

О. Г. Родинський, Ю. В. Козлова, Л. В. Гузь

Динаміка патологічних змін структури міокарда щурів за умов введення доксорубіцину

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

Ключові слова: доксорубіцин, міокард, щури.

У зв'язку з високою кардіотоксичністю доксорубіцин використовують для дослідження патогенезу серцевої недостатності. З метою вивчення динаміки патологічних змін серця в експерименті в 60 щурів із доксорубіциновою кардіоміопатією та в 60 щурів контрольної групи досліджували електрокардіографічні, патоморфологічні та патогістологічні зміни міокарда. Встановили, що незворотні ушкодження міокарда, які простежили в динаміці, а саме деструктивно-дегенеративні зміни кардіоміоцитів із втратою ними спеціалізованих ознак унаслідок дії доксорубіцину мають не тільки локальний, але й дифузний характер. Маркерами цих змін у функціональному аспекті є порушення автоматизму, провідності серця та серцева недостатність, що швидко прогресує.

Динамика патологических изменений структур миокарда крыс в условиях введения доксорубицина

А. Г. Родинский, Ю. В. Козлова, Л. В. Гузь

В связи с высокой кардиотоксичностью доксорубицин используют для исследования патогенеза сердечной недостаточности. С целью изучения динамики патологических изменений сердца в эксперименте у 60 крыс с доксорубициновой кардиомиопатией и у 60 крыс контрольной группы исследовали электрокардиографические, патоморфологические и патогистологические изменения миокарда. Установлено, что необратимые повреждения миокарда, прослеженные в динамике, а именно деструктивно-дегенеративные изменения кардиомиоцитов с потерей ими специализированных признаков в результате действия доксорубицина имеют не только локальный, но и диффузный характер. Маркерами этих изменений в функциональном аспекте являются нарушение автоматизма, проводимости сердца и быстро прогрессирующая сердечная недостаточность.

Ключевые слова: доксорубицин, миокард, крысы.**Патология.** – 2015. – №1 (33). – С. 8–11

Dynamics of pathological changes of myocardial structures of rats under administration of doxorubicin

A. G. Rodinskij, Ju. V. Kozlova, L. V. Guz'

Due to the high cardiotoxicity of doxorubicin it is used to study pathogenesis of heart failure.

Aim. In order to study the dynamics of pathological changes of the heart in the experiment, ECG, pathological and histopathological changes in the myocardium were investigated in 60 rats with doxorubicin cardiomyopathy and 60 rats in the control group.

Methods and results. We found that irreversible myocardial damage, established by us in the dynamics, namely destructive and degenerative changes of cardiomyocytes with the loss of their special characteristics, as a result of doxorubicin effect are not only local, but also diffuse, markers of which are the violation of the functional aspect of automaticity, conduction of the heart and rapidly progressive heart failure.

Key words: Doxorubicin, Myocardium, Rats.**Pathologia.** 2015; №1 (33): 8–11

Відомо про високу кардіотоксичність антрациклінового антибіотика доксорубіцину (Д), який широко застосовують для лікування злоякісних новоутворень [3,8]. У зв'язку із цим антрациклінові антибіотики викликали великий інтерес дослідників для вивчення патогенезу серцевої недостатності [9]. Розвиток антрациклінової кардіоміопатії базується на дегенеративно-дистрофічних змінах кардіоміоцитів, які, на думку багатьох дослідників, мають неспецифічний характер [5]. Незважаючи на те, що патологічні явища в міокарді описані доволі докладно, у фаховій літературі наявні різні погляди щодо їхньої локалізації, поширеності, динаміки та зв'язків із функціональними характеристиками серця [1].

Мета роботи

Дослідження динаміки патологічних змін структур серця за умов експериментальної доксорубіцинової кардіоміопатії.

Матеріали і методи дослідження

Дослідження здійснили на 120 щурах-самцях лінії Вістар віком 6–8 місяців і вагою 180–220 г. Тварин поділили на 2 групи: контрольну (n=60) та експериментальну (n=60). Кардіоміопатію моделювали шляхом внутрішньоочеревинного 5-кратного з інтервалом в 1 тиждень введення розчину доксорубіцину із розрахунку 5 мг/кг [2]. Тваринам контрольної групи внутрішньоочеревинно вводили 0,9% розчин NaCl у відповідні терміни [6]. Усі досліди виконали на 1, 7, 14, 21 та 28 добу після завершення введення доксорубіцину.

У визначені терміни спостереження щурам виконували електрокардіографічне (ЕКГ) дослідження з наступним виведенням з експерименту шляхом передозування розчином тіопенталу. В евтаназованих тварин вилучали серце для патоморфологічного дослідження. Після встановлення лінійно-вагових характеристик (довжина,

Лінійно-вагові характеристики сердець щурів у динаміці розвитку доксорубіцинової кардіоміопатії

Показники	Вага серця, мг	Довжина серця, мм	Ширина серця, мм	Товщина серця, мм	Товщина ЛШ, мм	Товщина ПШ, мм
Контроль	1052,0±83,4	17,2±0,4	11,2±0,7	8,2±0,7	3,1±0,2	0,96±0,05
1 доба Д	1432,0±96,3*	18,4±0,4*	13,6±0,6*	10,2±0,7*	3,9±0,3*	1,08±0,06
7 доба Д	1416,0±98,5*	18,0±0,4	12,8±0,7*	10,4±0,4*	3,9±0,2*	1,08±0,04
14 доба Д	1374,0±86,6*	17,4±0,2	12,2±0,8*	10,0±0,3*	3,7±0,2*	1,04±0,02
21 доба Д	1403,0±61,8*	17,9±0,3	12,9±0,5*	10,1±0,4*	3,8±0,2*	1,06±0,03
28 доба Д	1395,0±62,2*	17,7±0,3	12,5±0,5*	10,2±0,2*	3,8±0,1*	1,06±0,02

Примітка: * – вірогідні відмінності між контрольною та експериментальною групами тварин при $p \leq 0,05$.

ширина, товщина (мм) та вага (мг) серця) здійснювали розтин порожнин «за током крові» та вимірювали в середній третині шлуночків товщину стінок. Після цього за стандартною методикою виконали патогістологічне дослідження із забарвленням мікроскопічних зрізів гематоксилін-еозином [4].

Усі експерименти виконали згідно з міжнародними вимогами та нормами гуманного ставлення до тварин (Конвенція Ради Європи від 18.03.1986 р.; Закон України від 21.02.2006 р. №3447-IV), що затверджено на засіданні комісії з питань біомедичної етики ДЗ «ДМА МОЗ України» (протокол № 5 від 01.04.2013 р.).

Статистично результати опрацювали з урахуванням критерію Стюдента. Вірогідними вважали відмінності середніх арифметичних при $p \leq 0,05$ [6].

Результати та їх обговорення

Для визначення динаміки патологічних змін доксорубіцинової кардіоміопатії перед виведенням з експерименту у тварин реєстрували ЕКГ. Протягом цього дослідження у групі щурів із доксорубіциновою кардіоміопатією на всіх термінах спостереження виявили порушення автоматизму: сповільнення скорочень серця (брадикардія), порушення провідності, зокрема передсердно-шлуночкової блокади I ступеня з вірогідним подовженням інтервалу P-Q й повні поперекові блокади. Крім цих змін майже в усіх експериментальних тварин на ЕКГ фіксували зміщення сегмента S-T і подовження Q-T та S-T інтервалів, що також свідчить про електричну нестабільність.

Порівнюючи кардіометричні параметри, встановили вірогідне збільшення лінійних і вагових величин сердець після введення доксорубіцину (табл. 1).

Проаналізувавши результати, відзначили, що різке (в порівнянні з контролем) збільшення ваги, довжини, ширини, товщини серця та товщини стінки лівого шлуночка відбувається на 1 добу після останнього введення Д. Це пов'язано з набряком міокарда, який розвинувся в результаті гострого запалення. Надалі запальний процес згасав. Про це свідчить поступове зменшення лінійно-вагових характеристик міокарда (табл. 1).

Про ознаки запалення свідчили й дані патогістологічного дослідження. Так, дослідження структури міокарда лівого шлуночка (ЛШ) сердець щурів експериментальної групи на 1 добу спостереження показали наявність у всіх шарах вогнищевих і дифузних ділянок із деструктивно-некротичними змінами в кардіоміоцитах, навколо яких виявили значні поля клітинної інфільтрації (рис. 1).

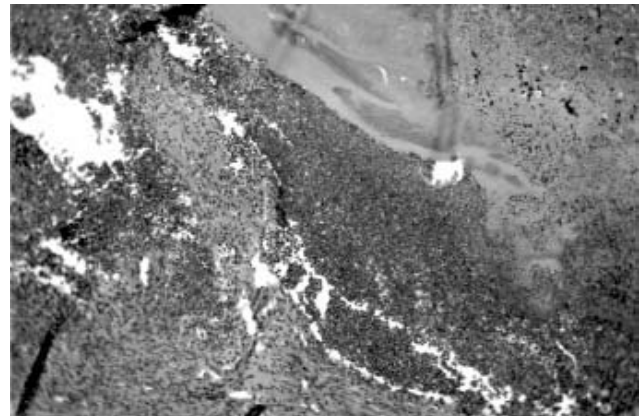


Рис. 1. Гістологічний зріз міокарда ЛШ щура на 1 добу. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб. $\times 100$.

Поряд зі структурними змінами були різко виражені гемодинамічні розлади переважно у вигляді нерівномірного кровонаповнення артеріальних, венозних судин вінцевої системи та місцями зі стазами переважно в капілярній ланці.

У наступних термінах спостереження (на 7 та 14 добу) зберігалися вогнищеві ділянки міжм'язових крововиливів та явища стромального набряку (рис. 2). Навколо некротичних ділянок спостерігали скупчення лейкоцитарно-лімфогістіоцитарних інфільтратів (рис. 2).

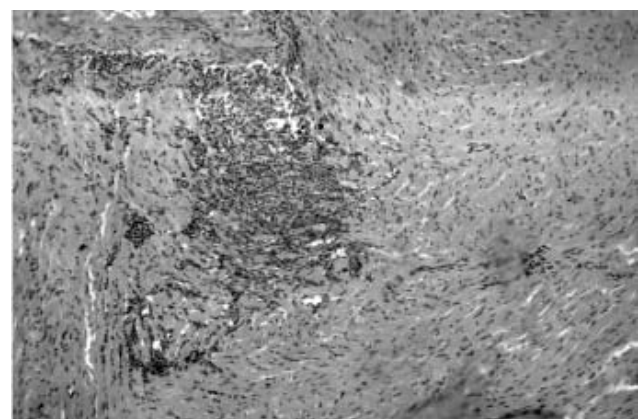


Рис. 2. Гістологічний зріз міокарда ЛШ щура на 7 добу після початку експерименту. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб. $\times 100$.

На 21 і 28 добу експерименту виявили значне зменшення інтерстиціального набряку, вздовж ділянок демаркацій з'являлися пухккі сполучнотканинні тяжі

(рис. 3). На місцях лейкоцитарного детриту виявили темно-фіолетові включення неправильної форми, що може вказувати на відкладання кальцію. Характерні особливості на цих етапах дослідження – виявлення в усіх полях зору кардіоміоцитів з явищами гідропічної дистрофії (рис. 3).

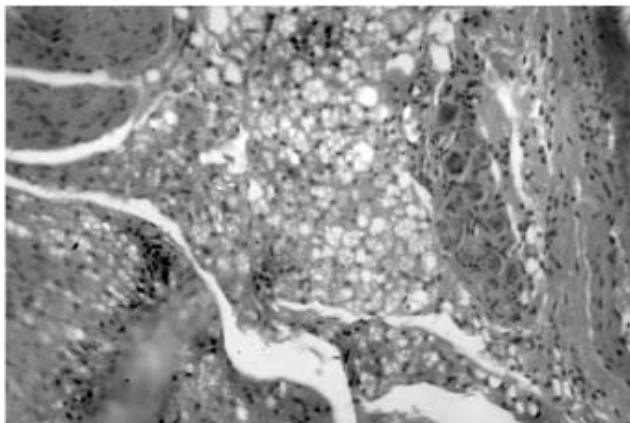


Рис. 3. Гістологічний зріз міокарда ЛШ шура на 28 добу після початку експерименту. Забарвлення гематоксилін-еозином. 36. ×200.

Патологічні зміни в серці, котрі виявили та простежили протягом 4 тижнів після останнього введення доxorубіцину, підтвердили з використанням функціональних

і морфологічних методів дослідження. Вони свідчили про розвиток у міокарді незворотних явищ зі швидким прогресуванням.

Висновки

1. У ранні терміни дослідження, а саме на 1–14 добу виявили такі патологічні явища, як набряк і некротичні зміни кардіоміоцитів з ознаками значної клітинної інфільтрації. У пізні терміни (21–28 доба) домінували репаративні процеси з дистрофічними змінами кардіоміоцитів.
2. Аналіз лінійно-вагових характеристик серця в щурів експериментальної групи показав збільшення ваги, довжини, ширини, товщини серця й окремо правого та лівого шлуночків, що спостерігали в усі терміни спостереження.
3. Незворотні ушкодження міокарда внаслідок дії доxorубіцину, які простежили в динаміці, мають не тільки локальний, але й дифузний характер. Маркерами цих змін у функціональному аспекті є порушення автоматизму, провідності серця та серцевої недостатності, що швидко прогресує.

Перспективи подальших досліджень полягають у вивченні змін функцій головного мозку в динаміці розвитку порушень міокарда, що відбуваються при введенні доxorубіцину.

Список літератури

1. Вплив рубоміцину гідрохлориду на показники гемодинаміки у кролів / І.С. Чекман, Н.О. Горчакова, І.В. Ніженківська та ін. // Ліки. – 2003. – №5–6. – С. 88–89.
2. Доклинические исследования лекарственных средств: методические рекомендации / под. ред. А.В. Стефанова. – К.: Авиценна, 2002. – 568 с.
3. Калинкина Н.В. Повреждения сердца антрациклинами: частота и факторы риска / Н.В. Калинкина // Український медичний часопис. – 2000. – Т. 16. – №2. – С. 25–29.
4. Коржевский Д.Э. Основы гистологической техники / Д.Э. Коржевский, А.В. Гиляров – СПб.: СпецЛит, 2010. – 95 с.
5. Индуцированная антрациклинами кардиотоксичность: механизмы развития и клинические проявления / М.Г. Матяш, Т.Л. Кравчук, В.В. Высоцкая и др. // Сибирский онкологический журнал. – 2008. – Т. 30. – №6. – С. 66–75.
6. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. – К.: Морион, 2001. – 408 с.
7. Родинський О.Г. Поведінкові розлади у щурів на фоні експериментальної хронічної міокардіальної дисфункції / О.Г. Родинський, Ю.В. Козлова // Медичні перспективи. – 2014. – Т. 19. – №3. – С. 10–14.
8. Семенова А.И. Кардио- и нейротоксичность противоопухолевых препаратов (патогенез, клиника, профилактика, лечение) / А.И. Семенова // Практическая онкология. – 2009. – Т. 10. – №3. – С. 168–176.
9. An integrated characterization of serological, pathological, and functional events in doxorubicin-induced cardiotoxicity / L. Cove-Smith, N. Woodhouse, A. Hargreaves [et al. // Toxicol Sci. – 2014. – Vol. 140. – №1. – P. 3–15.
10. Analysis of proteome changes in doxorubicin-treated adult rat cardiomyocyte / S.N. Kumar, E.A. Konorev, D. Aggarwal, B. Kalyanaraman // J. Proteomics. – 2011. – Vol. 74. – №5. – P. 683–697.

References

1. Chekman, I. S., Gorchakova, N. O., Nizhenkiv's'ka, I. V., Nagorna, O. O., Mincer, V. O., Trofimova, T. S., & Vygiv's'ka, O. A. (2003) Vplyv rubomitsynu hidrokhlorydu na pokaznyky hemodynamiky u kroliv [Effect of rubomicin hydrochloride on hemodynamic parameters in rabbits]. *Medicine*, 5–6, 88–89. [in Ukrainian].
2. Stefanov, A. V. (Ed) (2002) *Doklinicheskie issledovaniya lekarstvennykh sredstv [Preclinical studies of drugs]*. Kyiv: Avicenna. [in Ukrainian].
3. Kalinkina, N. V. (2000) Povrezhdeniya serdca antraciklinami: chastota i faktory riska [Damage to the heart anthracyclines: incidence and risk factors]. *Ukrainskyi medychnyi chasopys*, 16(2), 25–29. [in Ukrainian].
4. Korzhevskij, D. E., & Gilyarov, A. V. (2010) *Osnovy gistologicheskoy tekhniki [Fundamentals of histological techniques]*. Saint Petersburg: SpecLit. [in Russian].
5. Matyash, M. G., Kravchuk, T. L., Vysotskaya, V. V., Chernov, V. I., Goldberg, V. E. (2008) Inducirovannaya antraciklinami kardiotoksichnost': mekhanizmy razvitiya i klinicheskie proyavleniya [Anthracycline-induced cardiotoxicity: mechanisms of development and clinical manifestations]. *Sibirskij onkologicheskij zhurnal*, 30(6), 66–75. [in Russian].
6. Lapach, S. N., Chubenko, A. V., Babich, P. N. (2001) *Statisticheskie metody v mediko-biologicheskikh issledovaniyakh s ispol'zovaniem Excel [Statistical methods in biomedical research using Excel]*. Kyiv: Morion. [in Ukrainian].
7. Rodynskiy, O. G., & Kozlova, Yu. V. (2014) Povedinkovi rozlady u shchuriv na foni eksperymentalnoi khronichnoi miokardialnoi dysfunktsii [Behavioral disorders in rats on a background of chronic experimental myocardial dysfunction]. *Medychni perspektyvy*, 19(3), 10–14. [in Ukrainian].
8. Semenova, A. I. (2009) Kardio- i nejrotoksichnost' protivopukhoveykh preparatov (patogenez, klinika, profilaktika,

- lechenie) [Cardio- and neurotoxicity of anticancer drugs (pathogenesis, clinical, prevention, treatment)]. *Prakticheskaya onkologiya*, 10(3), 168–176. [in Russian].
9. Cove-Smith, L., Woodhouse, N., Hargreaves, A., Kirk, J., Smith, S., Price, S. A., et al. (2014) An integrated characterization of serological, pathological, and functional events in doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Toxicol Sci.*, 140(1), 3–15. doi: 10.1093/toxsci/kfu057.
10. Kumar, S. N., Konorev, E. A., Aggarwal, D. & Kalyanaraman, B. (2011) Analysis of proteome changes in doxorubicin-treated adult rat cardiomyocyte. *J. Proteomics*, 74 (5), 683–697. doi: 10.1016/j.jprot.2011.02.013.

Відомості про авторів:

Родинський О.Г., д. мед. н., професор, зав. каф. фізіології, ДЗ «Дніпропетровська державна медична академія МОЗ України».
Козлова Ю.В., аспірант каф. фізіології, ДЗ «Дніпропетровська державна медична академія МОЗ України», E-mail: jylyftuna@ukr.net.
Гузь Л.В., к. біол. н., викладач каф. фізіології, ДЗ «Дніпропетровська державна медична академія МОЗ України».

Сведения об авторах:

Родинский А.Г., д. мед. н., профессор, зав. каф. физиологии, ГУ «Днепропетровская государственная медицинская академия МЗ Украины».
Козлова Ю.В., аспирант каф. физиологии, ГУ «Днепропетровская государственная медицинская академия МЗ Украины»,
E-mail: jylyftuna@ukr.net.

Гузь Л.В., к. биол. н., преподаватель каф. физиологии, ГУ «Днепропетровская государственная медицинская академия МЗ Украины».

Information about authors:

Rodinskij A.G., Professor, DM, Head of the Department of Physiology SE «Dnipropetrovsk Medical Academy of Health Ministry of Ukraine».

Kozlova Ju. V., Aspirant of the Department of Physiology, SE «Dnipropetrovsk Medical Academy of Health Ministry of Ukraine»,

E-mail: jylyftuna@ukr.net.

Guz' L.V., PhD, Instructor of the Department of Physiology, SE «Dnipropetrovsk Medical Academy of Health Ministry of Ukraine».

Надійшла в редакцію 17.03.2015 р.