

---

---

# МОРФОЛОГІЯ

---

УДК 616.61-021.6-085.277.3-092.9

Бардер Е. Г., Дудніченко О. С.

## НИРКОВА ТОКСИЧНІСТЬ ПРОТИПУХЛИННОГО ПРЕПАРАТУ ОКСАЛІПЛАТИН В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Харківська медична академія післядипломної освіти (м. Харків)

elmirabarder@ukr.net

Дослідження виконано по темі НДР кафедри онкології та дитячої онкології «Нанотехнології в хіміотерапії злоякісних пухлин у дорослих та дітей», № держреєстрації 0113U000972.

**Вступ.** Препарати платини є одними з основних стандартних протипухлинних препаратів, які відіграють центральну роль в хіміотерапії раку. Однак їх потужна протипухлинна активність часто обмежена через розвиток ниркової токсичності. Дослідження показали, що не менше, ніж у 30% хворих розвивалися ознаки ниркової дисфункції вже після одноразової інфузії цисплатину [6]. Побічні ниркові ефекти нового похідного платини третього покоління – оксаліплатина, який є стандартом хіміотерапії колоректального раку, не вивчені.

**Мета дослідження.** Вивчити особливості структурних змін нирок в експерименті на щурах під дією протипухлинного препарату оксаліплатин в умовах внутрішньочеревного введення препарату.

**Об'єкт і методи дослідження.** Дослідження виконано на базі експериментально-біологічної клініки ДУ «Інститут патології хребта та суглобів ім. проф. М.І. Ситенка» НАМН України.

На 18 білих лабораторних щурах-самках 3 міс. віку, масою тіла ( $200 \pm 30$  г) вивчена токсичність протипухлинного препарату Оксаліплатин ( $C_8H_{14}N_2O_4Pt$ ) виробництва Актавіс (Італія) [8]. Дев'яти тваринам п'ятикратно через кожні три дні внутрішньочеревно вводили оксаліплатин з розрахунку 2,5 мг/кг, тваринам контрольної групи (9 щурів) – вводили фізіологічний розчин в аналогічному об'ємі. Через 15 і 21 добу тварини дослідної та контрольної груп були виведені з експерименту шляхом декапітації під ефірним наркозом, дотримуючись вимог «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, які використовують в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986) та Закону України про гуманне ставлення до піддослідних тварин [1,2]. Протокол виконання експериментального дослідження на тваринах затверджений Комітетом з біоетики ДУ «ІПХС ім. проф. М.І. Ситенка» НАМНУ (протоколи № 152 від 08.02.2016).

Нирки фіксували і обробляли відповідно до методичних рекомендацій [4]. Парафінові зрізи (завтовшки 7-9 мкм) були пофарбовані гематоксилином і еозинном. Вивчення зрізів проводили під мікроскопами Olympus BX-53 і Axio Star Plus. Для

об'єктивізації даних якісного морфологічного дослідження проведена морфометрична оцінка структури нирок при використанні морфометричної програми Cell Sens Dimension мікроскопа «Olympus BX-53». Вимірювання виконували на препаратах нирок, отриманих від 5 тварин, в трьох полях зору в кожній серії експерименту. Для оцінки стану нирок проведені морфометричні дослідження ниркового тільця, які включали оцінку загальної площі (мкм<sup>2</sup>), а також просвіту і судинних клубочків.

Дані морфометричного дослідження обробляли методами варіаційної статистики. Застосовували прикладний пакет Statistica 5.11 for Windows. Статистично значущими вважали відмінності при  $P < 0,05$  [3].

### Результати дослідження та їх обговорення.

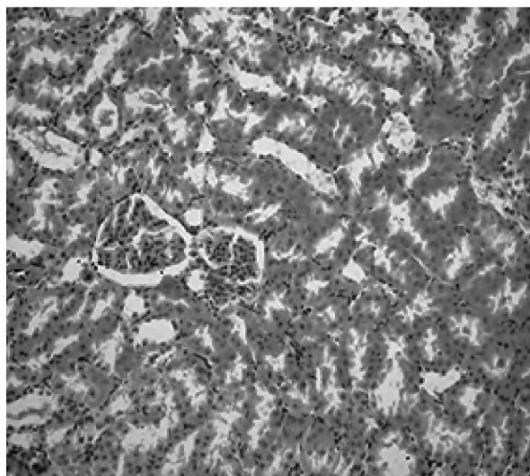
На 15 – добу спостереження в групі тварин, яким внутрішньоочеревно вводили оксаліплатин, виявлено структурні порушення в організації коркової і мозкової речовини нирок, з переважанням порушень в корковій речовині.

У корковій речовині порушена організація ниркових тілець. Поряд з нирковими тільцями практично однакового розміру розташовувалися тільця невеликих розмірів з порушеною організацією капілярних петель клубочків. В одиничних клубочках були розширені просвіти (**рис. 1 А, Б**).

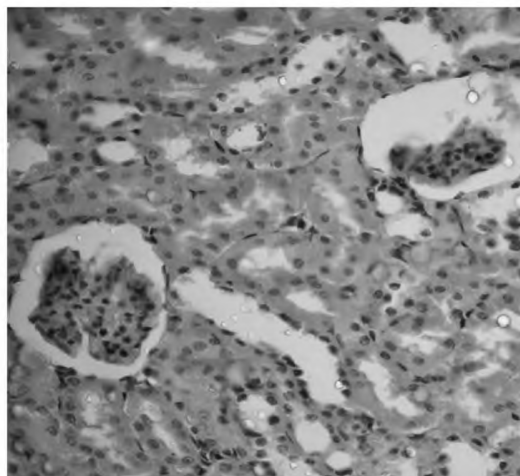
Судинні клубочки містили переважно звужені капілярні петлі. Крім того, виявлені ниркові тільця з порушенням організації зовнішнього та внутрішнього листків капсули. У деяких ниркових тільцях були відсутні клітини, що виконують внутрішній листок капсули. Виявлено зруйновані ендотеліоцити, стаз і сегрегація еритроцитів (**рис. 2**).

У мозковій речовині нирки щурів спостерігали слабо виражені зміни структури прямих каналців. Відзначається втрата чіткості контурів епітеліоцитів на невеликих ділянках каналців, що свідчить про загибель цих клітин (**рис. 3**). Просвіти каналців були чистими.

Для об'єктивізації отриманих даних проведені морфометричні дослідження. Виявлено, що площа ниркових тілець була на 5,6% ( $P < 0,05$ ) менше в порівнянні з такими в контрольній групі тварин, площа капілярних петель знизилася на 6,6% ( $P < 0,05$ ) (**табл. 1**).

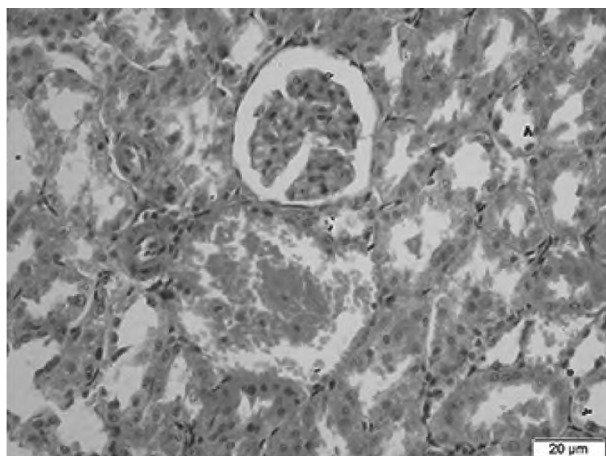


**А**

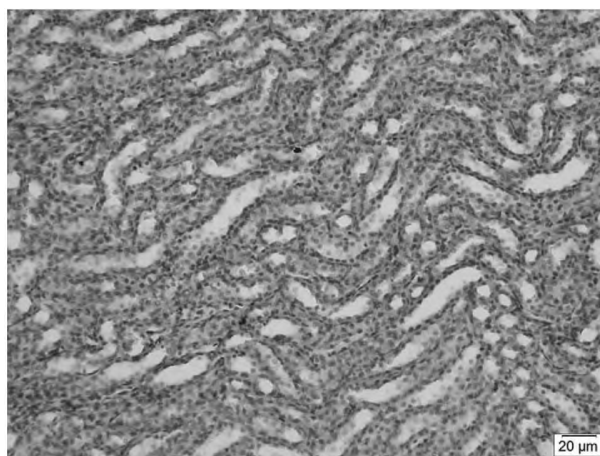


**Б**

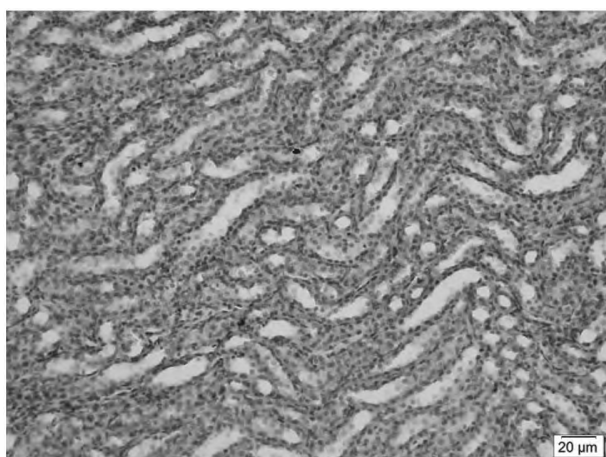
**Рис. 1 А, Б. Ниркові тільця А) Клубочки різного розміру з порушеною структурою капілярів. Порушення структури каналців в мозковій речовині. Б) Порушення пелюсток клубочка. Оксаліплатин, 15 – доба. Гематоксилін та еозин. А) Зб. Ч100. Б) Зб. ×200.**



**Рис. 2. Порушення організації ниркового тільця – зовнішнього і внутрішнього листків капсули і капілярного клубочка. Стазі і сегрегація еритроцитів. Оксаліплатин, 15 – доба. Гематоксилін та еозин. Зб. ×200.**



**Рис. 3. Мозкова речовина нирки. Неоднорідність структури прямих каналців на ділянках. Оксаліплатин, 15 – доба. Гематоксилін та еозин. Зб. ×200.**



**Рис. 4. Коркова речовина нирки. набряк дистальних і проксимальних каналців. Еозинофільні маси в каналцях. Оксаліплатин, 15 – доба. Гематоксилін та еозин. Зб. ×200.**

Отримані дані свідчать про порушення кровопостачання під дією оксаліплатина, внаслідок чого змінюється наповнюваність капілярних петель, що призводить до зниження їх площі. У той же час ширина просвіту ниркових тілець достовірно не змінилася.

Крім того, виявлено збільшення просвіту проксимальних каналців, що свідчить про набряк. Просвіт більшості проксимальних каналців був заповнений пухкими гомогенними еозинофільними масами (рис. 4), що вказує на порушення фільтрації первинної сечі в нирках, накопиченні білкових мас в каналцях. В просвіті деяких проксимальних каналців виявлені некротично змінені епітеліоцити, що потрапляють в каналці внаслідок десквамації.

Ці порушення призводять до протеїнурії і підтримці запальної реакції. Відомо, що вплив білка на епітеліоцити каналців призводить до зміни їх фенотипу і біосинтезу ними прозапальних і профібротичних факторів [9]. Порушення структурної організації каналців, ймовірно, є причиною пошкодження структури ниркових тілець, що відбуваються за раху-

нок виділення епітеліоцитами прозапальних цитокінів у відповідь на дію цитостатика [10].

На 21 – добу відзначені деструктивні зміни як проксимальних, так і дистальних каналців. Виявлено загибель епітеліоцитів, з відділенням клітин від базальної мембрани, а також накопичення щільних неоднорідних оксифільних мас в просвіті каналців (рис. 5). Подібні зміни свідчать про виражений вплив оксаліплатина на структуру каналців, що може привести до розвитку гострого тубуло-інтерстиціального нефриту, поява якого відзначено при хіміотерапії у хворих з онкологічними захворюваннями [7].

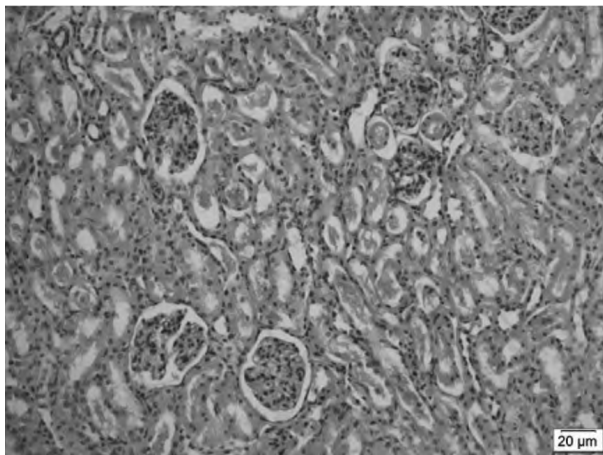
У мозковій речовині в просвіті прямих каналців зафіксовано появу еозинофільних

Таблиця 1.

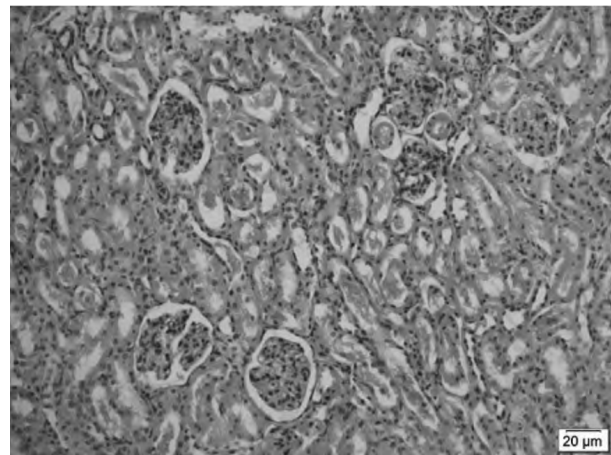
**Морфометричні показники площі (мкм<sup>2</sup>) структур ниркового тільця щурів після впливу оксаліплатина (15 – доба, M ± m)**

Групи	Площа структур ниркового тільця, мкм <sup>2</sup>		
	Загальна	Капілярна	Просвіт
Контроль	1740,31 ± 36,34	1116,02 ± 22,59	624,68 ± 19,95
Оксаліплатин	1642,07 ± 33,77 P < 0,05	1042,34 ± 24,62 P < 0,05	599,72 ± 15,50 P > 0,05

Примітки: P1 – порівняння середніх показників дослідної групи з контролем.



**Рис. 5. Набряк проксимальних і дистальних каналців з щільним вмістом в просвіті. Оксаліплатин, 21 – доба. Гематоксилін та еозин. 36. ×200.**



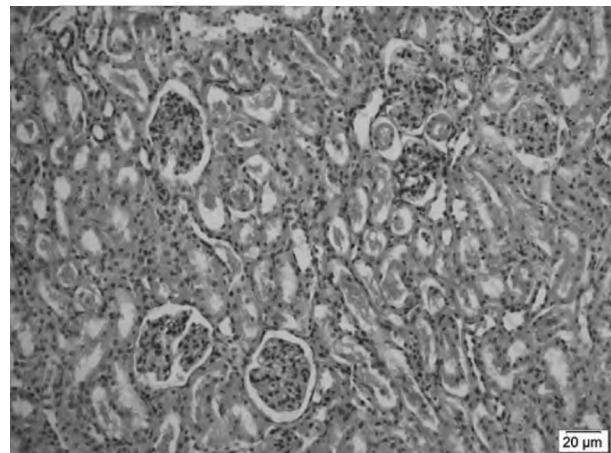
**Рис. 6. Мозкова речовина нирки. Еозинофільні маси в просвіті прямого каналця. Оксаліплатин. 21 добу. Гематоксилін та еозин. 36. ×200.**

пухких мас, однак ці випадки були одиничними (рис. 6), що свідчить про слабо виражену дію оксаліплатину на структуру цієї частини нирки в порівнянні з кірковою речовиною. Крім того, деякі епітеліоцити також мали порушену структурну організацію, як і в аналогічній групі тварин на 15 – добу.

За даними морфометричного аналізу загальна площа ниркового тільця достовірно не змінилася в порівнянні з контрольною групою, однак виявлено збільшення площі капілярних петель на 8,5% (P < 0,01) і зменшення просвіту ниркового тільця на 8,6% (P < 0,05) (табл. 2), що можливо є компенсаторною реакцією організму на дію оксаліплатину. Крім того, зафіксовано збільшення загальної площі ниркового тільця на 8,54% (P < 0,01) в порівнянні з аналогічною групою на 15 добу спостереження.

Поблизу судин зустрічали скупчення клітин, що складаються з лімфоцитів, макрофагів і плазмоцитів, так звані інтерстиціальні гранульоми, що свідчить про запальну реакцію аутоімунного типу (рис. 7) внаслідок дії оксаліплатина [7].

Поява таких запальних клітинних інфільтратів також підтверджує наявність ознак гострого тубуло-інтерстиціального нефриту в нирках тварин досліджуваної групи [5,7]. Подальший розвиток захворювання, якщо не робляться профілактичні заходи,



**Рис. 7. Скупчення лейкоцитів поблизу судини. Оксаліплатин, 21- доба. Гематоксилін та еозин. 36. ×200.**

призводить через 7-10 днів після початку запалення до фіброзних змін нирки [7].

**Висновки**

1. В результаті проведеного гістологічного аналізу з морфометрією ниркового тільця було встановлено, що застосування оксаліплатина вже на 15

**Морфометричні показники площі (мкм<sup>2</sup>)  
структур клубочків нирок щурів після впливу  
оксаліплатина (21 доба, M ± m)**

Групи	Площа структур ниркового тільця, мкм <sup>2</sup>		
	Загальна	Капілярна	Просвіт
Контроль	1740,31 ± 36,34	1116,02 ± 22,59	624,68 ± 19,95
Оксаліплатин	1782,42 ± 34,62 P1 > 0,05	1211,47 ± 26,79 P1 < 0,01	570,95 ± 16,90 P1 < 0,05

Примітка: P1 — порівняння середніх показників дослідної групи з контролем.

– добу порушує їх структурну організацію внаслідок зниження площі капілярних петель на 6,6% (P < 0,05) в порівнянні з контрольною групою. Виявлено дистрофічні порушення в проксимальних канальцях. На 21- добу відбувається прогресування дистрофічних

змін канальців за рахунок накопичення щільних еозинофільних мас в їх просвітах, а також формуються інтерстиціальні гранульоми в кірковому шарі паренхіми нирки.

2. У мозковій речовині нирки після дії оксаліплатина в обидва терміни спостереження зафіксовано порушення структурної організації епітеліоцитів лише на невеликих за проміжком ділянках прямих канальців. На 21- добу в просвіті одиничних канальців зафіксовано появу еозинофільних мас, що свідчить про дію оксаліплатина як на коркову, так і на мозкову речовину, проте зміни в мозковій речовині виражені слабше.

**Перспективи подальших досліджень.** З огляду на виявлені патоморфологічні зміни в структурі нирок в умовах токсичного впливу протипухлинного препарату оксаліплатин в експерименті на тваринах, необхідно продовження досліджень в умовах медикаментозної корекції.

### Література

1. Yevropeys'ka konventsiya pro zakhyst khrebetnykh tvaryn, shcho vykorystovuyut'sya dlya doslidnykh ta inshykh naukovykh tsiley. Strasburh, 18 bereznya 1986 roku: ofitsiyyny pereklad [Elektronnyy resurs] / Verkhovna Rada Ukrayiny. – Ofits. veb-sayt. – (Mizhnarodnyy dokument RadyYevropy). – Rezhym dostupu do dokumenta: – Rezhym dostupu do dokumenta: [http://zakon.rada.gov.ua/cgi-bin/laws/main.cgi?nreg=994\\_137](http://zakon.rada.gov.ua/cgi-bin/laws/main.cgi?nreg=994_137).
2. Zakon Ukrayiny № 3447-IV vid 21.02.2006 «Pro zakhyst tvaryn vid zhorstokoho povodzhennya» (Stattya 26).
3. Rebrova O.Yu. Statystycheskyy analiz medytsynskykh dannykh: prymereneye paketa pryklad. prohramm STATISTICA / O.Yu. Rebrova. — Moskva: Medya Sfera, 2002. — 305 s.: yl. — Byblyohr.: S. 270-285.
4. Sarkysov D.S. Mykroskopycheskaya tekhnika / D.S. Sarkysov, Yu.L. Perov. — M.:Medytsyna, 1996. — 542 s.
5. Airy M. Tubulointerstitial nephritis and cancer chemotherapy: update on a neglected clinical entity / M. Airy, R. Raghavan, L.D. Truong [et al.] // Nephron Dial Transplant. — 2013. — № 10. — P. 2502-2509.
6. Linkermann A. Renal tubular Fas ligand mediates fratricide in cisplatin-induced acute kidney failure / A. Linkermann, N. Himmerkus, L. Rolver [et al.] // Kidney Int. — 2011. — № 79 (2). — P. 169-178.
7. Praga M. Acute interstitial nephritis / M. Praga, E. Gonzalez // Kidney International. — 2010. — № 77 (11). — P. 956-961.
8. Raymond E. Oxaliplatin: A review of preclinical and clinical studies / E. Raymond, S.G. Chaney, A. Taama [et al.] // Ann. Oncol. — 1998. — № 9 (10). — P. 1053-1071.
9. Rodriguez-Iturbe B. The role of tubulointerstitial inflammation in the progression of chronic renal failure / B. Rodriguez-Iturbe, G. Garcia Garcia // Nephron Clin Pract. — 2010. — № 116. — P. 81-88.
10. Sancher-Lozada L.G. Glomerular hemodynamic changes associated with arteriolar lesions and tubulointerstitial inflammation / L.G. Sancher-Lozada, E. Tapia, R.J. Johnson [et al.] // Kidney International. — 2003. — Vol. 64, suppl. 86. — P. S9-S14.

УДК 616.61-021.6-085.277.3-092.9

#### НИРКОВА ТОКСИЧНІСТЬ ПРОТИПУХЛИННОГО ПРЕПАРАТУ ОКСАЛІПЛАТИН В ЕКСПЕРИМЕНТІ

**Бардер Е. Г., Дудніченко О. С.**

**Резюме.** У статті представлені результати дослідження структурних змін нирок щурів під впливом протипухлинного препарату оксаліплатин в умовах внутрішньочеревного введення тваринам. Встановлено, що оксаліплатин на 15 - добу після введення (через кожні три дні, 2,5 мг/кг) викликає дистрофічні зміни в проксимальних канальцях, а також порушує функцію ниркових тілець. Зафіксовано зниження площі капілярних петель на 6,6% (P < 0,05) в порівнянні з контрольною групою. На 21 - добу відбувається накопичення щільних еозинофільних мас в просвітах канальців, а також формуються інтерстиціальні гранульоми в корковому шарі паренхіми нирки, що призводить до порушення їх функції. У мозковій речовині нирки після дії оксаліплатина в обидва терміни спостереження зафіксовано порушення структурної організації епітеліоцитів лише на невеликих за протяжністю ділянках прямих канальців. На 21- добу в просвіті одиничних канальців зафіксовано появу еозинофільних мас, що свідчить про дію оксаліплатина як на коркову, так і на мозкову речовину, проте зміни в мозковій речовині виражені слабше.

**Ключові слова:** оксаліплатин, нефротоксичність, щури.

УДК 616.61-021.6-085.277.3-092.9

### ПОЧЕЧНАЯ ТОКСИЧНОСТЬ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ПРЕПАРАТА ОКСАЛИПЛАТИН В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

**Бардер Э. Г., Дудниченко А. С.**

**Резюме.** В статье представлены результаты исследования структурных изменений почек крыс под влиянием противоопухолевого препарата оксалиплатин в условиях внутрибрюшинного введения животным. Установлено, что оксалиплатин на 15 - сутки после введения (через каждые три дня, 2,5 мг/кг) вызывает дистрофические изменения в проксимальных канальцах, а также нарушает функцию почечных телец. Зафиксировано снижения площади капиллярных петель на 6,6 % ( $P < 0,05$ ) по сравнению с контрольной группой. На 21 - сутки происходит накопление плотных эозинофильных масс в просветах канальцев, а также формируются интерстициальные гранулемы в корковом слое паренхимы почки, что приводит к нарушению их функции. В мозговом веществе почки после действия оксалиплатина в оба срока наблюдения зафиксировано нарушение структурной организации эпителиоцитов лишь на небольших по протяженности участках прямых канальцев. На 21- сутки в просвете единичных канальцев зафиксировано появление эозинофильных масс, что свидетельствует о действии оксалиплатина как на корковое, так и на мозговое вещество, однако изменения в мозговом веществе выражены слабее.

**Ключевые слова:** оксалиплатин, нефротоксичность, крысы.

UDC 616.61-021.6-085.277.3-092.9

### RENAL TOXICITY OF ANTITUMOR DRUG OXALIPLATIN IN EXPERIMENT

**Barder E. G., Dudnichenko A. S.**

**Abstract. Purpose.** To study the structural changes in kidneys of the rats under the action of antitumor drug oxaliplatin.

**Object and methods.** The experiment was carried out on 18 white laboratory female rats with a body weight of  $200.0 \pm 30.0$  g 3<sup>th</sup> months age. The rats contained in the Experimental and Biological clinic of the "Institute of Spine and Joint Pathology", Kharkov, Ukraine. The animals were divided in to two groups of 9 rats in each: control and basis group. In the basis group oxaliplatin was administered intraperitoneally at a dose of 2.5 mg/kg every 3 days. The animals were removed from the experiment on days 15 and 21 under by decapitation under general anesthesia. Liver sections 7-9  $\mu$ m thick were stained with hematoxylin and eosin. For objectification, a morphometric evaluation of the liver sections was performed using a morphometric program Cell Sens Dimention under microscopes Olympus BX-53 and Axio Star Plus. Morphometric measure were carried in three fields of the field of view in each series of experiments. To assess of the kidneys performed morphometric study of renal corpuscles which include assessment of the total area in  $\text{mkm}^2$  and lumen and vascular glomeruli.

**Results.** We found that the administration of an antitumor drug oxaliplatin to rats disrupts the structural organization of the renal corpuscles as a reduction in the area of capillary loops. We also found that oxaliplatin causes dystrophic disorders in the proximal tubules of the kidneys. Further, these dystrophic changes in the renal tubules progress due to the accumulation of dense eosinophilic masses in the lumen of the tubules. Interstitial granulomas are formed in the cortical layer of the kidney parenchyma. In the medulla layer of the kidney under the action of oxaliplatin, we found a violation of the structural organization of the epitheliocytes of the renal tubules. Thus, the antitumor drug oxaliplatin has a toxic effect on both the cortex and the medulla of the kidney.

**Conclusion.** We have proved in the experiment that the anti-cancer drug oxaliplatin has a marked nephrotoxicity, which should be considered in clinical oncology.

**Keywords:** oxaliplatin, nephrotoxicity, rats.

*Рецензент – проф. Єрошенко Г. А.  
Стаття надійшла 27.05.2017 року*