином; развивается набухание эндотелия с очаговой его десквамацией и формирование пристеночных микротромбов.

На 14-й день эксперимента (после двукратного введения блеомицина) масса сердца составила $0,94 \text{ г} \pm 0,12 \text{ г}$. Макроскопически на задней - правой поверхности у основания сердца появились мелкие плотные очаги желто-серого цвета. Микроскопически со стороны МЦР и более крупных сосудов отмечаются те же изменения, что и после первого введения, однако обращает на себя внимание более выраженный (резкий отек) всех компонентов стенок и периваскулярного пространства, выраженное расширение перинуклеарного пространства с образованием цистерн гладкомышечных клеток и маргинацией хроматина в их ядрах (рис. 2). При двукратном введении блеомицина чаще встречается тромбоз мелких артерий, сладж эритроцитов. На уровне световой микроскопии, особенно в зонах физиологической дезориентации цепочки КМЦ, преимущественно в задне-базальных отделах сердца (области задней межжелудочковой борозды), имеются микроочаги их набухания с разрушением сарколеммы и гомогенизацией миофибрилл, что сопровождается миграцией лейкоцитов из сосудов МЦР, развитием лейкоцитарной инфильтрации. Сходные с описанными изменения обнаруживаются в стенке правого желудочка (ПЖ) и межжелудочковой перегородки (МЖП).

На 28-й день эксперимента (после двукратного введения блеомицина) масса сердца составила $1,1 \text{ г} \pm 0,19 \text{ г}$. Макроскопически в стенке сердца, особенно ПЖ и МЖП, выявляются очаги желто-серого цвета. При светооптическом исследовании материала выявляются выраженные морфологические изменения со стороны сосудистого русла. Мелкие артерии спазмируются; развиваются дистрофические изменения эндотелиоцитов, они отечны, слущиваются. Внутренняя эластическая мембрана гофрирована; мышечная оболочка отечна, имbibирована фибрином. В гладких миоци-

тах выявляется выраженный перинуклеарный отек. В венулах отмечается стаз крови с эритроцитоллизом в некоторых препаратах, пристеночные свертки фибрина. Капилляры пусты, зияют, отдельные капилляры разрушены. Для КМЦ характерна контрактурная дегенерация, боковой миоцитоллиз, периваскулярные микроинфаркты с лейкоцитарной реакцией. В субэндокардиальном слое миокарда и в эндокарде развивается фиброз и интерстициальный отек. В миокарде этой зоны развивается значительный интрацеллюлярный отек с диссоциацией и изменением количества миофибрилл, вплоть до разрушения КМЦ, что особенно выражено на срезе трабекул (рис. 3). Встречаются расслаивающие гематомы задней стенки ПЖ на границе с МЖП. Практически на всем протяжении субэпикардального слоя обнаруживаются сегментарный лизис, контрактурная дегенерация и отек.

Таким образом, введение блеомицина в организм крыс вызывает выраженные морфологические изменения структуры сердца. Изменения в первую очередь развиваются в сосудах сердца (вены, артерии, сосуды МЦР) с формированием сладжей, стазов, микротромбов.

После однократного введения блеомицина в миокарде развивается контрактурная дегенерация КМЦ, боковой миоцитоллиз, повреждение эндокарда с формированием очагов фиброза, преимущественно в эндокарде ПЖ, МЖП (базальные отделы). С увеличением кратности введения препарата нарастает выраженность и распространенность описанных изменений, некроз КМЦ. Такие морфологические изменения могут указывать на кардиотоксический эффект препарата с преимущественным поражением правых отделов сердца и МЖП.

E.N. Bestanchuk, N.V. Marsinkovskaya,
T.E. Narbutova, O.A. Kaschenko

Changes in myocardium of rats under experimental administration of bleomycin

There have been studied morphologic changes in the heart structures and degrees of severity upon introduction into the body of bleomycin anticancer drug. The study has been conducted on 28 Wistar adult rats of both sexes, divided into control and experimental groups. The experimental animals received intraperitoneal dose of bleomycin of 0.5ME/kg on the 1st and 8th day of the experiment. Biopsy has been performed by surgery on the 5th, 14th and 28th day of the experiment. There have been applied standard morphological techniques. In the process of study of the structures of the heart of animals on the 5th day of the experiment there has been found interstitial edema, moderate damage to the endothelium, sludge, stasis in the vessels of the microvasculature. In the myocardium there has been determined contracture degeneration and boundary lysis of individual cardiomyocytes. In the nuclei of certain cells there has been determined fragmentation and marginal chromatin. On the 14th and 28th day degree and extent of these changes were growing, cardiomyocyte necrosis was in the process of developing, as well as sclerosis of subendocardial infarction areas. Thus, administration of bleomycin in the structures of the heart develops irreversible expressed morphological changes severity of which

depends on the dose and frequency of administration (University clinic. — 2013. — Vol.9, №1. — P. 65-68)
Keywords: bleomycin, contracture cardiomyocyte degeneration, interstitial edema.

Е.Н. Бестанчук, Н.В. Марцинковская, Т.Е. Нарбутова, О.А. Кашенко

Зміни міокарда крис при введенні блеомицину в експерименті

Досліджували морфологічні зміни структур серця і ступінь їх вираженості при надходженні в організм протипухлинного препарату блеомицин. Дослідження проведено на 28-ми статевозрілих щурах обох статей лінії Вістар, розподілених на контрольну і дослідну групи. Тварини дослідної групи отримували блеомицин інтраперитонеально в дозі 0.5МЕ/кг на 1-й і 8-й день експерименту. Взяття матеріалу здійснювали оперативним шляхом на 5-й, 14-й та 28-й день експерименту. Використовували стандартні морфологічні методики. При дослідженні структур серця тварин на 5-й день експерименту виявлено інтерстиціальний набряк, помірне ушкодження ендотелію, саджі, стази в судинах мікроциркуляторного русла. В міокарді спостерігається контрактурна дегенерація і крайовий лізис окремих кардіоміоцитів. У ядрах деяких клітин спостерігається фрагментація і маргіналія хроматину. На 14-й та 28-й день ступінь і розповсюдженість описаних змін наростає, розвивається некроз кардіоміоцитів, склероз субендокардіальних ділянок міокарду. Отже, при введенні блеомицину в структурах сер-

ця розвиваються виражені незворотні морфологічні зміни, ступінь вираженості яких залежить від дози і кратності введення препарату. (Університетська клініка. — 2013. — Т.9, №1. — С. 65-68).

Ключові слова: блеомицин, контрактурна дегенерація кардіоміоцитів, інтерстиціальний набряк.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Ватутин Н.Т.* Гистопатологические изменения миокарда крыс при хроническом воздействии антрациклиновых антибиотиков / Н.Т. Ватутин, Е.В.Кетинг, Н.В. Калинкина [и др.] // Укр. ревматол. журн. 2001. — Додаток. — С. 54. (6)
2. *Кетинг Е.В.* Гистопатологические изменения миокарда крыс при остром воздействии антрациклиновых антибиотиков / Е.В.Кетинг, Н.В. Калинкина // III українська конференція молодих вчених, присвячена пам'яті академіка В.В. Фролькіса, 28 січня 2002 року: тези доповідей. - Київ, 2002). — С. 86.(10)
3. Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний: [под редакцией Н.И. Переволочиковой] . — Москва: «Практическая медицина», 2013. — С. 435-436.
4. Кардиоваскулярная токсичность, обусловленная противоопухолевым лечением: методология раннего выявления / Renske Altena, Patrik J. Perik, Dirk J. van Veldhuisen [et al.] // THE LANCET Oncology. — 2009. — №4. — С. 40 — 51.
5. *Симоненко В.Б.* Апоптоз и патология миокарда / В.Б. Симоненко, С.А. Бойцов, А.А. Глухов // Клиническая медицина. — 2009. — № 8. — С. 12-16.
6. Detection of anthracycline-induced cardiotoxicity / M. T. Meinardi, W.T. van der Graaf, D.J. van Veldhuisen [et al.] // Cancer Treat Rev. — 1999. — Vol. 25. — С. 237-47

Надійшла до редакції: 26.06.2013