

© О.І. Дельцова, С.Б. Геращенко, Н.З. Довга, 2014

УДК 611.84+615.281+615.065

О.І. ДЕЛЬЦОВА, С.Б. ГЕРАЩЕНКО, Н.З. ДОВГА  
 Івано-Франківський національний медичний університет, кафедра гістології, цитології  
 та ембріології, Івано-Франківськ

### МОРФОМЕТРИЧНІ ЗМІНИ В СІТКІВЦІ ПІД ВПЛИВОМ ПАКЛІТАКСЕЛУ

Дослідження показує патоморфогенез сітківки ока в динаміці розвитку ретинопатії, зумовленої введенням паклітакселу в сумарній дозі 8 мг/кг маси тіла в експерименті. Сітківка ока білих рандомбредних щурів була об'єктом експерименту протягом 27 днів і вивчалася за допомогою світлової мікроскопії з використанням комп'ютерного морфометричного аналізу. Отримані результати встановлюють морфометричні критерії морфологічних змін сітківки на різних етапах розвитку паклітаксел-індукованої ретинопатії.

**Ключові слова:** сітківка, паклітаксел, ретинотоксичність, морфометрія

**Вступ.** Таксани широко використовуються у схемах протипухлинного лікування пухлин різних органів і мають високу ефективність [13, 7, 5]. Протипухлинні препарати впливають не тільки на клітини пухлин, але й на здорові тканини. Стало відомо, що доцетаксел, паклітаксел, тамоксифен викликають оптичну нейропатію. Є відомості, що при припиненні курсу лікування розлади можуть припинитися, але й можуть стати незворотними [9]. Побічна дія таксанів проявляється токсичністю в різних відділах ока. Так, на початку їхнього застосування виявилось, що тамоксифен викликає ретинопатію і помутніння рогівки [6]. Нині встановлено, що при лікуванні паклітакселом токсично пошкоджується зоровий нерв, шар нервових волокон сітківки з подальшим звуженням поля зору [3].

Дослідники повідомляють, що в результаті проведеного курсу лікування паклітакселом спостерігалось поступове зниження зору на обидва ока і через 6 тижнів поспіль зберігався кістоїдний набряк жовтої плями сітківки [11, 10, 12]. Кістозний двобічний набряк макули і кістозні простори сітківки часто виникають у відповідь на введення паклітакселу і лише через 3 міс. після проведеного курсу простежується поліпшення картини очного дна [2]. Очні або візуальні порушення мали місце в 13% всіх пацієнтів, які отримували цей препарат, в 1% зміни були важкі [4]. Очні ускладнення внаслідок хіміотерапії препаратами таксанового ряду вимагають їхнього детального дослідження, морфологічна основа яких до цього часу вивчена мало.

**Мета дослідження.** Вивчити будову сітківки в процесі розвитку паклітаксел-індукованої ретинопатії на світлооптичному рівні за допомогою методів комп'ютерного морфометричного аналізу.

**Матеріали та методи.** В експерименті 24 рандомбредним білим щурам масою 150-200 г вводили внутрішньоочеревинно паклітаксел (Actavis, Румунія) у дозі 2 мг/кг маси тіла через одну добу 4 рази, сумарна доза – 8 мг/кг за методом R.S. Polomano et al. [1]. У контрольній групі (15 тварин) тваринам вводили внутрішньоочеревинно ізотоні-

чний розчин NaCl еквівалентного об'єму. Матеріал для дослідження забирали через одну, 7, 14 і 27 днів після останнього введення паклітакселу. Шматочки фіксували в 10% розчині нейтрального формаліну і поміщали в парафін за загальноприйнятими методами. Після забарвлення гематоксиліном і еозином зрізи розглядали під мікроскопом і вимірювали товщину сітківки та її окремих шарів. Для вимірювання використовували програмне забезпечення UTHSCSA Image Tool<sup>®</sup> for Windows<sup>®</sup> (version 2) в інтерактивному режимі з застосуванням мікрофотонасадки МФН-10 (об'єктив x40, фотоокуляр Гомаль x1,7). Аналізатор зображень калібрували за допомогою тестового зразка «МИРА» (ГК 7.216.028-01, виробництво НДІ «Квант»). Для статистичної обробки використовували електронні таблиці Microsoft Excel 2000 та програми Biostat і STATISTICA for Windows.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Через одну добу після останнього введення паклітакселу в шарі паличок і колбочок спостерігали його стоншення внаслідок зменшення довжини зовнішніх сегментів паличкових і колбочкових зорових клітин, а інколи відсутність останніх. Подекуди виявляли переміщення ядер із зовнішнього ядерного шару у шар паличок і колбочок. Товщина шару паличок і колбочок становила  $(10,58 \pm 0,15)$  мкм, в інтактних –  $(21,52 \pm 0,26)$  мкм, відбулося її зменшення на 50,80% ( $p < 0,05$ ) (табл. 1).

Зовнішній ядерний шар також став меншим: від  $(41,76 \pm 0,30)$  мкм в інтактних тварин до  $(29,19 \pm 0,20)$  мкм,  $p < 0,05$ , у ньому часто спостерігалися гомогенні дифузні безклітинні зони. Товщина зовнішнього сітчастого шару змінилася мало (див. табл. 1). Внутрішній ядерний шар звужився до  $(14,32 \pm 0,11)$  мкм,  $p < 0,05$ , а внутрішній сітчастий – до  $(21,77 \pm 0,23)$  мкм,  $p < 0,05$ . Гангліонарний і шар нервових волокон, навпаки, розширилися до  $(8,62 \pm 0,09)$  мкм,  $p < 0,05$ , і  $(4,71 \pm 0,10)$  мкм,  $p < 0,05$ . У гангліонарному шарі визначався набряк і зменшення кількості нейронів. Нейрони містили великі вакуолі. Загалом товщина сітківки стала меншою, в основному внаслідок звуження шару паличок і колбочок і зовнішнього ядерного.

Протягом першого тижня (7 діб) товщина шару паличок і колбочок залишалася меншою від інтактних тварин і подібна до 1-ї доби досліді. У цьому шарі розрізняються щільні і світлі ділянки. У щільних ділянках зовнішні сегменти паличок і колбочок локалізуються близько одне до одного, а в світлих вони розріджені або відсутні. Спостерігається переміщення ядер із зовнішнього ядерного шару в шар паличок і колбочок. При цьому внаслідок набряку значно розширюються зовнішній і

внутрішній ядерні і сітчасті та гангліонарний шари (див. табл.1). Внутрішній сітчастий шар має нерівномірну товщину через звуження і розширення. У нейронах гангліонарного шару ідентифікуються нейрони зі зморщеними ядрами і вакуолізованою нейроплазмою. Кількість нейронів у гангліонарному шарі стала меншою – ділянки зі звичайною локалізацією і кількістю ядер чергуються з ділянками з відсутністю ядер. Це накладає відбиток на товщину сітківки, і вона значно зростає ( $p < 0,05$ ).

Таблиця 1

Морфометричні показники шарів сітківки ока щурів під впливом паклітакселу ( $M \pm m$ , мкм)

Шари сітківки	Термін досліді				
	Інтактні	1 доба	7 діб	15 діб	27 діб
Паличок і колбочок	21,52 $\pm 0,26$	10,58* $\pm 0,15$	10,86* $\pm 0,09$	8,32* $\pm 0,10$	10,79* $\pm 0,16$
Зовнішній ядерний	41,76 $\pm 0,30$	29,19* $\pm 0,20$	43,08 $\pm 0,30$	32,83* $\pm 0,41$	34,39* $\pm 0,46$
Зовнішній сітчастий	5,62 $\pm 0,11$	5,91 $\pm 0,10$	6,36* $\pm 0,05$	3,80* $\pm 0,07$	5,10 $\pm 0,09$
Внутрішній ядерний	16,80 $\pm 0,13$	14,32 $\pm 0,11$	27,30* $\pm 0,17$	16,50 $\pm 0,20$	23,02* $\pm 0,33$
Внутрішній сітчастий	25,86 $\pm 0,22$	21,77* $\pm 0,23$	40,06* $\pm 0,31$	23,67 $\pm 0,27$	34,15* $\pm 0,63$
Гангліонарний	5,16 $\pm 0,22$	8,62* $\pm 0,09$	16,51* $\pm 0,16$	10,07* $\pm 0,13$	2,44 $\pm 0,04$
Нервових волокон	2,36 $\pm 0,10$	4,71* $\pm 0,11$	4,05* $\pm 0,05$	2,44 $\pm 0,04$	4,03* $\pm 0,09$
Товщина сітківки	118,68 $\pm 0,59$	95,10* $\pm 0,10$	148,16* $\pm 0,16$	97,63* $\pm 0,08$	126,65* $\pm 0,23$

Примітка. \* – різниця між показниками інтактною і дослідних груп тварин вірогідна,  $p < 0,05$ .

Через 15 діб у морфогенезі паклітаксел-індукованого впливу на сітківку виявлені подальші зрушення. У шарі паличок і колбочок тривало вкорочення зовнішніх сегментів цих клітин. У цілому шар звужився до  $(8,32 \pm 0,10)$  мкм,  $p < 0,05$ . Зовнішній ядерний і сітчастий шари зменшилися в товщині, але не досягли показників інтактних щурів. Внутрішній ядерний шар виявив показник інтактних тварин. Місцями спостерігалось наближення зовнішнього і внутрішнього ядерних шарів і зменшення товщини в цих ділянках зовнішнього сітчастого шару. Внутрішній сітчастий шар зменшився і став тоншим, ніж в інтактних тварин. Гангліонарний шар стоншився, порівняно з 7-ю добою, але не досяг показника інтактних тварин. Товщина сітківки загалом зменшилася відносно попереднього терміна досліді і показника інтактних тварин (див. табл. 1).

Подальших змін зазнала сітківка і показники її шарів через 27 діб після останнього введення паклітакселу. Встановлено, що товщина шару паличок і колбочок, зовнішнього і внутрішнього ядерного шарів і нервових волокон зростає ( $P > 0,05$ ), а гангліонарного шару зменшилася ( $P > 0,05$ ), порівняно з

попереднім терміном досліді. Товщина сітківки при цьому залишилася більшою, ніж в інтактних тварин.

Таким чином, ми встановили, що найбільш стійкі зміни відбулися в шарі паличок і колбочок, і цим можна пояснити виникнення ретиноксичності при застосуванні препаратів таксанової групи [6]. Отримані нами дані показали набряк шарів сітківки. У клінічних дослідженнях показано, що в результаті проведеного курсу лікування паклітакселом спостерігалось поступове зниження зору на обидва ока і через 6 тижнів поспіль кістоїдний набряк жовтої плями сітківки зберігався [11, 10, 12].

Результати нашого дослідження розкривають патогенетичну картину виникнення втрати зору через 3 місяці після лікування паклітакселом, яке спостерігали [8]. В основі набряку, який виникає в динаміці лікування є судинні, ішемічні і запальні процеси зі стоншенням ядровмісних шарів. Вплив паклітакселу супроводжується дистрофією і набряком сітківки, її ненормальним потовщенням, що пов'язані з накопиченням надлишкової рідини в міжклітинному просторі її нейросенсорної частини [2].

**Висновки.** 1. Паклітаксел індукує ретиноксичність, яка проявляється морфологічними і морфометричними змінами в сітківці.

2. Морфометричні зміни сітківки полягають у стійкому зменшенні товщини шару паличок і колбочок, найбільш вираженому на 15-у добу експерименту. В інших шарах сітківки 1-а доба характеризується звууженням більшості шарів сітківки, 7-а доба змінюється їхнім розширенням, на 15-у добу

повторно виникає їхнє стоншення, на 27-у добу показники не досягають інтактних тварин.

3. У товщині сітківки визначається хвилеподібний характер змін від 1-ої до 27-ої доби: на 1-у добу товщина зменшується, на 7-у добу зростає внаслідок набряку в усіх шарах сітківки, на 15-у добу відбуваються компенсаторні зміни в бік нормалізації, на 27-у добу в більшості шарів повторно зростають ознаки набряку і дистрофії нейронів.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. A painful peripheral neuropathy in the rat produced by the chemotherapeutic drug, Paclitaxel / R.C. Polomano, F.J. Mannes, U.S. Clark [et al.] // *Pain*. — 2001. — №94 (3). — P. 293-304.
2. Angiographically silent cystoid macular oedema secondary to paclitaxel therapy / C.D. Georgakopoulos, O.E. Makri, P. Vasilakis [et al.] // *Clin. Exp. Optom.* — 2012. — Vol. 95 (2). — P. 233—236.
3. Assessment of ocular neurotoxicity in patients treated with systemic cancer chemotherapeutics / B. Bakbak, S. Gedik, B.E. Koktekir [et al.] // *Cutan. Ocul. Toxicol.* — 2014. — Vol. 33 (1). — P. 7—10.
4. Cystoid Macular Edema Secondary to Paclitaxel Therapy / C.G. Murphy, J.B. Walsh, C.A. Hudis [et al.] // *JCO*. — 2010. — Vol. 28(33). — P. e684—e687.
5. Dynamic cost-effectiveness of oncology drugs / Y. Lu, J.R. Penrod, N. Sood [et al.] // *Am. J. Manag. Care*. — 2012. — Vol. 18 (11 Suppl). — P. 249—256.
6. Fraunfelder F.T. Ocular toxicity of antineoplastic agents // F.T. Fraunfelder, S.M. Meyer // *Ophthalmology*. — 1983. — Vol. 90 (1). — P. 1—3.
7. Hainsworth J.D. Practical aspects of weekly docetaxel administration schedules / J.D. Hainsworth // *Oncologist*. — 2004. — Vol. 9 (5). — P. 538—545.
8. Ito S. A case of cystic maculopathy during paclitaxel therapy / S. Ito, M. Okuda // *Nihon Ganka Gakkai Zasshi*. — 2010. — Vol. 114 (1). — P. 23—27.
9. Kashiwagi H. Ocular disorders of anticancer drugs — ocular side effects / H. Kashiwagi // *Gan To Kagaku Ryoho*. — 2010. — Vol. 37 (9). — P. 1639—1644.
10. Mandar M. J. Paclitaxel Maculopathy / M.J. Mandar, R.G. Bruce // *Arch. Ophthalmol.* — 2007. — Vol. 125 (5). — P. 709—710.
11. Teitelbaum B.A. Cystic maculopathy with normal capillary permeability secondary to docetaxel / B.A. Teitelbaum, D.J. Tresley // *Optom. Vis. Sci.* — 2003. — Vol. 80 (4). — P. 277—279.
12. Telander D.G. Cystoid macular edema with docetaxel chemotherapy and the fluid retention syndrome / D.G. Telander, D. Sarraf // *Semin. Ophthalmol.* — 2007. — Vol. 22 (3). — P. 151—153.
13. Weekly schedule of docetaxel in breast cancer: evaluation of response and toxicity / K. Kuroi, H. Bando, S. Saji [et al.] // *Breast Cancer*. — 2003. — Vol. 10 (1). — P. 10—14.

O.I. DELTSOVA, S.B. GERASCHENKO, N.Z. DOVGA

*Ivano-Frankivsk National Medical University, Department of Histology, Cytology and Embryology, Ivano-Frankivsk*

### MORPHOMETRIC CHANGES IN THE RETINA UNDER INFLUENCE OF PACLITAXEL

The study demonstrates pathomorphogenesis of retina in the dynamics of retinopathy caused by administration at total dose of 8 mg/kg of body weight. For 27 days the retina of white random-bred rats were the object of our experiment being studied by means of light microscopy using a computer morphometric analysis. Our results establish morphometric criteria of morphological changes of paclitaxel-induced retinopathy.

**Key words:** retina, paclitaxel, retinotoxicity, morphometry

**Стаття надійшла до редакції: 28.04.2014**