

© Ю.В. Думанський, І.Ф.Хурані

УДК 616.24-002.155:612.014.481:575.191:599.323.4

Ю.В. Думанський, І.Ф.Хурані

ВПЛИВ КВЕРЦЕТИНУ ТА ТІОТРИАЗОЛІНУ НА МОРФОЛОГІЧНІ ТА МОРФОМЕТРИЧНІ ЗМІНИ В ЛЕГЕНЯХ ЩУРІВ РІЗНИХ ГЕНЕТИЧНИХ ЛІНІЙ, ВИКЛИКАНИХ ОПРОМІНЮВАННЯМ

Донецький національний медичний університет ім. М.Горького (м. Донецьк)

Вінницький національний медичний університет ім. М.І.Пирогова (м. Вінниця)

Дана робота є фрагментом науково-дослідної роботи «Дослідження ролі генетичних факторів в розвитку пухлинних процесів у населення Вінницької області», № державної реєстрації 0110U000696.

Вступ. В основі протипухлинної дії іонізуючого випромінювання лежать викликані ним пошкодження життєво важливих компонентів пухлинних клітин, перш за все ДНК, в результаті яких ці клітини втрачають здатність до необмеженого розмноження і гинуть [3]. Резорбція пошкоджених випромінюванням пухлинних клітин і заміщення їх рубцевою тканиною забезпечуються активною участю навколишніх сполучнотканинних елементів [2].

Потрапляння до зони опромінення оточуючих пухлину здорових тканин викликає в них розвиток запальних і склеротичних процесів. Так променева терапія пухлин грудної залози часто ускладнюється пошкодженнями легень у вигляді зливних пневмоній, що закінчуються розвитком пневмосклерозу [4].

Резистентність легеневої тканини до іонізуючого випромінювання залежить від вмісту генетично детермінованих прозапальних і профібротичних цитокінів, а також від концентрації природних антиоксидантів в легеневій тканині [1]. Вивчення ролі генетичних факторів у розвитку пошкоджень дихальної системи, є актуальним напрямком наукових досліджень, тому для проведення експериментального дослідження нами були обрані тварини різних генетичних ліній.

Механізм дії променевої терапії реалізується через утворення вільно радикальних сполук [5], тому в якості радіопротекторів нами були застосовані потужні антиоксиданти кверцетин та тіотриазолін.

Метою дослідження було оцінити патоморфологічні зміни в легенях щурів різних генетичних ліній під впливом іонізуючого випромінювання та дії кверцетину та тіотриазоліну

Об'єкт і методи дослідження. Експериментальні дослідження проведені на білих лінійних щурах, які були розділені на групи: А – інтактні тварини (контроль 1); Б – щури, які отримували кверцетин та тіотриазолін (контроль 2); В – щури, яким опромінювали легень; Г – щури, яким опромінювали легень і вводили протектори (кверцетин і тіотриазолін). В кожній групі містилось по 10 щурів різних генетичних ліній (Fisher, Wistar, спонтанно-гіпертензивних).

Опромінення легень проводили на дистанційному гамма-терапевтичному апараті «FCC8000 Cobalt60-F», активність джерела А = 3872 Ки на

момент опромінення, протягом 5 днів. Сумарна вогнищева доза склала 40гр. В якості протекторів застосовувалися кверцетин в дозі 10 мг/кг та тіотриазолін в дозі 50 мг/кг один раз на добу. Виведення тварин з експерименту проводилось під каліпсоловим наркозом (75 мг/кг п/ш), шляхом декапітації.

Для морфологічної оцінки змін в легенях з них вирізали фрагменти розмірами 1см x 1см x 1см, з подальшою фіксацією в 10% розчині нейтрального формаліну. Препарати готували за стандартною методикою, гістологічні зрізи товщиною 5-7 мкм фарбували гематоксиліном і еозином, пікрофуксином за Ван-Гізоном. Мікроскопію і фотографування гістологічних препаратів проводили за допомогою світлового мікроскопа OLIMPUS BX 41 при збільшеннях у 40, 100, 200 і 400 разів. При мікроскопії оцінювали стан і склад тканин легень, наявність і характер патологічних і репаративних змін. Отримували і обробляли знімки, проводили морфометрію та статистичну обробку за допомогою програми «Quick PHOTO MICRO 2.3» (Г. Г. Автандилов, 2002). Отримані дані занесені у відповідну **таблицю**. Вміст клітинних елементів в лімфатичних фолікулах визначали з розрахунку на одиницю умовної площі (1000 мкм²).

Результати досліджень та їх обговорення. При гістологічному дослідженні легень інтактних (контроль 1) тварин і тварин, яким вводилися протектори (контроль 2), не було виявлено патологічних змін, легень мали типову будову, відповідно фізіологічного віку виду. У всіх ліній інтактних щурів фізіологічні ателектази (зони напівспавшихся альвеол) розташовувалися переважно в периферичних відділах легень і співвідносилися до повітряної паренхіми як 1: 15 (**рис. 1**).

Варіаційні відмінності за ступенем розвитку (в залежності від генетичної лінії) мала лімфоїдна тканина легень. Так, наприклад, у тварин лінії Fisher кількість лімфоїдних елементів (великих, середніх і малих лімфоцитів) у лімфатичних фолікулах без чітко помітних центрів розмноження склала - 17,98 на одиницю умовної площі (1000 мкм²); у щурів лінії Wistar - 17,05 і спонтанно-гіпертензивних щурів (СГЩ) - 20,45 (**рис. 2**).

Збільшення кількості лімфоїдної тканини в легенях СГЩ може свідчити про розвиток у цих тварин загального адаптаційного синдрому, як реакції на генетично обумовлену скомпрометовану судинну систему. Достовірних відмінностей у відношенні бронховаскулярної строми до загального об'єму легень

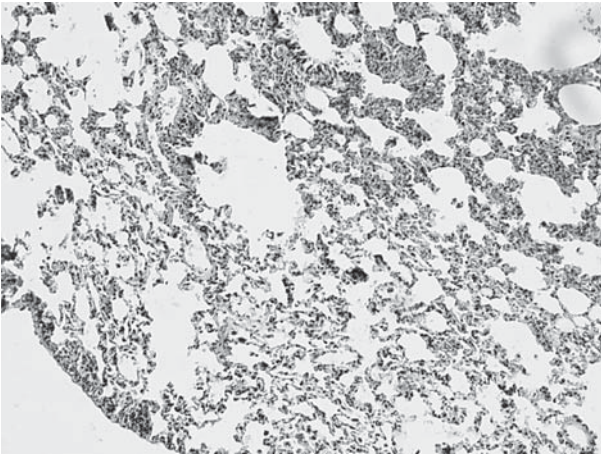


Рис. 1. Легені щурів контрольної групи лінії Fisher. Фізіологічні ателектази в периферійних відділах легень. (Забарвлення пікрофуксином за Ван Гізоном. X200).

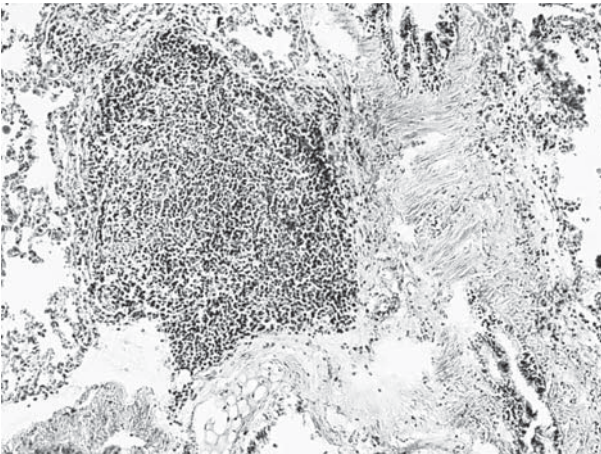


Рис. 2. Легеня щура контрольної групи лінії Fisher. Лімфоїдний фолікул в стінці бронха. (Забарвлення пікрофуксином за Ван Гізоном x 200).

серед різних ліній інтактних щурів і щурів, які отримували кверцетин та тіотриазолін, не відзначалося.

На 30 добу від початку експерименту після впливу іонізуючим телегамма випромінюванням в легенях піддослідних тварин визначалися різні морфологічні зміни. Найбільш вираженим було збільшення кількості лімфоїдної тканини і одночасне збільшення кількості пікрофуксинофільних колагенових волокон у стромальній фіброзній тканині (**рис.3**).

У порівнянні з контролем достовірно кількість лімфоїдної тканини збільшилася у СГЩ - приблизно в 1,5 рази. В інших групах цей показник не мав достовірного статистичного підтвердження. У той же час у всіх групах відзначено збільшення щільності клітинних елементів в фолікулах лімфатичної тканини легень. У щурів групи Wistar це збільшення (в 1,28 рази) відбулося в основному за рахунок зростання числа лімфоцитів, що побічно свідчить про більшу стійкість до стресу (зокрема більшу резистентність до променевого пошкодження) щурів цієї генетичної лінії (Є. В. Морозова, 2007). Збільшення частки строми по відношенню до загального об'єму легень

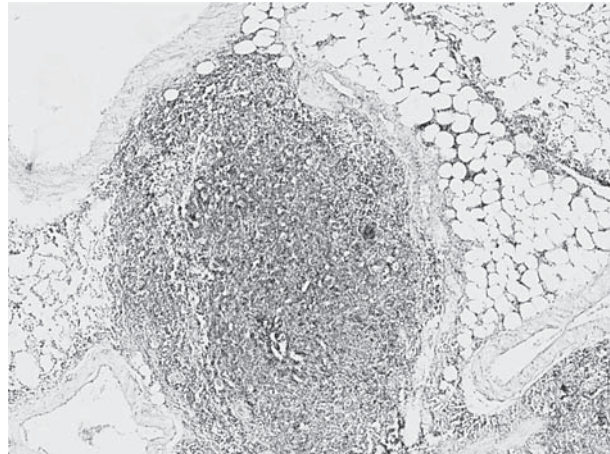


Рис. 3. Легені щура на 30 добу після опромінення. Збільшення кількості лімфоїдної тканини. (Забарвлення за Ван Гізоном, x100).

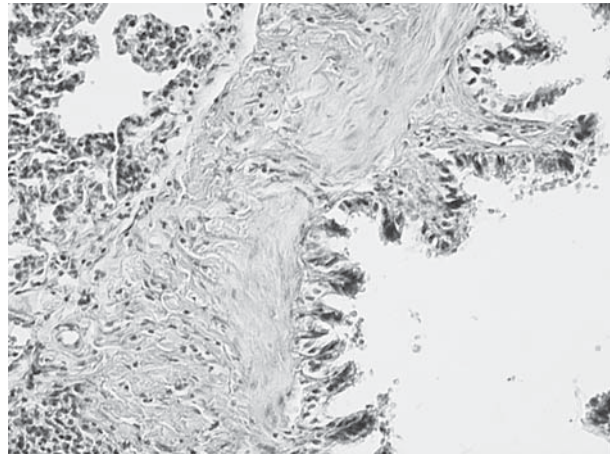


Рис. 4. Легеня щура лінії Wistar на 30 добу після опромінення. Збільшена кількість колагенових волокон у стінці бронхіоли. (Забарвлення пікрофуксином за Ван Гізоном x 400).

було незначним, зате істотно зросла кількість у ній пікрофуксінофільних волокон (переважно периваскулярно і перибронхіально), що відзначено у всіх групах тварин (**рис.4**).

Так у СГЩ бронховаскулярна строма займала 14,3% загального об'єму легень при тому, як вміст у ній колагенових волокон склав 12,7%. У щурів лінії Fisher бронховаскулярна строма склала 12,5% від загального об'єму легень, а у тварин лінії Wistar – 11,1%, при цьому вміст колагенових волокон в стромі цих тварин був вдвічі нижчим ніж у СГЩ і склав 7,8% та 7,2% відповідно (**табл. 1**).

Як і передбачалося, у експериментальних тварин розвинувся індукований телегамматерапією (ТГТ) поширений пневмофіброз і пневмосклероз, найбільші морфологічні прояви якого відзначалося у СГЩ, а найменші - у щурів лінії Wistar. Ателектази і дистелектази у експериментальних тварин, як наслідок фіброзування строми, кількісно перевищували функціональне спадання просвітів респіраторного відділу у тварин контрольної групи. Особливо це помітно у СГЩ, де їх відношення до повітряної

МОРФОЛОГІЯ

Таблиця 1

Вплив ТГТ та введення протекторів (кверцетину та тіотриазоліну) на вміст бронховаскулярної строми, колагенових волокон і лімфатичної тканини в легенях щурів різних генетичних ліній (n=10)

№ Групи	Умови досліджу	Бронховаскулярна строма (% від маси легень)	Пікрофуксифільні волокна (% від маси бронховаскулярної строми)	Лімфатична тканина (% від маси легень)
Щури лінії Wistar				
1	Контроль	10 ± 0,12	6,1 ± 0,11	1,6 ± 0,09
2	Телегаматерапія	11,1 ± 0,12	7,2 ± 0,14*	2,2 ± 0,08*
3	Телегаматерапія + протектори	10 ± 0,09	6,17 ± 0,09#	1,98 ± 0,11
Щури лінії Fisher 344				
4	Контроль	10 ± 0,11	6,3 ± 0,13	1,9 ± 0,08
5	Телегаматерапія	12,5 ± 0,10*	7,8 ± 0,12*	2,7 ± 0,10*
6	Телегаматерапія + протектори	10 ± 0,11#	6,38 ± 0,11#	2,3 ± 0,12#
Спонтанно-гіпертензивні щури				
7	Контроль	10 ± 0,13	5,97 ± 0,12	4,4 ± 0,09
8	Телегаматерапія	14,3 ± 0,12*	12,7 ± 0,15*	6,6 ± 0,09*
9	Телегаматерапія + протектори	10 ± 0,11#	7,4 ± 0,12*#	5,0 ± 0,11*#

Примітка: * - P < 0,05 відносно контролю; # - P < 0,05 відносно дослідних тварин, що не отримували протектори.

Таблиця 2

Вплив телегаматерапії (ТГТ) та введення протекторів (кверцетину та тіотриазоліну) на біометричні показники у щурів різних генетичних ліній (n=10, M±m)

№ Групи	Умови досліджу	Маса тварин, (Грами)	Маса легень, (Грами)	Відносна маса легень,% від маси тіла
Щури лінії Wistar				
1	Контроль	274±6,87	2,15±0,14	0,78±0,04
2	Телегаматерапія	253±6,26 (92,1%)	2,46±0,07 (114%)	0,98±0,04* (125%)
3	Телегаматерапія + протектори	259±4,78 (94,5%)	2,12±0,08# (96,8%)	0,82±0,04# (105%)
Щури лінії Fisher 344				
4	Контроль	256±7,55	2,24±0,10	0,88±0,03
5	Телегаматерапія	239±9,40 (93,4%)	2,56±0,07* (114,2%)	1,08±0,03* (122,9%)
6	Телегаматерапія + протектори	250±10,2 (97,8%)	2,13±0,11# (95,0%)	0,87±0,06# (98,9%)
Спонтанно-гіпертензивні щури				
7	Контроль	272±11,5	2,61±0,11	0,97±0,05
8	Телегаматерапія	256±6,35 (94,0%)	3,29±0,12* (126,1%)	1,29±0,06* (133,1%)
9	Телегаматерапія + протектори	264±6,08 (96,8%)	2,92±0,08*# (112%)	1,11±0,04*# (114%)

Примітка: * - P < 0,05 відносно контролю; # - P < 0,05 відносно дослідних тварин, що не отримували протектори; в дужках -% відносно контролю.

паренхіми склало 1: 11 (проти 1:15 у контролі). Про розвиток пневмосклерозу свідчить також збільшення абсолютної та відносної маси легень (**табл 2**).

Незалежно від групової приналежності опромінених експериментальних тварин застосування протекторів сприяло збереженню нормального стромально-паренхіматозного співвідношення в легенях у щурів ліній Wistar і Fisher .

У СГЩ зберігався підвищений показник пікрофуксифільних волокон в стромі, але він був меншим, ніж у щурів тієї ж лінії, у яких протектори не застосовувалися. При цьому, зазначена після опромінення, гіперплазія лімфоїдної тканини легень зберігалася. Однак щільність клітинних елементів в лімфатичних фолікулах була дещо меншою, ніж у тварин групи В (**табл. 3**).

Вплив введення кверцетину та тіотриазоліну на вміст клітинних елементів лімфатичного фолікулу (кількість/на 1000 мкм²) у опромінених щурів різних генетичних ліній (n=10)

Клітинні елементи лімфатичного фолікула	Щури лінії Wistar		Щури лінії Fisher 344		Спонтанно-гіпертензивні щури	
	ТГТ	ТГТ+ Протектори	ТГТ	ТГТ+ Протектори	ТГТ	ТГТ+ Протектори
Лімфоцити	23,1	19,47	19,72	18,03	22,38	21,17
Плазматичні клітини	0,67	0,61	0,47	0,41	0,73	0,69
Еозинофіли	-	-	-	-	0,01	0,01
Нейтрофіли	0,07	0,07	0,07	0,06	0,08	0,06
Макрофаги	1,72	1,73	2,01	2,02	3,92	3,03
Фібропластичні клітини	3,96	3,81	3,33	3,04	6,54	5,02
Загальна кількість клітин	29,52	25,69	25,6	23,56	33,66	29,98

Відношення ділянок ателектазів і дистелектазів до повітряної паренхіми складало 1: 12 у СГК, 1:14 - у щурів лінії Fisher і 1:14,8 - лінії Wistar (проти 1: 15 в контролі). Застосування протекторів забезпечило збереження лімфоїдної тканини, зменшення склерозування судин і попереджувало розвиток пневмофіброзу (рис. 5).

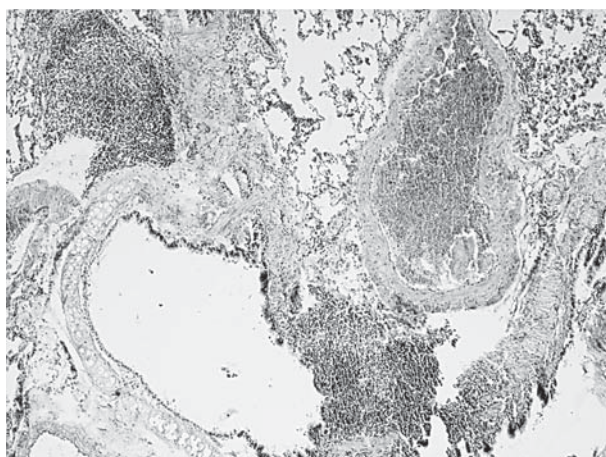


Рис. 5. Легеня щура лінії Fisher на 30 добу після опромінення і введення протекторів. Збереження лімфоїдної тканини в стінці бронха, незначний вогнищевий фіброз його стінки, відсутність будь-яких склеротичних змін в стінці судин. (Забарвлення пікрофуксином за Ван Гізоном x 100).

Відносно малу ефективність протекторів у СГЩ можна імовірно пояснити їх генетично детермінованими низькими адаптивними можливостями організму, швидким виснаженням компенсаторно-приспосувальних механізмів.

Висновки.

1. Опромінення в дозі еквівалентній 40 Гр. викликає на 30 добу зміни в легенях щурів у вигляді склерозу їх фіброзної строми з вентиляційно-циркуляторними розладами в альвеолах, реактивною гіперплазією лімфоїдної тканини.

2. Патологічні зміни в легенях найбільш виражені у групі спонтанно-гіпертензивних щурів й найменш виражені у щурів лінії Wistar, що доводить роль генетичних факторів у розвитку променевих ускладнень.

3. Комбінація антиоксидантних препаратів кверцетину та тіотриазоліну володіє вираженим радіопротекторним ефектом, дозволяє запобігти розвитку радіоіндукованого пневмофіброзу у щурів Wistar та Fisher, достовірно стримує його розвиток у спонтанно гіпертензивних щурів.

Перспективи подальших досліджень. Вивчення ролі кверцетину та тіотриазоліну у профілактиці розвитку постпроменевих пошкоджень дихальної системи в експерименті, дозволить подальші дослідження в даному напрямку з метою впровадження в клінічну практику їх застосування в якості радіопротекторів з урахуванням генетичних передумов розвитку таких ускладнень.

Список літератури

1. Стефанов А. В. Клинико-экспериментальное обоснование применения супероксиддисмутазы в медицине / А. В. Стефанов, Л. В. Деримедведь, И. В. Чурилова и др. – Харьков: НФаУ - "Золотые страницы", 2004. – 288 с.
2. Труфанов Г.Е. Лучевая терапия / Г.Е. Труфанов, М.А. Асатурян, Г.М. Жаринов. – М.: ГЭОТАР-Медиа. – 2007. – 192с.
3. Hennequin C. DNA repair and tumour radiosensitivity: focus on ATM gene / C. Hennequin, L. Quero, V. Favaudon // Bull Cancer. – 2011. – V.98, №3. – P. 239-246.
4. Svolos P. On the use of published radiobiological parameters and the evaluation of NTCP models regarding lung pneumonitis in clinical breast radiotherapy / P. Svolos, I. Tsougos, G. Kyrgias // Australas Phys Eng Sci Med. – 2011. – V.34, №1. – P. 69-81.
5. UVB-activated indole-3-acetic acid induces apoptosis of PC-3 prostate cancer cells / S. Kim, J. Ryu, H. Li et al. // Anticancer Res. – 2010. – V.30, №11. – P. 4607-4612.

УДК 616.24-002.155:612.014.481:575.191:599.323.4

ВПЛИВ КВЕРЦЕТИНУ ТА ТІОТРИАЗОЛІНУ НА МОРФОЛОГІЧНІ ТА МОРФОМЕТРИЧНІ ЗМІНИ В ЛЕГЕНЯХ ЩУРІВ РІЗНИХ ГЕНЕТИЧНИХ ЛІНІЙ, ВИКЛИКАНИХ ОПРОМІНЮВАННЯМ

Думанський Ю.В., Хурані І.Ф.

Резюме. В експерименті на щурах трьох генетичних ліній вивчено вплив іонізуючого опромінення на легеневу тканину. Досліджено протекторні властивості кверцетину та тіотриазоліну.

Легені щурів різних генетичних ліній по різному реагують на опромінення, що доводить, що опірність легеневої тканини до патологічних чинників генетично детермінована.

Опромінення щурів в дозі еквівалентній 40 Гр. викликає зміни в легенях на 30 добу у вигляді склерозу їх фіброзної стромы з вентиляційно-циркуляторними розладами в альвеолах, реактивною гіперплазією лімфоїдної тканини. Найбільш виразні зміни відмічені у легенях спонтанно-гіпертензивних щурів, найменші - у щурів лінії Wistar. Кверцетин та тіотриазолін відновлюють біометричні та морфометричні показники у щурів генетичних ліній Wistar та Fisher і покращують їх у спонтанно-гіпертензивних щурів.

Ключові слова: легенева тканина, опромінення, кверцетин, тіотриазолін.

УДК 616.24-002.155:612.014.481:575.191:599.323.4

ВЛИЯНИЕ КВЕРЦЕТИНА И ТИОТРИАЗОЛИНА НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ЛЕГКИХ КРЫС РАЗЛИЧНЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ЛИНИЙ, ВЫЗВАННЫХ ОБЛУЧЕНИЕМ

Думанский Ю.В., Хурани И.Ф.

Резюме. В эксперименте на крысах трех генетических линий изучено влияние ионизирующего облучения на легочную ткань. Исследованы протекторные свойства кверцетина и тиотриазолина.

Легкие крыс разных генетических линий по разному реагируют на облучение, что доказывает, что устойчивость легочной ткани к патологическим факторам генетически детерминирована.

Облучения крыс в дозе эквивалентной 40 Гр. вызывает изменения в легких на 30 сутки в виде склероза их фиброзной стромы с вентиляционно-циркуляторными нарушениями в альвеолах, реактивной гиперплазией лимфоидной ткани. Наиболее отчетливые изменения отмечены в легких спонтанно-гипертензивных крыс, наименьшие - у крыс линии Wistar. Кверцетин и тиотриазолин восстанавливают биометрические и морфометрические показатели у крыс генетических линий Wistar и Fisher и улучшают их в спонтанно-гипертензивных крыс.

Ключевые слова: легочная ткань, облучения, кверцетин, тиотриазолин.

UDC 616.24-002.155:612.014.481:575.191:599.323.4

Effect Of Quercetin And Thiotriazoline On Morphological And Morphometric Changes In Lungs Of Rats Of Different Genetic Lines, Caused By Irradiation Introduction

Dumansky Yu.V., Hourani I.F.

Summary. In the experiment on rats of three genetic lines the influence of ionizing irradiation on lung tissue was studied. Protective properties of quercetin and thiotriazoline were investigated. Lungs of rats of different genetic lines react differently to irradiation, which proves, that the resistance of lung tissue to pathological factors is genetically determined.

Irradiation of rats at a dose equivalent to 40 Gr. causes changes in the lungs on the 30th day in the form of the fibrous stroma sclerosis with ventilation-circulatory disorders in the alveoli, reactive hyperplasia of lymphoid tissue. The most striking changes were noted in lungs of spontaneously hypertensive rats, the least striking – in Wistar rats. quercetin and thiotriazoline restore biometric and morphometric parameters in rats of Wistar and Fisher genetic lines and improve them in spontaneously hypertensive rats.

Key words: lung tissue, irradiation, quercetin, Thiotriazoline.

Стаття надійшла 9.07.2011 р.