

ПОКАЗАТЕЛИ ТКАНЕВОГО МИКРОРАЙОНА ПЕЧЕНИ КРЫС С КАРЦИНОСАРКОМОЙ WALKER 256 ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ХИМИОТЕРАПИИ

Татьяна Анатольевна КУНЦ, Мария Геннадьевна ПУСТОВЕТОВА

ГОУ ВПО Новосибирский государственный медицинский университет Росздрава
630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52

Изучены особенности морфологии тканевого микрорайона печени крыс-самцов Wistar с карциносаркомой Walker 256 через 3 суток после проведения цитостатической терапии. На срезах печени определяли площадь, занимаемую цитоплазмой и ядрами гепатоцитов, суммарную площадь синусоидных капилляров и синусоидных клеток, подсчитывали численную плотность гепатоцитов, двоядерных и синусоидных клеток. Проведен анализ сосудистого русла и лимфатических пространств Малла. Полученные данные свидетельствуют о мобилизации адаптационных процессов, которые выражаются в активации тканевого дренажа, снижении гипоксии и повышении синтетического потенциала гепатоцитов. Выявлены признаки стимуляции регенерации органа в виде полиплоидизации и гипертрофии гепатоцитов, которые можно рассматривать как компенсаторные изменения печени на фоне воздействия препарата.

Ключевые слова: карциносаркома Walker 256, циклофосфан, регенерация гепатоцитов.

Развитие злокачественного новообразования является мощным негативным фактором, оказывающим выраженное общее влияние на организм. Токсины, вырабатываемые опухолью, нарушают клеточный метаболизм и ослабляют регуляторные и адаптационные функции органов и систем, очищающих и поддерживающих постоянство внутренней среды: печени, выполняющей функции «метаболического мозга» организма [1], и гомеостатических систем, обеспечивающих резистентность организма (лимфатической, иммунной, эндокринной). Общеизвестно, что печень является одним из самых часто поражаемых метастазами органов вследствие характера ее кровоснабжения. Состояние тканевого микрорайона печени, на уровне которого реализуются основные детоксикационные процессы, является отражением не только функционального напряжения самого органа, но и может свидетельствовать о реакции организма в целом [2]. Целью настоящего исследования явилось изучение морфологических преобразований в печени в условиях экспериментально развивающейся карциносаркомы Walker 256 на фоне цитостатической терапии.

Материал и методы

Опыты проведены на крысах-самцах линии Wistar с исходной массой 180–200 г. Трансплантацию клеток перевиваемой карциносаркомы Walker 256 осуществляли в мышцу бедра в дозе 10^6 клеток [3]. Для цитостатической терапии использовали циклофосфан («Биохимик», г. Саранск, Россия), который вводился однократно из расчета 25 мг/кг (средняя терапевтическая доза) в 0,1 мл изотонического раствора NaCl внутрибрюшинно спустя 5 суток с момента перевивки опухоли. Через 3 су-

ток после введения препарата животных выводили из эксперимента декапитацией под эфирным наркозом. Крысы разделены на 4 группы: интактные (К), крысы после введения циклофосфана (Ц), а также крысы с карциносаркомой на 5-е сутки после введения опухолевых клеток без лечения (О) и после лечения (ОЦ). Работу с животными проводили с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации.

Взятие образцов печени, изготовление и окраску гистологических препаратов (гематоксилином Майера — эозином) проводили по стандартным методикам. Морфометрический анализ выполняли в соответствии с рекомендациями Г.Г. Автандилова [4] при помощи окулярной морфометрической сетки, состоящей из 25 тестовых точек и 5 линий. На препаратах, полученных от каждой группы, исследовали по 100 полей зрения. Методом точечного счета при стандартном увеличении на срезах печени определяли долю площади (%), занимаемой цитоплазмой и ядрами гепатоцитов, синусоидными капиллярами и синусоидными клетками. Подсчитывали численные плотности гепатоцитов и синусоидных клеток. На основе полученных данных вычисляли ядерно-цитоплазматическое отношение в гепатоцитах, долю диплокариоцитов в общем пуле паренхиматозных клеток, отношение общего числа синусоидных клеток к общему числу гепатоцитов, а также индекс васкуляризации, представляющий собой отношение площади синусоидов к площади паренхимы [5, 6]. Статистическая обработка результатов заключалась в подсчете средних величин (M) и их стандартных ошибок (m), оцен-

Кунц Т.А. — м.н.с. Центральной научно-исследовательской лаборатории, e-mail: tkunts@ngs.ru
Пустоветова М.Г. — д.м.н., проф. кафедры патофизиологии и клинической патофизиологии,
руководитель Центральной научно-исследовательской лаборатории, e-mail: patophysiology@mail.ru

ке достоверности различий с помощью t-критерия Стьюдента при 95%-ном уровне значимости.

Результаты и обсуждение

В печени крыс с карциносаркомой Walker 256 на 5-е сутки ее естественного развития (О) показано, что при сохранении общего строения органа отмечаются выраженные изменения структурно-функциональных показателей микроциркуляторного русла печени: неравномерное расширение кровеносных синусоидных капилляров, сопровождающееся сладж-синдромом, дилатация центральных и поддольковых вен, частичное спазмирование поддольковых вен, застойные явления в центральных и междольковых венах. Для области триад характерна повышенная гидратация интерстиция, отечность соединительно-тканых прослоек и инфильтрация лимфоидными элементами. Наблюдаются дистрофические изменения гепатоцитов, а также метастатическое поражение печени в виде присутствия в ткани одиночных атипичных клеток и их скоплений [7].

Через 3 суток после однократного внутривенного введения циклофосфана крысам с карциносаркомой Walker 256 в печени наблюдается снижение выраженности микроциркуляторных нарушений в синусоидном компартменте тканевого микрорайона печени по сравнению с группой животных, не получавших лечение (О). При сохранении незначительной дилатации кровеносных синусоидных капилляров отмечается исчезновение в них эритроцитарных агрегатов. Морфометрически установлено уменьшение относительной площади сети гемокапилляров на 29,8 % ($p < 0,05$) и индекса васкуляризации на 37,8 % ($p < 0,05$) по сравнению с группой (О). Эти изменения могут являться результатом усиления оттока крови, на что косвенно указывает уменьшение отека лимфатических пространств Малла. Дистрофические изменения со стороны паренхиматозных клеток значительно уменьшаются, в ядрах гепато-

цитов выявляются 2-3 четко дифференцируемых ядрышка. Результаты морфометрического анализа приведены на рис. 1 и 2. На данном сроке после проведенного лечения в печеночных дольках не обнаружено ни лимфоидных, ни опухолевых инфильтратов. Выявлено уменьшение общего числа синусоидных клеток (на 15,7 % при $p < 0,05$), что подтверждается снижением индекса отношения числа синусоидных клеток к числу гепатоцитов на 13,5 % ($p < 0,05$) по сравнению с группой (О).

В результате гибели части клеток при патологическом процессе в печени происходит стимуляция регенерации органа, основными клеточными механизмами которой являются пролиферация, полиплоидизация и гипертрофия гепатоцитов. Проллиферация и полиплоидизация, как ведущие ДНК-синтетические процессы, приводят к увеличению числа гепатоцитов и/или количества геномов в клетках [8, 9]. В условиях физиологической нормы процесс полиплоидизации является следствием конкуренции между ауто- и гетеросинтезами, когда клеткам не хватает пластических и энергетических запасов для полноценного митоза [10]. Известно, что циклофосфан при однократном введении ингибирует рост опухолевых узлов и подавляет распространение опухолевых клеток по лимфогенному пути [11]. В нашем эксперименте показано уменьшение объема перевиваемой карциносаркомы на 7-е и 14-е сутки после однократного воздействия препарата [12]. По-видимому, противоопухолевое и противометастатическое действие циклофосфана нормализует состояние печени в целом: активируются процессы тканевого дренажа, увеличивается поступление кислорода в гепатоциты. Снижение гипоксии сопровождается сдвигом клеточного рН, уменьшением концентрации ионов кальция и активных форм кислорода, что благоприятно сказывается на структуре и функциях митохондриального аппарата клеток [13, 14]. Таким образом, в ответ на смещение гомеостаза в печени происходит мо-

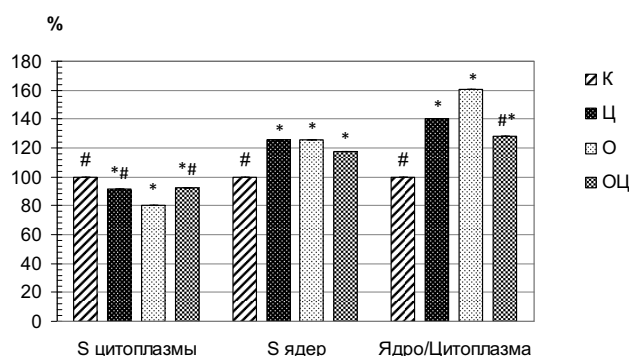


Рис. 1. Морфометрические показатели гепатоцитов крыс с карциносаркомой Walker 256 на фоне терапии циклофосфаном ($M \pm m$).

Здесь и на рис. 2 знаком * обозначены достоверные различия с интактными животными, # — с группой О, $p < 0,05$

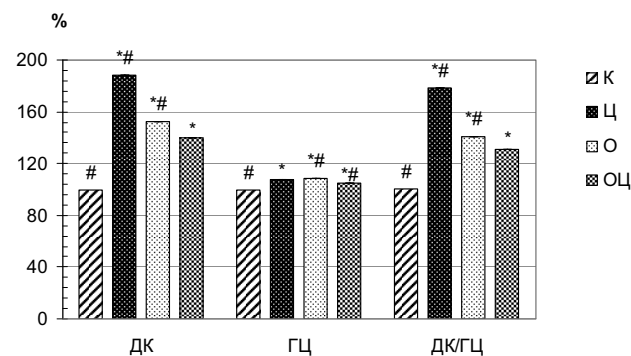


Рис. 2. Численные плотности клеток паренхимы печени крыс с карциносаркомой Walker 256 на фоне терапии циклофосфаном ($M \pm m$).

ДК — диплокариоты, ГЦ — общее число гепатоцитов

билизация адаптационных процессов, повышается синтетический потенциал гепатоцитов, в которых усиливается синтез белков, в том числе и необходимых для полноценного прохождения митоза. В этих условиях полиплоидные клетки делятся с образованием одноядерных клеток того же класса пloidности, что ведет к замедлению полиплоидизации и снижению средней площади ядра [15]. Повышение тканеспецифического синтеза ведет к накоплению пластического материала, усиленная наработка ферментов — к увеличению уровня их активности. Подобная интенсификация метаболических процессов способствует увеличению резистентности гепатоцитов и оптимальному развитию тканевых и внутриклеточных механизмов регенерации ткани при патологии [10, 15]. Усиление процессов внутриклеточной регенерации может приводить к увеличению размера клеточных элементов. В ряде случаев возрастание площади цитоплазмы гепатоцитов не связано с ростом пloidности клеток и сопровождается уменьшением ядерно-цитоплазматического отношения [16], что и наблюдается в нашем эксперименте.

Заключение

Таким образом, проведение цитостатической терапии у крыс — носителей опухоли приводит к уменьшению явлений эндотоксикоза, восстановлению гемо- и лимфоциркуляции. Выявленные изменения в тканевом микрорайоне печени свидетельствуют о компенсаторных реакциях печени на фоне терапии.

Список литературы

1. Мак-Мюррей У. Обмен веществ у человека: Пер с англ. М.: Мир, 1980. 274–317, 348–352.
2. McMurray U. Human metabolism: transl. from Eng. M.: Mir, 1980. 274–317, 348–352.
3. Бородин Ю.И., Мичурина С.В. Лимфатический регион печени как маркер экологического прессинга на организм // Морфология. 1998. 113 (3). 27.
4. Borodin Yu.I., Michurina S.V. Lymphatic region of liver as a marker of ecological pressure on an organism // Morphologiya. 1998. 113 (3). 27.
5. Хегай И.И., Попова Н.А., Иванова Л.Н. Влияние экспрессии гена вазопрессина на рост карциносаркомы Walker 256 у крыс // Генетика. 2000. 42 (7). 993–995.
6. Khegay I.I., Popova N.A., Ivanova L.N. Vasopressin expression influence on WALKER 256 carcinosarcoma growth in rats // Genetika. 2000. 42 (7). 993–995.
7. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. М.: Медицина, 1990. 384 с.
8. Avtandilov G.G. Medical morphometry. M.: Meditsina, 1990. 384 p.
9. Onori P., Morini S., Franchitto A. et al. Hepatic microvascular features in experimental cirrhosis: a structural and morphometrical study in CCl₄-treated rats // J. Hepatol. 2000. 33 (4). 555–563.
10. Vizotto L., Vertemati M., Degna C.T., Aseni P. Liver transplantation in man: morphometric analysis of the parenchymal alterations following cold ischaemia and warm ischaemia/reperfusion // J. Anatomy. 2001. 198 (5). 603–610.
11. Мичурина С.В., Кунц Т.А., Белкин А.Д. Морфологические изменения в тканевом микрорайоне печени крыс на ранних сроках развития перевиваемой карциносаркомы WALKER-256 // Хирургия, морфология, лимфология. 2009. 6 (11). 123–126.
12. Michurina S.V., Kunts T.A., Belkin A.D. Morphological changes in rat liver microregion at early stages of WALKER-256 carcinosarcoma // Khirurgiya, morfologiya, lymphologiya. 2009. 6 (11). 123–126.
13. Сакута Г.А., Кудрявцев Б.Н. Клеточные механизмы регенерации циррозной печени крыс. I. Соотношение процессов пролиферации, полиплоидизации и гипертрофии клеток после прекращения хронического воздействия CCl₄ // Цитология. 1996. 38 (11). 1158–1171.
14. Sakuta G.A., Kudryavtsev B.N. Cellular mechanisms of the rat cirrhosis liver regeneration. I. Correlation between the processes of proliferation and cells hypertrophy after the termination of chronic carbon tetrachloride poisoning // Tsitologiya. 1996. 38 (11). 1158–1171.
15. Сакута Г.А., Кудрявцев Б.Н. Клеточные механизмы регенерации цирротически измененной печени крыс. II. Влияние частичной гепатэктомии на пролиферацию, полиплоидизацию и гипертрофию гепатоцитов // Цитология. 2005. 47 (5). 379–387.
16. Sakuta G.A., Kudryavtsev B.N. Cellular mechanisms of the rat cirrhosis liver regeneration. II. Influence of partial hepatectomy on hepatocyte proliferation, polyploidization and hypertrophy // Tsitologiya. 2005. 47 (5). 379–387.
17. Бродский В.Я., Урываева И.В. Клеточная полиплоидия. Пролиферация и дифференцировка. М.: Наука, 1981. 276 с.
18. Brodsky V.Ya., Uryvaeva I.B. Cell polyploidy. Proliferation and differentiation. M.: Nauka, 1981. 276 p.
19. Амосова Е.Н., Зуева Е.П., Разина Т.Г. и др. Потенцированный циклофосфан: экспериментальное исследование действия на развитие опухолевого процесса и эффективность цитостатической терапии // Бюл. exper. биол. мед. 2003. Прил. 1. 16–19.
20. Amosova E.N., Zueva E.P., Razina T.G. et al. Enhanced cyclophosphamide: experimental research of its influence on tumor growth and cytostatic therapy effectiveness // Bul. exper. biol. med. 2003. Suppl. 1. 16–19.
21. Овсянко Е.В., Лушникова Е.Л., Ларионов П.М. и др. Иммуногистохимический анализ экспрессии белков семейства Bcl-2 в клетках карциносаркомы Walker 256 при воздействии цитостатическими препаратами // Бюл. exper. биол. мед. 2009. 148 (10). 455–460.
22. Ovsyanko E.V., Lushnikova E.L., Larionov P.M. et al. Immunohistochemical analysis of Bcl-2 fam-

ily proteins expression in carcinosarcoma Walker 256 cells under cytostatic drugs administration // *Bull. exper. biol. med.* 2009. 148 (10). 455–460.

13. Lluís J.M., Morales A., Blasco C. *et al.* Critical role of mitochondrial glutathione in the survival of hepatocytes during hypoxia // *J. Biol. Chem.* 2005. 280 (5). 3224–3232.

14. Young T.A., Bailey S.M., Van Horn C.G., Cunningham C.C. Chronic ethanol consumption decreases mitochondrial and glycolytic production of ATP in liver // *Alcohol Alcoholism.* 2006. 41 (3). 254–260.

15. Безбородкина Н.Н., Оковитый С.В., Кудрявцева М.В. и др. Морфометрия митохондриального аппарата гепатоцитов нормальной и цирротиче-

ски измененной печени крыс // *Цитология.* 2008. 50 (3). 228–236.

Bezborodkina N.N., Okovityi S.V., Kudryavtseva M.V. *et al.* Morphometry of hepatocyte mitochondrial apparatus in normal and cirrhotic rat liver // *Tsitologiya.* 2008. 50 (3). 228–236.

16. Саркисов Д.С., Пальцын А.А., Попова И.В. и др. О влиянии ритма действия повреждающего агента на характер репаративной регенерации печени // *Арх. патол.* 1975. 37. 80–87.

Sarkisov D.S., Paltsyn A.A., Popova I.V. *et al.* On the influence of the agent damaging action rhythm on the liver reparative regeneration character // *Arch. patol.* 1975. 37. 80–87.

CHEMOTHERAPY INFLUENCE ON LIVER TISSUE MICROREGION MORPHOLOGICAL CHANGES IN RATS WITH WALKER-256 CARCINOSARCOMA

Tatyana Anatolyevna KUNTS, Maria Gennadjevna PUSTOVETOVA

*Novosibirsk State Medical University of Roszdrav
630091, Novosibirsk, Krasnyi av., 52*

Liver morphology features have been investigated in male Wistar carcinosarcoma-bearing rats at the 3^d day after cytostatic treatment. The area of cytoplasm, hepatocytes nuclei, sinusoids and sinusoidal cells total area have been determined at liver slices; hepatocytes, diplocariocytes, and sinusoidal cells number density has been counted. Analysis of vascular bed and lymphatic spaces of Mall was carried out. The findings testify for adaptive processes mobilization: tissue drainage activation, hypoxia decrease and hepatocytes potential intensification. Characteristics of the organ regeneration stimulation have been revealed in the form of hepatocytes polyploidization and hypertrophy, which could be considered as liver compensatory changes against the background of the drug effect.

Key words: carcinosarcoma Walker 256, cyclophosphamide, hepatocyte regeneration.

Kunts T.A. — junior researcher of the central scientific laboratory, e-mail: tkunts@ngs.ru

Pustovetova M.G. — doctor of medical sciences, professor of the chair for pathophysiology and clinical pathophysiology, head of the central scientific laboratory, e-mail: patophysiolog@mail.ru