

БИОЛОГИЯ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА

Научная статья

УДК 615.2.076.9.015.4

DOI: 10.17816/pmj401151-163

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ИЗМЕНЕНИЙ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ КРЫС ПРИ ВВЕДЕНИИ ТАРГЕТНОГО ПРЕПАРАТА «СУТЕНТ» В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Н.И. Гуляева, Г.П. Вдовина, Г.Г. Фреинд, А.А. Бурлуцкая, М.П. Чугунова, М.О. Карипова*
Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера, Россия

MORPHOLOGICAL ASSESSMENT OF CHANGES IN INTERNAL ORGANS OF RATS WITH INTRODUCTION OF TARGETED DRUG “SUTENT” IN EXPERIMENT

N.I. Gulyaeva, G.P. Vdovina, G.G. Freind, A.A. Burlutskaya, M.P. Chugunova, M.O. Karipova*
E.A. Vagner Perm State Medical University, Russian Federation

Цель. Установить изменения гистологического строения внутренних органов и показателей крови у лабораторных крыс в эксперименте при внутрижелудочном введении препарата «Сутент®» в дозах 7 и 35 мг/кг веса.

© Гуляева Н.И., Вдовина Г.П., Фреинд Г.Г., Бурлуцкая А.А., Чугунова М.П., Карипова М.О., 2023

тел. +7 09 102 31 40

e-mail: bizon55@mail.ru

[Гуляева Н.И. (*контактное лицо) – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник ЦНИЛ; Вдовина Г.П. – доктор фармакологических наук, профессор, заведующая кафедрой фармакологии; Фреинд Г.Г. – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой патологической анатомии с секционным курсом; Бурлуцкая А.А. – преподаватель кафедры фармакологии; Чугунова М.П. – кандидат фармакологических наук, ведущий научный сотрудник ЦНИЛ; Карипова М.О. – ассистент кафедры микробиологии и вирусологии].

© Gulyaeva N.I., Vdovina G.P., Freind G.G., Burlutskaya A.A., Chugunova M.P., Karipova M.O., 2023

tel. +7 909 102 31 40

e-mail: bizon55@mail.ru

[Gulyaeva N.I. (*contact person) – Candidate of Medical Sciences, leading researcher of the Central Scientific Research Laboratory; Vdovina G.P. – Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor, Head of the Department of Pharmacology; Freind G.G. – MD, PhD, Professor, Head of the Department of Pathological Anatomy with Sectional Course; Burlutskaya A.A. – Lecturer of the Department of Pharmacology; Chugunova M.P. – Candidate of Pharmaceutical Sciences, leading researcher of the Central Scientific Research Laboratory; Karipova M.O. – Assistant of the Department of Microbiology and Virology].

Материалы и методы. Исследование проведено на 48 беспородных белых крысах, разделенных на группы: № 1 и 4 – получали цитотоксический препарат «Сутент®» в дозе 7 мг/кг (терапевтическая доза); № 2 и 5 – получали препарат в дозе 35 мг/кг (доза превышает терапевтическую в 5 раз); № 3 и 6 – контрольные группы. В группах № 1–3 забой животных производился через 30 дней после начала эксперимента, в группах № 4–6 – через две недели после отмены препарата. Ежедневно в течение 30 дней опытным группам вводили внутривенно препарат «Сутент®» в виде водной суспензии в воде очищенной, в контрольной группе крысы получали воду очищенную в эквивалентном объеме. Изучались гистологические препараты органов, окрашенные гематоксилином и эозином, гематологические показатели крови.

Результаты. В крови установлено развитие гипохромной анемии, тромбоцитопении и гранулоцитопении. При изучении гистологического строения органов во всех экспериментальных группах выявлено нарушение кровообращения в виде венозного полнокровия и стаза крови в капиллярах, развитие кровоизлияний в легком, печени, почках, надпочечниках, поджелудочной железе, оболочках желудка и пищевода. В печени, поджелудочной железе и надпочечниках наблюдались дистрофические изменения клеток и фокусы некрозов. В группе № 2 было определено поражение нервных клеток коры головного мозга, кардиомиоцитов сердца, клеток щитовидной железы, развитие острого дуоденита с формированием микроабсцессов.

Выводы. Введение «Сутента» в дозе 35 мг/кг вызвало более выраженную по сравнению с дозой 7 мг/кг гематологическую, гепатологическую, кардиологическую и неврологическую токсичность, более значительное поражение эндокринных органов, а также способствовало присоединению вторичной инфекции и развитию острого дуоденита.

Ключевые слова. «Сутент», эксперимент, гистологическое строение органов, кровь.

Objective. To establish in the experiment the changes in histological structure of the internal organs and blood indices in laboratory rats with intragastric introduction of the drug Sutent® in the doses of 7 mg/kg and 35 mg/kg of the weight.

Materials and methods. The study was conducted on 48 breedless white rats divided into the following groups: groups 1 and 4 – received cytotoxic drug Sutent® in the dose of 7 mg/kg (therapeutic dose), groups 2 and 5 – Sutent® in the dose of 35 mg/kg (fivefold exceeding the therapeutic dose), groups 3 and 6 – the control groups. In groups 1, 2, 3 animal were killed 30 days after the onset of the experiment, in groups 4, 5, 6 – two weeks after the drug withdrawal. Every day during 30 days, the experimental groups were introduced the intragastric drug Sutent® in the form of aqueous suspension in the purified water; in the control group the rats received the purified water in the equivalent volume. The histological preparations of organs stained with hematoxylin and eosin as well as the hematological indices of blood were investigated.

Results. The development of hypochromic anemia, thrombocytopenia and granulocytopenia in the was identified. While studying the histological structure of organs, in all experimental groups there was detected a disturbed circulation in the form of venous hyperemia and blood stasis in the capillaries, the development hemorrhages in the lung, liver, kidneys, adrenal glands, pancreas, gastric and esophageal mucosa. In the liver, pancreas and adrenal glands, dystrophic changes in the cells and necrosis foci were observed. In group 2, affection of the cerebral cortex nerve cells, heart cardiomyocytes, thyroid cells, acute duodenitis with formation of microabscesses was established.

Conclusions. Introduction of Sutent® in the dose of 35 mg/kg, compared with the dose of 7 mg/kg, caused a more expressed hematological, hepatological, cardiological and neurological toxicity, more obvious lesion of endocrine organs; it also contributed to the development of associated secondary infection and acute duodenitis.

Keywords. Sutent®, experiment, histological structure of organs, blood.

ВВЕДЕНИЕ

Одной из проблем современной онкологии является почечноклеточный рак (ПКР), который характеризуется высоким

метастатическим потенциалом. 23 764 больных ПКР были выявлены в России в 2017 г., а абсолютное число умерших составило 7063 человека. ПКР мало чувствителен к химиотерапии и лучевой терапии, рецидиви-

рует в 20–40 % случаев после нефрэктомии. Поэтому значительное количество больных ПКР нуждаются в длительной системной терапии [1].

При ПКР происходит гиперэкспрессия генов, кодирующих сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF), тромбоцитарный фактор роста (PDGF), трансформирующий фактор роста (TGF- α), которые ответственны за неоангиогенез и клеточную пролиферацию. Причиной изменения их экспрессии является потеря активности гена VHL (von Hippel-Lindau) в результате его мутации или метилирования. VHL-комплекс разрушается, в результате этого происходит накопление белка HIF-1, что способствует гиперэкспрессии соответствующих генов. Рост и метастазирование опухоли во многом зависят от эффективного кровоснабжения и доступа кислорода за счет неоангиогенеза, который развивается в результате сложного взаимодействия пролиферирующих эндотелиальных, стромальных клеток и межклеточного матрикса. VEGFR считается одним из наиболее важных факторов, регулирующих данные процессы в опухоли, а избыточная продукция PDGF вызывает стимуляцию перицитов, также способствуя неоангиогенезу [2].

В результате открытия патогенетического пути развития ПКР, связанного с геном VHL, в 2005 г. в России были разрешены к применению таргетные препараты, подавляющие активность VEGF и его рецепторов. Одним из них является лекарственный препарат «Сутент®» – низкомолекулярный ингибитор тирозинкиназ, воздействующий на все известные виды рецепторов к PDGF и VEGF – VEGFRs, PDGFR- α , PDGFR- β , c-KIT и FLT-3, которые регулируют рост опухоли за счет пролиферации опухолевых клеток и ангиогенеза, обеспечивают ее метастазирование. В эксперименте установлено, что ингибиторы тироксинкиназ вызывают дегенерацию и

некроз клеток опухоли без значительного изменения ее размеров [3]. На мышцах линии C57BL/6J препарат подавлял рост опухоли за счет нарушения ее васкуляризации, приводил к снижению частоты метастазирования на 83 % на модели карциномы легких Льюиса. В других экспериментах была показана высокая противоопухолевая активность при лечении меланомы, рака толстой кишки и легкого. Применение «Сутента» для лечения больных ПКР в первой линии терапии увеличило общую и безрецидивную выживаемость [4; 5].

Для лечения ПКР «Сутент» принимается в дозе 50 мг/сут в течение 4 недель с двухнедельным перерывом в режиме монотерапии. Необходимость принимать препарат для поддержания терапевтического эффекта в течение длительного времени приводит к развитию выраженных побочных реакций. Наиболее частыми побочными эффектами оказались астения, диарея, кожная сыпь, уменьшение фракции выброса левого желудочка, артериальная гипертония, а также тромбоцитопения, нейтропения и гипотиреоз. В ряде публикаций представлены сведения о клиническом течении и лечении осложнений, развивающихся на фоне монотерапии «Сутентом» у онкобольных [6; 7]. Однако до сих пор не изучены морфологические изменения внутренних органов при применении «Сутента» в качестве монотерапии ПКР.

Цель исследования – установить изменения гистологического строения внутренних органов и гематологических показателей крови у лабораторных крыс в эксперименте при внутрижелудочном введении таргетного препарата «Сутент®» в дозах 7 и 35 мг/кг.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проведены на белых беспородных крысах обоего пола массой в

среднем 200–250 г. Животных содержали в виварии при температуре воздуха 20–22 °С, естественном освещении при свободном доступе к пище и воде. Все работы с лабораторными животными выполнены в соответствии с этическим принципам, принятыми Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в других научных целях (Страсбург, 18 марта 1986 г.). Исследование было одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера МЗ РФ, протокол № 5 от 24.06.2020. Лабораторные животные были распределены на группы № 1 и 4 – получали цитотоксический препарат «Сутент®» в дозе 7 мг/кг веса; № 2 и 5 – получали препарат в дозе 35 мг/кг веса; № 3 и 6 – контрольные группы. В каждой группе было по 8 животных (4 самца и 4 самки). Всего в эксперименте участвовало 48 животных. Ежедневно один раз в сутки в течение 30 дней опытным группам вводили внутрижелудочно препарат «Сутент®» в виде водной суспензии в воде очищенной в объеме, не превышающем 0,5 мл. Согласно действующей инструкции по применению зарегистрированного препарата «Сутент®», в капсулах 50 мг («Пфайзер Инк», США) максимальная суточная доза препарата составляет 75 мг. С использованием общепринятых коэффициентов пересчета [8] была рассчитана терапевтическая доза для исследуемых животных, которая составила 7 мг/кг. В результате для перорального введения экспериментальным животным были выбраны следующие дозы препарата: 1-я доза – 7 мг/кг (терапевтическая доза); 2-я доза – 35 мг/кг (в 5 раз больше терапевтической дозы). В контрольных группах животные получали воду очищенную в том же режиме дозирования. По окончании срока наблюдения животных выводили из эксперимента путем декапитации под эфирным наркозом.

Забой животных групп № 1–3 производили через 30 дней после начала эксперимента; забой животных групп № 4–6 – через две недели после прекращения эксперимента (отставленные группы). Кровь в объеме 1,0 мл забирали на исследование гематологических показателей. С помощью гематологического анализатора Medonik определяли в крови количество эритроцитов, тромбоцитов и лейкоцитов, содержание гемоглобина, среднее содержание гемоглобина в эритроците, гематокрит. В биохимической лаборатории в крови животных выявляли АЛТ, АСТ, ТТТ, ЩФ, общий белок, креатинин, мочевины, глюкозу. Для микроскопического изучения кусочки сердца, лёгких, печени, селезёнки, почки, надпочечника, щитовидной железы, поджелудочной железы, пищевода, желудка, двенадцатиперстной кишки, яичника и семенника фиксировали в течение 24 ч в 10%-ном забуференном нейтральном растворе формалина. После фиксации материал заливали в парафин по общепринятой схеме, готовили гистологические срезы толщиной 5 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином. Микроскопирование и фотографирование препаратов проводили с помощью микроскопа «Ломо» «Микмед-6» при увеличении 100, 200, 400 и цифровой фотокамеры TourCam. Количественные показатели обрабатывали статистически: вычисляли средние показатели (M) и ошибку репрезентативности средней арифметической (m). Для определения достоверного различия дисперсий признаков применялся критерий Фишера (F), при оценке статистической достоверности различий (p) использовали двухвыборочный критерий Стьюдента (t). Статистически значимыми считали различия при уровне значимости $p < 0,05$. Статистическая обработка данных проводилась на ПК с использованием встроенного пакета анализа табличного процессора Excel® 2016 MSO.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При проведении эксперимента по внутрижелудочному введению препарата «Сутент» произошла гибель 4 животных в группе № 4 (50 % животных), 2 животных в группе № 2 (25 %), 4 животных (50 %) – в группе № 5.

Введение «Сутента» в дозе 7 мг/кг в течение 30 дней в группе № 1 вызвало статистически значимое снижение количества эритроцитов (на 18,8 % у самцов и на 10,9 % у самок) и гемоглобина, по сравнению с показателями контрольной группы (таблица). Количество тромбоцитов не имело статистически достоверных отклонений, однако в группе № 4 произошло увеличение их содержания у самок. При неизменном содержании в крови лейкоцитов отмечалось увеличение абсолютного количества агранулоцитов

(лимфоцитов и моноцитов) при резком снижении числа гранулоцитов на 73,6 % у самцов и 66,3 % у самок. Через две недели после отмены препарата наблюдалась нормализация гематологических показателей, за исключением более низкого, чем в норме, количества эритроцитов у самцов, и значительного увеличения числа лейкоцитов за счет резкого возрастания количества гранулоцитов на 49,8 % у самцов и 74,8 % у самок.

Поступление препарата в дозе 35 мг/кг в течение 30 дней (группа № 2) вызвало уменьшение количества эритроцитов на 22,7 % у самцов и 22,6 % самок, снижение содержания гемоглобина, падение числа тромбоцитов на 35,4 % у самцов и 45 % у самок и лейкоцитов на 55,6 % и 64,3 % соответственно. Содержание в крови агранулоцитов было увеличено, а число гранулоцитов

Показатели периферической крови у экспериментальных крыс ($M \pm m$)

Животное	Контроль	Доза, мг/кг		Контроль отсроченный	Доза, мг/кг	
		7	35		7, отсрочено	35, отсрочено
Количество эритроцитов ($10^{12}/л$) (RBC)						
Самцы	8,44 ± 0,08	6,85 ± 0,18*	6,52 ± 0,20*	8,53 ± 0,12	7,86 ± 0,05*	6,35 ± 0,02*
Самки	7,30 ± 0,16	6,50 ± 0,03*	5,65 ± 0,09*	7,11 ± 0,18	7,04 ± 0,12	5,72 ± 0,13*
Количество гемоглобина (г/л) (HGB)						
Самцы	146,33 ± 1,31	135,25 ± 2,80	116,75 ± 2,93*	146,67 ± 0,84	147,0 ± 0,89	131,0 ± 1,79*
Самки	138,17 ± 1,97	125,25 ± 0,47*	102,75 ± 2,09*	137,5 ± 2,16	140,5 ± 2,01	130,50 ± 0,22
Среднее содержание гемоглобина в клетке (pg) (MCH) ЦП						
Самцы	17,35 ± 0,21	19,88 ± 0,21*	17,95 ± 0,15	17,27 ± 0,28	18,70 ± 0,12*	20,70 ± 0,36
Самки	19,0 ± 0,21	20,33 ± 0,27*	18,05 ± 0,12*	19,45 ± 0,22	20,0 ± 0,04	22,85 ± 0,51
Гематокрит (%) (HCT)						
Самцы	42,23 ± 0,48	38,55 ± 0,76*	32,65 ± 0,85*	42,88 ± 0,57	42,6 ± 0,22	39,70 ± 0,63
Самки	39,82 ± 0,55	35,9 ± 0,33*	27,80 ± 0,69*	39,63 ± 0,56	40,20 ± 0,72	40,55 ± 0,92
Тромбоциты ($10^9/л$) (PLT)						
Самцы	682,0 ± 22,82	585,25 ± 21,25	440,5 ± 23,51*	672,33 ± 24,67	674,0 ± 7,16	1149,0 ± 30,41*
Самки	597,0 ± 70,17	610,5 ± 20,35	328,0 ± 28,7*	663,67 ± 11,53	834,0 ± 6,71*	1246,5 ± 44,1*
Количество лейкоцитов ($10^9/л$) (WBC)						
Самцы	10,88 ± 0,43	11,55 ± 0,78	4,83 ± 0,36*	10,48 ± 1,35	17,45 ± 1,50	11,30 ± 1,39
Самки	7,08 ± 0,67	6,90 ± 0,78	2,53 ± 0,20*	6,45 ± 0,42	9,25 ± 0,20	12,15 ± 2,44
Агранулоциты (лимфоциты), $10^9/л$ (LYM)						
Самцы	70,65 ± 2,7	89,5 ± 1,22*	80,75 ± 1,45*	78,25 ± 3,30	73,0 ± 2,68	56,50 ± 6,48*
Самки	69,98 ± 2,55	85,0 ± 0,93*	83,5 ± 1,74*	77,25 ± 3,51	67,5 ± 2,46	50,0 ± 3,13*
Гранулоциты, $10^9/л$ (GRAN)						
Самцы	22,73 ± 2,72	6,0 ± 0,26*	11,25 ± 0,94*	14,68 ± 3,39	22,0 ± 1,79	36,50 ± 6,93*
Самки	23,73 ± 2,34	8,0 ± 0,93*	11,0 ± 1,86*	16,02 ± 3,17	28,0 ± 1,34	43,0 ± 1,34*

Примечание: * – $p < 0,05$.

снижено на 50,5 у самцов и 53,6 % у самок (см. таблицу). После отмены препарата в группе № 5 количество эритроцитов оставалось сниженным, а содержание гемоглобина имело тенденцию к восстановлению. Число тромбоцитов было резко увеличено на 70,9 % у самцов и 87,8 % у самок, содержание лейкоцитов у самок выросло на 88,3 %, а у самцов соответствовало контролю. Изменилось соотношение гранулоцитов и агранулоцитов: количество агранулоцитов статистически достоверно снизилось, а число гранулоцитов возросло более чем на 100 % у самцов и самок. Такие показатели свидетельствуют об активизации миелопоэза и восстановлении функции красного костного мозга после прекращения действия препарата. Доказательством этого факта явилось появление в крови крыс группы № 2 и 5 полихроматофилов (ретикулоцитов) и палочкоядерных форм гранулоцитов. Более медленно происходило восстановление эритропоэза, так как эритроциты являются долгоживущими клетками.

В результате введения препарата в дозе 35 мг/кг в крови животных группы № 2 установлено статистически значимое повышение уровня АЛТ (до 262,4 Ед/л при норме 70,5 Ед/л), АСТ (до 501,9 Ед/л при норме 122,2 Ед/л), щелочной фосфатазы (до 518,7 Ед/л при норме 361,5 Ед/л) и ГГТ (до 9,4 Ед/л при норме 4,8 Ед/л). Через 2 недели после отмены препарата в группе № 5 показатели АЛТ (93,3 Ед/л), АСТ (182,9 Ед/л) и ГГТ (9,2 Ед/л) имели тенденцию к нормализации, но оставались повышенными. В группе № 1 биохимические показатели соответствовали контрольным данным.

Гематологическая токсичность при приеме «Сутента» выявляется у онкобольных с частотой, по разным данным, от 16 до 80 % [9; 10]. Основными мишенями препарата являются рецепторы VEGF, PDGFR и рецептор

стволовых клеток c-KIT. Блокирование рецептора к PDGF напрямую подавляет образование тромбоцитов в красном костном мозге. Рецептор c-KIT участвует в регуляции пролиферации и дифференцировки клеток, в том числе стволовых клеток красного костного мозга, а также в поддержании механизмов апоптоза и клеточной адгезии. Ингибирование c-KIT является причиной развития гранулоцитопении и анемии. Мутация рецептора часто определяется у онкобольных, например, при опухолях пищеварительной системы – в 85–90 % случаев [11; 12].

У всех животных в экспериментальных группах № 1 и 2 во внутренних органах были установлены нарушения кровообращения в виде венозного полнокровия и стазы крови в сосудах микроциркуляторного русла. В капиллярах и венулах наблюдался сладж эритроцитов, плазморрагии, во многих органах был выявлен периваскулярный отек. Изменение состава крови, угнетение гранулоцитарного, эритроцитарного и тромбоцитарного ростков кроветворения в ходе эксперимента, тяжелые нарушения кровообращения привели к развитию кровоизлияний во внутренних органах. Они наблюдались как в группе № 1, так и в группе № 2 в легком, печени, почках, поджелудочной железе, адвентициальных оболочках пищевода и желудка (рис. 1). В печени, проксимальных канальцах почки, ацинусах поджелудочной железы выявлены дистрофические изменения паренхиматозных клеток. Мелкоочаговые некрозы определялись в печени крыс группы № 1 и более крупные – в группе № 2 (рис. 2).

Блокируя активность рецепторов VEGF и связанных с ним сигнальных путей для подавления неоангиогенеза, «Сутент» усиливает апоптоз как опухолевых, так и эндотелиальных клеток, подавляет пролиферативную активность адвентициальных клеток

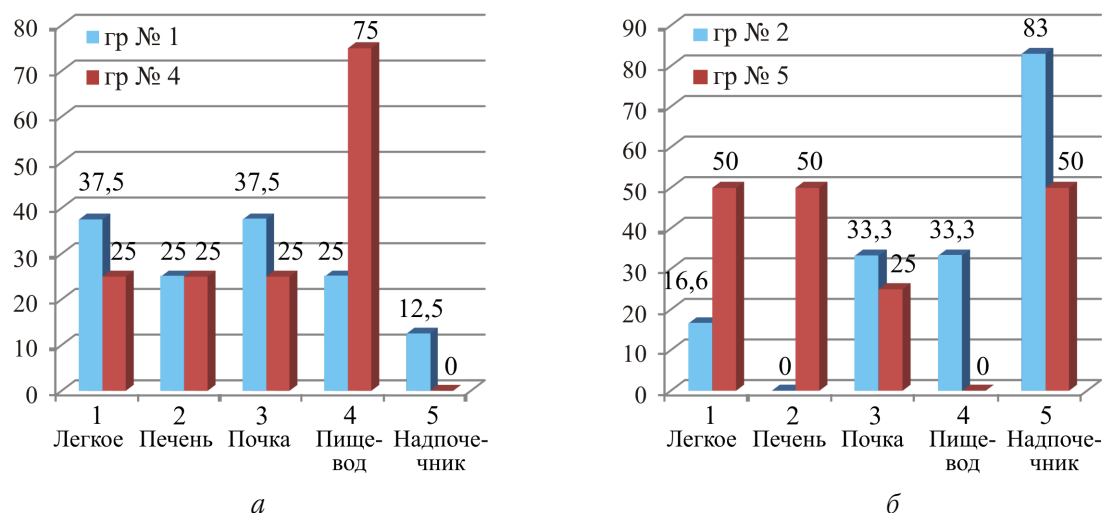


Рис. 1. Графики относительного количества (%) животных в каждой группе (группы № 1, 4, 2, 5), в органах которых наблюдались кровоизлияния: а – группы № 1 и 4; б – группы № 2 и 5

и перититов кровеносных сосудов, в результате способствует развитию ишемии в органах, что приводит в дистрофии и некрозам паренхиматозных клеток [13–15]. Гепатоцитам свойственна выраженная чувствительностью к ишемии [16]. В ткани печени осуществляется биотрансформация «Сутента» с участием фермента СУР3А4 системы цитохрома Р450, локализирующегося в мембране эндоплазматической сети гепатоцитов, а также энтероцитов тонкой кишки. Нарушения кровообращения в печени, приводящие к гипоксии, снижают активность ферментов, способствуя накоплению и токсическому действию препарата [17]. Показателями цитолиза гепатоцитов в группе № 2 явилось увеличение уровня печеночных трансаминаз в крови, их нормализация происходила медленно после отмены препарата и не достигла контрольного уровня. Через две недели после прекращения введения «Сутента» в группах № 4 и 5, несмотря на восстановление гематологических показателей, сохранялись нарушения кровообращения, дистрофические изменения и некрозы паренхиматозных клеток (см. рис. 1).

В миокарде животных группы № 2 на фоне интерстициального отека наблюдалась диссоциация кардиомиоцитов и дистрофические изменения в их цитоплазме. Кардиотоксичность обусловлена способностью «Сутента» повреждать митохондриальный аппарат кардиомиоцитов и вызывать их апоптоз. Она наблюдается у 15 % онкобольных, усугубляется гипертензией и приводит к развитию дисфункции левого желудочка [18]. M.D. Wu et al. считают, что кардиотоксичность «Сутента» вызвана его прокоагулянтной активностью и обусловленными ею нарушениями реологических свойств крови [19].

Нейротоксичность является редким осложнением терапии «Сутентом», несмотря на способность препарата проникать в ткань мозга через гематоэнцефалический барьер [20]. По данным T.E. Hutson et al. [21], неврологические осложнения встречаются с частотой менее 1 %. В наших исследованиях у животных группы № 2 в коре головного мозга наблюдались признаки гидропической дистрофии и гибели нейроцитов: изменение формы клеток, набухание или сморщивание

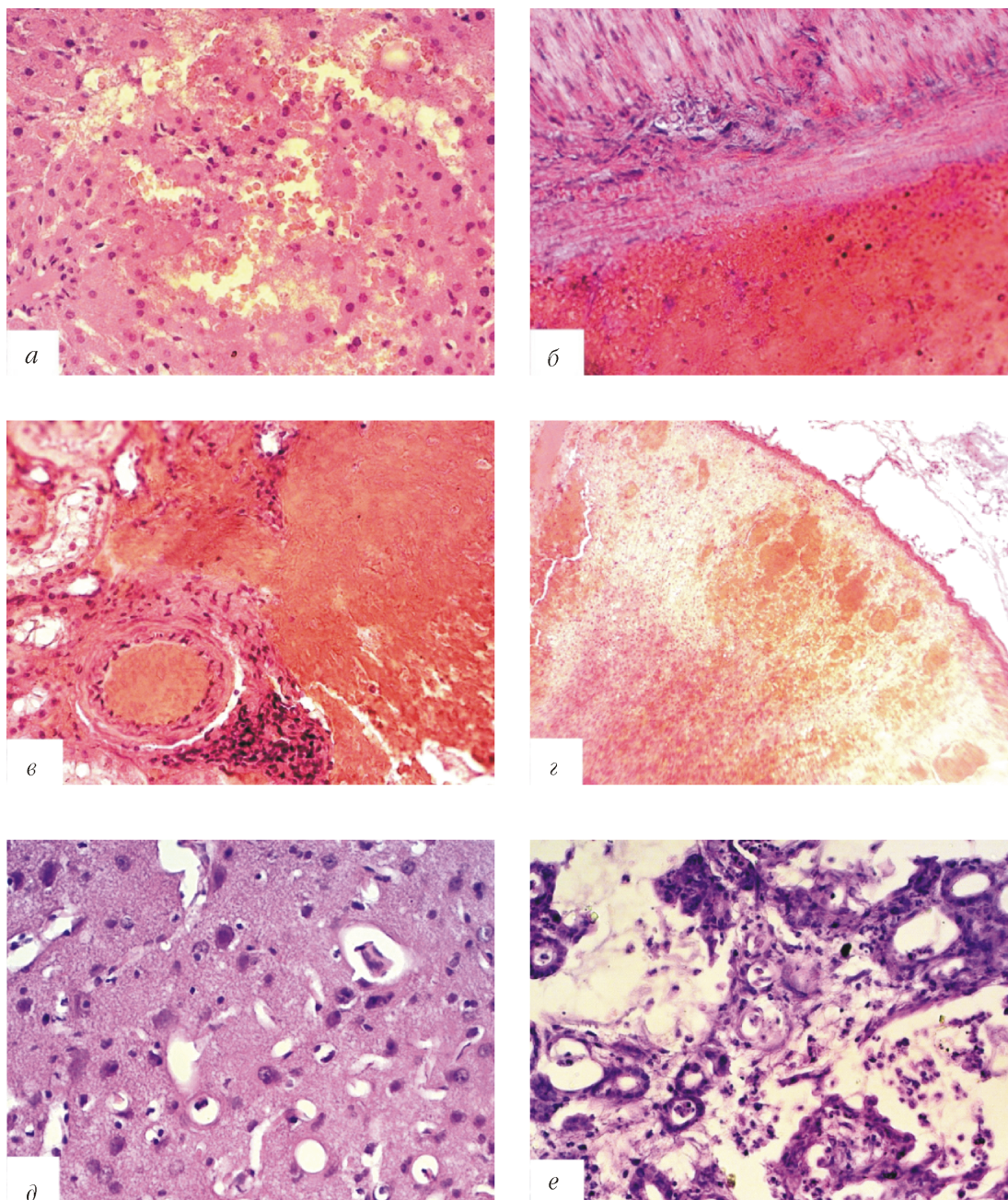


Рис. 2. Гистологическое строение органов: а - печень, очаги некрозов (группа № 1); б - желудок, кровоизлияние в серозную оболочку (группа № 1); в - почка, кровоизлияние в корковом веществе (группа № 4); г - надпочечник, кровоизлияния в корковом веществе (группа № 2); д - кора головного мозга, дистрофия нейроцитов (группа № 2); е - двенадцатиперстная кишка, воспалительная инфильтрация в подслизистой оболочке (группа № 2). Окраска гематоксилином и эозином.

Ув. а, б, в, д, е - $\times 400$, г - $\times 200$

их цитоплазмы, хроматолиз и появление клеток-теней. В этой группе было установлено изменение поведения животных, в частности, отмечено снижение их двигательной активности, вялость, отсутствие интереса к пище. Через две недели после прекращения эксперимента произошла нормализация поведенческих реакций животных и восстановление гистологической картины коры головного мозга.

Обращает на себя внимание изменение гистологического строения органов эндокринной системы и поджелудочной железы в группе № 2 по сравнению с группой № 1. В группе № 1 в надпочечниках части животных были выявлены мелкоочаговые некрозы коркового вещества и снижение липидных включений у части адренокортикоцитов. В группе № 2 у всех животных наблюдалось увеличение размеров надпочечников и массивные кровоизлияния в корковом веществе, мелко- и среднеочаговые некрозы (см. рис. 2). В ткани щитовидной железы у 50 % животных группы № 2 содержались увеличенные в размерах фолликулы с уплощенным эпителием, что согласуется с данными литературы о том, что у 85 % пациентов, получавших «Сутент», отмечается падение концентрации йодсодержащих гормонов и аномальные результаты функциональных тестов щитовидной железы [22; 23]. Гипотиреоз и анемия являются причиной развития частого осложнения терапии «Сутентом» – астении, которая определяется у 11 % больных [24]. В поджелудочной железе в группе № 2 были выявлены массивные стеатонекрозы с формированием четко выраженной демаркационной зоны, состоящей из лейкоцитов. В группе № 5 в поджелудочной железе имелись склеротические изменения долек. Таким образом, введение «Сутента» вызывало полиорганную недостаточность, что явилось причиной гибели 10 животных как в группе № 4, так и в группах № 2 и 5.

В группах № 1 и 2 установлено уменьшение размеров лимфоидных фолликулов и периартериальных муфт в составе белой пульпы селезенки. Герминативные центры (ГЦ) фолликулов имели небольшие размеры, были представлены единичными лимфоцитами, множеством апоптозных телец и макрофагов, что свидетельствует о повышенном распаде лимфоцитов и фагоцитозе апоптозных телец. В красной пульпе селезенки у всех животных отмечалось резкое полнокровие и увеличение количества сидерофагов. В группах № 4 и 5 происходило восстановление структуры ГЦ, однако площадь белой пульпы оставалась меньше контрольного уровня. В расширенных тяжах красной пульпы наблюдалось увеличение размеров очагов миелоидного кроветворения.

Снижение количества лимфоцитов у онкобольных приводит к подавлению клеточного и гуморального иммунитета и вызывает формирование иммунодефицита. Уменьшение содержания лимфоцитов в селезенке, падение числа гранулоцитов в крови, выявленное при введении «Сутента», может способствовать присоединению вторичной инфекции и появлению риска развития инфекционных осложнений, частота которых, по данным литературы, составляет около 80 % [25; 26]. В наших исследованиях у 50 % животных группы № 2 в двенадцатиперстной кишке (ДПК) в собственной пластинке слизистой и подслизистой оболочках была выявлена массивная диффузная инфильтрация гранулоцитами и лимфоцитами, а также расширение просвета части желез и уплощение выстилающего их эпителия. Просветы желез были заполнены лейкоцитами с тенденцией к формированию микроабсцессов (см. рис. 2). У 50 % животных этой группы наблюдался некроз слизистой оболочки ДПК с образованием эрозивных и язвенных дефектов. Через две недели после отмены препарата у животных группы № 5 сохранялась лимфоидная

инфильтрация слизистой и подслизистой оболочек. Часть желез в подслизистой были атрофированы. В то же время в слизистой оболочке пищевода и желудка не было выявлено явных признаков раздражающего действия препарата при его внутривенном введении. Блокада рецепторов VEGF и PDGF вызывает не только развитие ишемии в оболочках пищеварительного тракта, что понижает на фоне гипоксии в энтероцитах активность ферментов цитохрома P450, но и нарушает обновление эпителия, а ингибирование с-KIT тормозит регенерацию как эпителия, так и дифференцировку стволовых клеток, ответственных за восстановление эпителия [27].

Изучение гистологического строения половых органов показало, что как в группе № 1, так и в группе № 2 у всех самцов наблюдался выраженный отек интерстициальной ткани яичка, который в некоторых случаях сопровождался частичной атрофией семенных канальцев. Отек сохранялся и после отмены препарата. У самок строение яичников соответствовало контролю.

Выводы

1. Введение препарата «Сутент» привело к развитию у экспериментальных крыс гипохромной анемии, тромбоцитопении и гранулоцитопении. Отмена препарата вызвала восстановление через две недели гематологических показателей до уровня, выше контрольного, за исключением содержания в крови эритроцитов.

2. Морфологическими критериями токсичности препарата явились нарушения кровообращения, отеки, кровоизлияния, дистрофические изменения и некрозы разной степени выраженности во всех исследуемых органах. Они определялись при обеих дозах введения «Сутента» и сохранялись в течение двух недель после отмены препарата.

3. Введение «Сутента» в дозе 35 мг/кг вызвало более выраженную, по сравнению с дозой 7 мг/кг, гематологическую, гепатологическую, кардиологическую и неврологическую токсичность, более значительное поражение надпочечников, щитовидной и поджелудочной желез, а также способствовало присоединению вторичной инфекции, проявившейся развитием острого дуоденита с формированием микроабсцессов.

Библиографический список

1. Блинов В.С., Блинова А.С., Петкаш В.В., Демидов С.М. Критерии ответов метастазов рака почки на таргетную и иммунотерапию. Вестник рентгенологии и радиологии 2020; 101 (4): 206–213.
2. Yolla Haibe, Malek Kreidieh, Hiba El Hajj, Ibrahim Khalifeh, Deborah Mukberji, Sally Temraz, Ali Shamseddine. Resistance Mechanisms to Anti-angiogenic Therapies in Cancer. Front Oncol. 2020; 27 (10): 221.
3. Алексеев Б.Я., Калпинский А.С., Мухомедьярова А.А., Ньюшко К.М., Каприн А.Д. Таргетная терапия больных метастатическим раком почки неблагоприятного прогноза. Онкоурология 2017; 13 (2): 49–55.
4. La Vine, D.B. T., Coleman T.A., Davis C.H., Carbonell C.E., Davis W.B. Frequent Dose Interruptions are Required for Patients Receiving Oral Kinase Inhibitor Therapy for Advanced Renal Cell Carcinoma. Am. J. Clin. Oncology 2010; 33 (3): 217–220.
5. Алексеев Б.Я., Каприн А.Д., Колесников Г.П., Мухомедьярова А.А., Коноплева Е.И., Калпинский А.С. Современные возможности лечения метастатического почечноклеточного рака. Онкоурология 2018; 14 (3): 25–35.
6. Мащелуева А.Ю., Абрамов М.Е. Современные аспекты применения «Сутента» в онкологической практике. Эффективная фармакотерапия 2011; 3: 52–54.

7. Алексеев Б.Я. Метастатический рак почки: выбор терапии первой линии. Онкоурология 2014; 3: 43–48.

8. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Под ред. Р.У. Хабриева. М.: ОАО «Издательство «Медицина» 2005; 832.

9. Гуторов С.Л., Борисова Е.И. Практические рекомендации по предотвращению и коррекции побочных эффектов сунитиниба. Онкоурология 2010; 2: 8–13.

10. Wenjing Luo, Chengong Li, Yinqiang Zhang, Mengyi Du, Haiming Kou, Cong Lu, Heng Mei, Yu Hu. Adverse effects in hematologic malignancies treated with chimeric antigen receptor (CAR) T cell therapy: a systematic review and Meta-analysis. BMC. Cancer 2022; 22 (1): 98.

11. Алексеев Б.Я., Калтинский А.С. Таргетная терапия распространенного рака почки Сутентом: побочные эффекты и их коррекция. Онкоурология 2008; 3: 31–38.

12. Хвастунов Р.А., Скрытникова Г.В., Усачев А.А. Таргетная терапия в онкологии. Лекарственный вестник 2014; 4 (56): 3–10.

13. Fatema Tuz Zabra, Sanaullah Sajib, Constantinos M. Mikelis. Role of bFGF in Acquired Resistance upon Anti-VEGF Therapy in Cancer. Cancers (Basel) 2021; 13 (6): 1422.

14. Shabeen R.M., Tseng W.W., Davis D.W., Liu W., Reinmuth N., Vellagas R., Wiczorek A.A., Ogura Y., McConkey D.J., Drazan K.E., Bucana C.D., McMahon G., Ellis L.M.. Tyrosine kinase inhibition of multiple angiogenic growth factor receptors improves survival in mice bearing colon cancer liver metastases by inhibition of endothelial cell survival mechanisms. Cancer Res. 2001; 61 (4): 1464–1468.

15. Terada T., Noda S., Inui K. Management of dose variability and side effects for individualized cancer pharmacotherapy with tyrosine kinase inhibitors. Pharmacol Ther. 2015; 152: 125–134.

16. Дорохина Е.И. Отдаленные результаты и токсичность высокодозной химиотерапии взрослых больных диффузной В-круп-

ноклеточной лимфомой по модифицированной программе NHL-BFM-90: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М. 2016; 26.

17. Du Souich P., Fradette C. The effect and clinical consequences of hypoxia on cytochrome P450, membrane carrier proteins activity and expression. Expert Opin. Drug Metab. Toxicol. 2011; 7 (9): 1083–1100.

18. Chu T.F., Rupnick M.A., Kerkela R., Dallabrida S.M., Zurakowski D., Nguyen L., Woulfe K., Pravda E., Cassiola F., Desai J., George S., Morgan J.A., Harris D.M., Ismail N.S., Chen J.H., Schoen F.J., Van den Abbeele A.D., Demetri G.D., Force T., Chen M.H. Cardiotoxicity associated with tyrosine kinase inhibitor sunitinib. Lancet 2007; 370: 2011–2019.

19. Wu M.D., Moslebi J.J., Lindner J.R. Arterial Thrombotic Complications of Tyrosine Kinase Inhibitors. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2021; 41 (1): 3–10.

20. Duchnowska R., Loibl S., Jassem J. Tyrosine kinase inhibitors for brain metastases in HER2-positive breast cancer. Cancer Treat. Rev. 2018; 67: 71–77.

21. Hutson T.E., Figlin R.A., Kubn J.G., Motzer R.J. Targeted Therapies for Metastatic Renal Cell Carcinoma: An Overview of Toxicity and Dosing Strategies. Oncologist 2008; 13 (10): 1084–1096.

22. Rini B.I., Tamaskar I., Shabeen P., Salas R., Garcia J., Wood L., Reddy S., Dreicer R., Bukowski R.M. Hypothyroidism in patients with metastatic renal cell carcinoma treated with sunitinib. J. Natl. Cancer. Inst. 2007; 99 (1): 81–83.

23. Sikic D., Lüdecke G., Lieb V., Keck B. Nebenwirkungsmanagement von Tyrosinkinaseinhibitoren in der Urologie: Fatigue und Hypothyreose. Urologe A. 2016; 55 (5): 648–652.

24. Алексеев Б.Я., Шегай П.В. Таргетная терапия распространенного рака почки. Онкоурология 2007; 4: 6–11.

25. Торопова И.Ю. Клинический мониторинг инфекционных осложнений у боль-

ных гемобластомами на фоне программной химиотерапии: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М. 2015; 24.

26. Сакаева Д.Д., Орлова Р.В., Шабеева М.М. Практические рекомендации по лечению инфекционных осложнений фебрильной нейтропении и назначению колониестимулирующих факторов у онкологических больных. Russian Society of Clinical Oncology 2019; 9 (3s2): 585–594.

27. Gazzaniga G., Villa F., Tosi F., Pizzutilo E.G., Colla S., D'Onghia S., Di Sanza G., Fornasier G., Gringeri M., Lucatelli M.V., Mosini G., Pani A., Siena S., Scaglione F., Sartore-Bianchi A. Pneumotosis Intestinalis Induced by Anticancer Treatment: A Systematic Review. *Cancers* 2022; 14: 1666.

REFERENCES

1. Blinov V.S., Blinova A.S., Petkau V.V., Demidov S.M. Criteria for responses of kidney cancer metastases to targeted and immunotherapy. *J. Radiol. Nuclear Med.* 2020; 101 (4): 206–213 (in Russian).

2. Yolla Haibe, Malek Kreidieh, Hiba El Hajj, Ibrahim Khalifeh, Deborah Mukberji, Sally Temraz, Ali Shamseddine. Resistance Mechanisms to Anti-angiogenic Therapies in Cancer. *Front Oncol.* 2020; 27 (10): 221.

3. Alekseev B.YA., Kalpinskiy A.S., Mubomed'yarova A.A., Nyushko K.M., Kaprin A.D. Targeted therapy of patients with metastatic kidney cancer with an unfavorable prognosis. *Oncourology* 2017; 13 (2): 49–55 (in Russian).

4. La Vine, D.B. T., Coleman T.A., Davis C.H., Carbonell C.E., Davis W.B. Frequent Dose Interruptions are Required for Patients Receiving Oral Kinase Inhibitor Therapy for Advanced Renal Cell Carcinoma. *Am. J. Clinic. Oncology* 2010; 33 (3): 217–220.

5. Alekseev B.YA., Kaprin A.D., Kolesnikov G.P., Mubomed'yarova A.A., Konopleva E.I., Kalpinskiy A.S. Modern possibilities of treatment of metastatic renal cell carcinoma. *Oncourology* 2018; 14 (3): 25–35 (in Russian).

6. Masbcheleeva A.YU., Abramov M.E. Modern aspects of the use of Sutent in oncological practice. *Effective pharmacotherapy* 201; 3: 52–54 (in Russian).

7. Alekseev B.YA. Metastatic kidney cancer: the choice of first-line therapy. *Oncourology* 2014; 3: 43–48 (in Russian).

8. Guidelines for the experimental (preclinical) study of new pharmacological substances. Edited by R.U. Khabrieva. Moscow: JSC "Publishing House "Medicine" 2005; 832 (in Russian).

9. Gutorov S.L., Borisova E.I. Practical recommendations for the prevention and correction of side effects of sunitinib. *Oncourology* 2010; 2: 8–13 (in Russian).

10. Wenjing Luo, Chengong Li, Yinqiang Zhang, Mengyi Du, Haiming Kou, Cong Lu, Heng Mei, Yu Hu. Adverse effects in hematologic malignancies treated with chimeric antigen receptor (CAR) T cell therapy: a systematic review and Meta-analysis. *BMC. Cancer* 2022; 22 (1): 98.

11. Alekseev B.YA., Kalpinskiy A.S. Targeted therapy of advanced kidney cancer with Sutent: side effects and their correction. *Oncourology* 2008; 3: 31–38 (in Russian).

12. Hvastunov R.A., Skrypnikova G.V., Usachev A.A. Targeted therapy in oncology. *Medicinal Bulletin* 2014; 4 (56): 3–10 (in Russian).

13. Fatema Tuz Zabra, Sanaullah Sajib, Constantinos M. Mikelis. Role of bFGF in Acquired Resistance upon Anti-VEGF Therapy in Cancer. *Cancers (Basel)* 2021; 13 (6): 1422.

14. Shabeen R.M., Tseng W.W., Davis D.W., Liu W., Reinmuth N., Vellagas R., Wiczorek A.A., Ogura Y., McConkey D.J., Drazan K.E., Bucana C.D., McMahon G., Ellis L.M. Tyrosine kinase inhibition of multiple angiogenic growth factor receptors improves survival in mice bearing colon cancer liver metastases by inhibition of endothelial cell survival mechanisms. *Cancer Res.* 2001; 61 (4): 1464–1468.

15. Terada T., Noda S., Inui K. Management of dose variability and side effects for individualized cancer pharmacotherapy with tyrosine kinase inhibitors. *Pharmacol Ther.* 2015; 152: 125–134.

16. Dorobina E.I. Long-term results and toxicity of high-dose chemotherapy in adult patients with diffuse B-large cell lymphoma according to the modified NHL-BFM-90 program: avtoref. dis. ... kand. med. nauk. Moscow 2016; 26 (in Russian).
17. Du Souich P., Fradette C. The effect and clinical consequences of hepoxia on cytochrome P450, membrane carrier proteins activity and expression. *Expert Opin Drug Metab. Toxicol.* 2011; 7 (9): 1083–1100.
18. Chu T.F., Rupnick M.A., Kerkela R., Dallabrida S.M., Zurakowski D., Nguyen L., Woulfe K., Pravda E., Cassiola F., Desai J., George S., Morgan J.A., Harris D.M., Ismail N.S., Chen J.H., Schoen F.J., Van den Abbeele A.D., Demetri G.D., Force T., Chen M.H. Cardiotoxicity associated with tyrosine kinase inhibitor sunitinib. *Lancet* 2007; 370: 2011–2019.
19. Wu M.D., Moslebi J.J., Lindner J.R. Arterial Thrombotic Complications of Tyrosine Kinase Inhibitors. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2021; 41 (1): 3–10.
20. Duchnowska R., Loibl S., Jassem J. Tyrosine kinase inhibitors for brain metastases in HER2-positive breast cancer. *Cancer Treat. Rev.* 2018; 67: 71–77.
21. Hutson T.E., Figlin R.A., Kubn J.G., Motzer R.J. Targeted Therapies for Metastatic Renal Cell Carcinoma: An Overview of Toxicity and Dosing Strategies. *Oncologist* 2008; 13 (10): 1084–1096.
22. Rini B.I., Tamaskar I., Shabeen P., Salas R., Garcia J., Wood L., Reddy S., Dreicer R., Bukowski R.M. Hypothyroidism in patients with metastatic renal cell carcinoma treated with sunitinib. *J. Natl. Cancer. Inst.* 2007; 99 (1): 81–83.
23. Sikic D., Ludecke G., Lieb V., Keck B. Side effect management of tyrosine kinase inhibitors in urology: Fatigue and hypothyroidism. *Urologe A.* 2016; 55 (5): 648–652 (in German).
24. Alekseev B.Ya., SHegaj P.V. Targeted therapy of advanced kidney cancer. *Oncology* 2007; 4: 6–11 (in Russian).
25. Toropova I. Yu. Clinical monitoring of infectious complications in patients with hemoblastosis on the background of program chemotherapy: avtoref. dis. ... kand. med. nauk. Moscow 2015; 24 (in Russian).
26. Sakaeva D.D., Orlova R.V., SHabaeva M.M. Practical recommendations for the treatment of infectious complications of febrile neutropenia and the appointment of colony-stimulating factors in cancer patients. *Russian Society of Clinical Oncology* 2019; 9 (3s2): 585–594 (in Russian).
27. Gazzaniga G., Villa F., Tosi F., Pizzutilo E.G., Colla S., D’Onghia S., Di Sanza G., Fornasier G., Gringeri M., Lucatelli M.V., Mosini G., Pani A., Siena S., Scaglione F., Sartore-Bianchi A. Pneumatosis Intestinalis Induced by Anti-cancer Treatment: A Systematic Review. *Cancers* 2022; 14: 1666.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Вклад авторов равноценен.

Поступила: 14.12.2022

Одобрена: 28.12.2022

Принята к публикации: 14.01.2023

Просьба ссылаться на эту статью в русскоязычных источниках следующим образом: Морфологическая оценка изменений внутренних органов крыс при введении таргетного препарата «Сутент» в эксперименте / Н.И. Гуляева, Г.П. Вдовина, Г.Г. Фрейннд, А.А. Бурлуцкая, М.П. Чугунова, М.О. Карипова // Пермский медицинский журнал. – 2023. – Т. 40, № 1. – С. 151–163. DOI: 10.17816/pmj401151-163

Please cite this article in English as: Gulyaeva N.I., Vdovina G.P., Freind G.G., Burlutskaya A.A., Chugunova M.P., Karipova M.O. Morphological assessment of changes in internal organs of rats with introduction of targeted drug “Sutent” in experiment. *Perm Medical Journal*, 2023, vol. 40, no. 1, pp. 151-163. DOI: 10.17816/pmj401151-163