

© Hourani I.F.

УДК: 616.24:615.849.1:599.323.4

ПАТОМОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ У ЛЕГЕНЯХ ЩУРІВ ПРИ ДІЇ ІОНІЗУЮЧОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ І ВВЕДЕННЯ ЦИКЛОФОСФАМІДУ

Хурані І.Ф.

Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, Вінниця

Исследование посвящено изучению влияния облучения и цитостатиков на легочную ткань крыс различных генетических линий. Исследование проводилось на белых линейных крысах-самцах массой 200-300 гр. Животные были разделены на несколько групп: А – контрольная группа; В – крысы, которым облучали легкие в суммарной дозе 40 Гр.; С – крысы, которым вводили внутривенно циклофосфамид в дозе 100 мг/кг дважды; D – крысы, которым облучали легкие и одновременно вводили циклофосфамид; В каждой группе содержалось по 10 крыс разных генетических линий (Fisher, Wistar, спонтанно гипертензивных). Проводилось морфологическое исследование легких. Гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином, микрофуксином по Ван Гизону. При световой микроскопии оценивали состояние и состав тканей легких, наличие и характер патологических, и репаративных изменений. Выявлено, что облучение приводит к увеличению количества коллагеновых волокон в бронховаскулярной строме, инициирует развитие пневмофиброза, введение циклофосфамида вызывает истощение и дегенерацию лимфоидной ткани легких, а сочетание облучения с введением цитостатиков значительно усиливает степень развития в них склероза и делимфатизации. Легкие крыс разных генетических групп по-разному реагируют на облучение и введение циклофосфамида, что доказывает роль генетических факторов в радио- и химиорезистентности легочной ткани.

Ключевые слова: легкие крыс, облучение, циклофосфамид.

Вступ

Променева і цитостатична терапія відіграють визначну роль в сучасному лікуванні злоякісних пухлин. Але поряд із покращенням загальних результатів лікування, подовження безрецидивного періоду і виживаності хворих, обидва методи володіють рядом побічних ефектів та токсичними проявами, які часто лімітують їх застосування [3].

При опроміненні грудної клітки променеві пошкодження легень у вигляді пухлин та альвеолітів відмічаються майже у 100% хворих, при застосуванні алкілюючих цитостатиків – у 34%. Як правило вони закінчуються розвитком пневмосклерозу і пневмофіброзу [2, 1].

Значну роль в розвитку пухлин, альвеолітів і пневмофіброзу відіграє вільно радикальне пошкодження ендотелію, що веде до секреції прозапальних та профіброгенних медіаторів. Активація оксидативного стресу проходить, як під впливом опромінення, так і завдяки дії деяких цитостатиків. Так токсичні ефекти циклофосфаміду також реалізуються через вільно радикальне пошкодження клітин. Біоактивація циклофосфаміду відбувається за допомогою монооксигеназу цитохрому Р-450, які в значній кількості продукуються в печінці, легенях, м'язах та інших органах [6]. Це очевидно пояснює високий токсичний вплив метаболітів циклофосфаміду саме на ці органи.

Мета дослідження: оцінити патоморфологічні зміни, що виникають в легенях при дії іонізуючого випромінювання та при введенні цитостатика циклофосфаміду.

Матеріали і методи дослідження

Дослідження проводилось на білих лінійних щурах-самцях масою 200-300 гр. Тварини були розділені на декілька груп: А – контрольна група; В – щури, яким опромінювали легень в сумарній дозі 40 Гр.; С – щури, яким вводили внутрішньочеревно циклофосф-

амід в дозі 100 мг:кг двічі; D – щури, яким опромінювали легень та одночасно вводили циклофосфамід; В кожній групі містилось по 10 щурів різних генетичних ліній (Fisher, Wistar, спонтанно-гіпертензивних). Виведення тварин з експерименту проводилось під каліпсоловим наркозом (75 мг:кг п:ш), шляхом декапітації. Проводилось морфологічне дослідження легень. Гістологічні зрізи фарбували гематоксилином і еозином, пікрофуксином за Ван Гизоном, мікроскопію і фоторафування 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.

Результати дослідження та їх обговорення

Легені контрольних тварин мають типову гістологічну будову, чітко виражену градацію на респіраторний відділ і судинну мережу. Всі елементи об'єднані стромою і нервовою системою легень. За топографією строму можна розділити на бронховаскулярну (найбільш розвинена, складає 1 : 10 від загального об'єму паренхіми) і строму респіраторних відділів. Бронховаскулярна строма тісно пов'язана з плеврою і рихлою клітковиною в ділянці кореня легень. Фіброзна тканина стромі представлена переважно паралельно розташованими пучками колагенових волокон, відрізняється вираженим превалюванням міжклітинної речовини над малочисленими клітинними елементами. Серед особливостей будови легень щурів слід відзначити: відносно товсті міжальвеолярні перегородки; наявність, поряд з типовим для ссавців дихотомічним діленням бронхів, кущовидного поділу бронхосудинного компонента; виражену складчастість слизової оболонки бронхів; відсутність бронхіальних залоз; виявленню невеликого числа хрящових пластинок, виключено в проксимальних відділах бронхіального дерева. У сполучнотканинній стромі, переважно бронховаскулярній, і в самій стінці бронхів добре виражена лімфоїдна

тканина, яка місцями інфільтрує стінку бронха на всю товщу - від слизової оболонки до адвентиції (Рис 1).

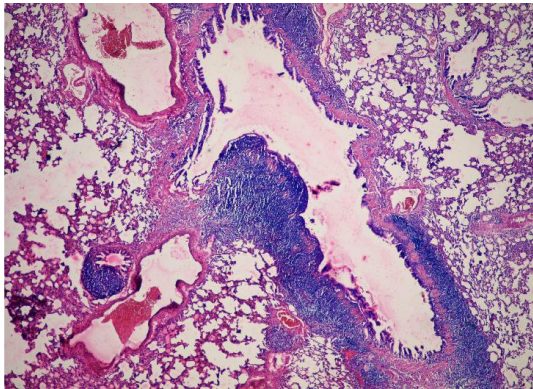


Рис. 1. Легені щура контрольної групи лінії Wistar. Добре виражена перибронхіальна і периваскулярна лімфоїдна тканина. (Забарвлення гематоксилін і еозин. Збільшення 40).

Кількість лімфоїдної тканини прогресивно зменшується від кореня легень до дистальних відділів і в субплевральних відділах практично не виявляється. Однак у периферичних відділах легень спонтанно-гіпертензивних щурів мозаїчно розташовуються виразні ділянки із збільшеною кількістю лімфоїдних елементів у бронховаскулярній стромі. Лімфатичні фолікули лімфоїдної тканини значно варіюють по величині, кількості і виразності кордонів. Мітози в клітинах внутрішньолегеневої лімфоїдної тканини практично відсутні. Низька мітотична активність клітин лімфатичних фолікулів створює передумови до загальної стійкості лімфоїдної тканини легень до іонізуючого випромінювання, збереження здатності її до подальшої реактивної гіперплазії. У свою чергу відомо, що гіперпластичні процеси в лімфатичній тканині легень щурів є еволюційним генетично обумовленим адаптивним проявом у відповідь на тривалий вплив несприятливих факторів, зокрема таких, як дегідратація [5].

У щурів лінії Fisher відзначається недостатність лімфовідтоку, формування обмежених лімфоїдних інфільтратів в легенях. Поряд з функціонуючими розправленими альвеолами виявляються так звані фізіологічні ателектази (зони напівспавшихся альвеол), які розташовуються в основному в периферичних зонах легень і співвідносяться до повітряної паренхіми як 1:15. Ширина просвіту капілярів в ділянках функціональних ателектазів більше, ніж у зонах здуття, що проявляється ступенем їх кровонаповнення (Рис.2).

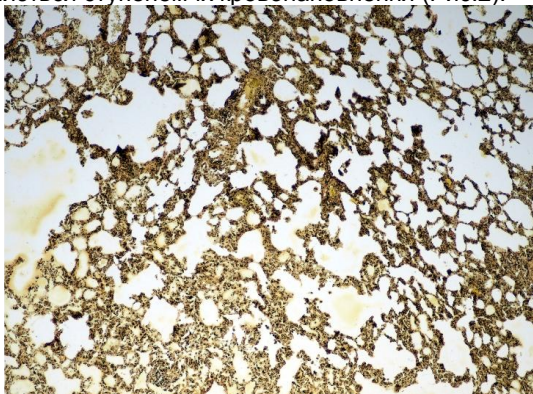


Рис. 2. Легені щура контрольної групи лінії Fisher. Фізіологічні ателектази в периферичних відділах легень. (Фарбування пікрофуксином за Ван Гізоном. Збільшення 100).

Під впливом іонізуючого опромінювання в легенях піддослідних тварин на 30 добу від початку експерименту визначаються різні морфологічні зміни, найбільш вираженими з яких є збільшення кількості лімфоїдної тканини і одночасне збільшення кількості стромальної фіброзної пікрофуксинофільної тканини. Найбільш значним, у порівнянні з контролем, було збільшення кількості лімфоїдної тканини в групі спонтанно-гіпертензивних тварин - в 1,5 рази. В інших групах цей показник не мав вірогідного статистичного підтвердження, але, в той же час, слід відмітити появу периваскулярних скупчень лімфоцитів у вигляді муфт у периферичних відділах легень щурів лінії Fisher (Рис 3).

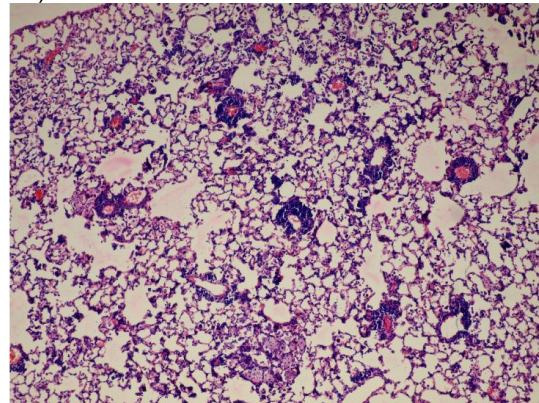


Рис. 3. Легені щура лінії Fisher на 30 добу після опромінювання. Поява скупчень лімфоцитів навколо судин у периферичних відділах легень. (Фарбування гематоксиліном і еозином. Збільшення 100).

Зазначені зміни в різних групах тварин можна напевно пояснити їх різною генетично обумовленою резистентністю до променевого пошкодження і, відповідно, різними проявами компенсаторно-приспосувальних реакцій. По топографії надмірна кількість фіброзної тканини спостерігалася переважно периваскулярно і перибронхіально. У спонтанно-гіпертензивних щурів бронховаскулярна строма становила 1:7 від загального обсягу паренхіми, сумарна - 1:65, у щурів лінії Fisher - 1:8 і 1:77, а у тварин лінії Wistar - 1:9 і 1:85, відповідно. Як і в контрольній групі фіброзна тканина відрізняється вкрай малою кількістю клітинних елементів. Тобто морфологічно має місце розвиток поширеного пневмофіброзу і пневмосклерозу, найбільш вираженого у групі спонтанно-гіпертензивних щурів і найменш у тварин лінії Wistar (Рис 4).



Рис. 4. Легені спонтанно-гіпертензивного щура на 30 добу після опромінення. Збільшення кількості колагенових волокон в бронховаскулярній стромі. (Забарвлення пікрофуксином за Ван Гізеном. Збільшення 100).

Незалежно від групової приналежності збільшення кількості фуксинофільних волокон відбувалося у всіх відділах фіброзної стромі, але більш виражено в бронховаскулярній. Самі волокна значно втрачають впорядкованість (паралельність) свого розташування.

Пневмосклероз є пізнім ускладненням променевої терапії та розвивається на тлі більш раннього променевого ураження дрібних кровоносних судин. У свою чергу нарівні з розвитком пневмосклерозу зазначаються зміни в альвеолах за типом вентиляційно-циркуляторних розладів. У легеневій паренхімі визначаються ділянки ателектазу і дистелектазу, що чергуються з ділянками підвищеної пневматичності легеневої тканини. Просвіти альвеол звужені, а місцями взагалі не визначаються. Ділянки спадання легеневої тканини співвідносяться до повітряної паренхіми як 1:11 у спонтанно-гіпертензивних щурів, 1:13 - у щурів лінії Fisher і 1:14 у лінії Wistar. У зоні дистелектазів і ателектазів вісцеральна плевра набуває характерний складчастий вигляд (Рис 5).

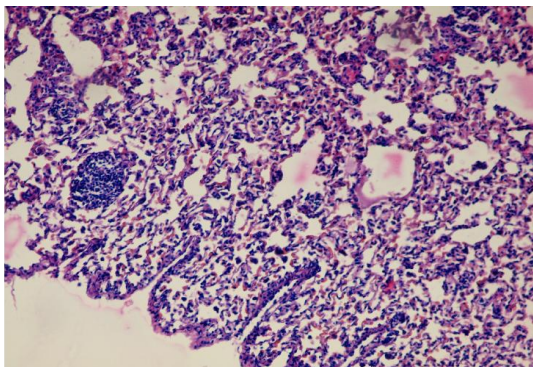


Рис. 5. Легені спонтанно-гіпертензивного щура на 30 добу після опромінення. Ділянка дистелектазів в периферичному відділі легені, складчастість вісцеральної плеври. (Забарвлення гематоксиліном і еозинном. Збільшення 200).

Перифокально відзначаються ділянки підвищеної пневматизації (емфізематозності) легеневої паренхіми, що проявляються розширенням входу і просвіту альвеол з одночасним стоншуванням міжальвеолярних перегородок, аж до порушення їх цілісності. Для кровоносних судин, зокрема капілярів, в ділянках ателектазів і дистелектазів відзначається різке повнокров'я і навіть наявність дрібновогнищевих діapedезних крововиливів, характерна різна ширина просвіту і ступінь кровонаповнення. Решта судини помірного і малого кровонаповнення. Це узгоджується з функціонуванням капілярів при наявності ателектазів, однак, зазначений характер капілярного кровотоку, можливо обумовлений змінами під час агонального періоду.

Механізми розвитку ателектазів і дистелектазів, взагалі і при дії іонізуючого випромінювання зокрема, складні. Вони обумовлені неефективністю факторів, що підтримують динамічну сталість форми і розмірів термінальних повітряних просторів. Однак безумовно, що зазначене нами надмірне розростання фіброзної тканини стромі легенів призведе до порушення дії таких важливих стабілізуючих факторів як еластичність стромі і тонус гладких м'язів дистальних відділів бронхіальних структур. Непрямим підтвердженням цього може служити той факт, що ателектази і дистелектази у експериментальних тварин кількісно значно перевищують функціональне спадання просвітів респіраторного відділу у кон-

трольних тварин. Крім того, виникнення ателектазів і дистелектазів може бути наслідком перенесеної постпроменевої інтерстиціальної пневмонії [4].

Не дивлячись на низьку мітотичну активність клітин в лімфатичних фолікулах лімфоїдної тканини легень, збереження і навіть збільшення її після іонізуючого опромінення, введення тваринам цитостатика циклофосфаміду призводить до значного зменшення її кількості як в стромі, так і в стінках бронхів і заміщення її жировою тканиною. Збережені лімфатичні фолікули поодинокі, визначаються переважно в центральних відділах легень (Рис 6).

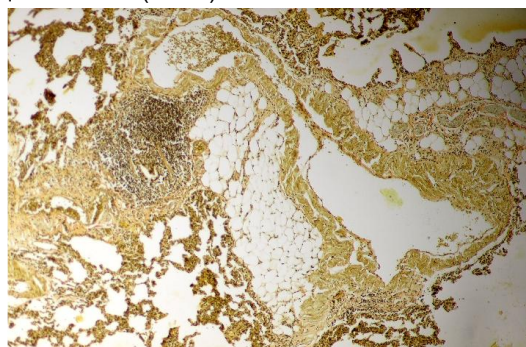


Рис. 6. Легені щура лінії Wistar. на 30 добу після введення циклофосфаміду. Заміщення лімфоїдної тканини жировою клітковиною. (Забарвлення пікрофуксином за Ван Гізеном. Збільшення 100).

У той же час відзначена різна ступінь зменшення кількості лімфоїдної тканини у різних груп тварин: найбільш збереженою вона виявилася у щурів лінії Wistar, найменш - у спонтанно-гіпертензивних. Тварини лінії Fisher займали проміжне становище. Крім того, в одного щура лінії Wistar виявлено осередок пневмонії в периферичних відділах легені з відносно добре вираженою лімфоїдною тканиною в зоні запалення.

Комбіноване застосування іонізуючого опромінення і впливу цитостатика циклофосфаміду викликало у експериментальних тварин на 30 добу патологічні зміни в легенях, аналогічні описаним - розвиток пневмосклерозу і вентиляційно-циркуляторні розлади в альвеолах, пригнічення лімфоїдної тканини. За поширеністю і локалізацією характер їх зберігався, проте вираженість цих патологічних змін була більш значною (найбільш виражені у спонтанно-гіпертензивних щурів, найменш - у щурів лінії Wistar). Так надмірне розростання фіброзної тканини зазначалося не тільки периваскулярно і перибронхіально, але і в самій стінці судин і бронхів. Через склероз стінки бронхів слизова оболонка їх на значному протязі втрачала свою характерну складчастість (Рис 7).

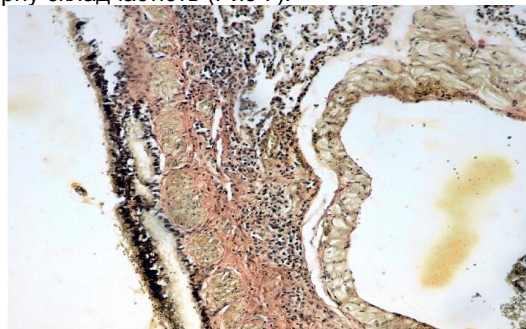


Рис. 7. Легені спонтанно-гіпертензивного щура на 30 добу після опромінення і введення циклофосфаміду. Збільшення кількості колагенових волокон в стінці бронха, згладжування його слизової оболонки. (Забарвлення пікрофуксином за Ван Гізоном. Збільшення 200).

Виразений склероз стінки кровоносних судин на рівні мікроциркуляції супроводжується осередковою їх облітерацією. Лімфоїдна тканина на значному протязі втрачає свою структуру і представлена лише скупченнями нечисленних дисоційованих лімфоцитів (Рис 8).

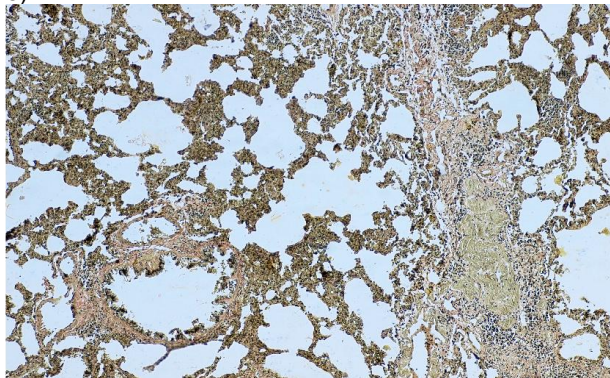


Рис. 8. Легені спонтанно-гіпертензивного щура на 30 добу після опромінення і введення циклофосфаміду. На тлі пневмосклерозу лімфоїдна тканина представлена дисоційованими нечисленими лімфоцитами. (Забарвлення пікрофуксином за Ван Гізоном. Збільшення 100).

Висновки

1. Опромінення щурів в дозі еквівалентній 40 Гр. на 30 добу викликає зміни в легенях у вигляді склерозу їх фіброзної стромы з вентиляційно-

циркуляторними розладами в альвеолах і реактивною гіперплазією лімфоїдної тканини.

2. Введення циклофосфаміду викликає депресію лімфоїдної тканини легень, а поєднання опромінення із введенням циклофосфаміду взаємно посилює їх патогенний вплив на легені й значно посилює ступінь розвитку склерозу і делімфатизації.

3. Всі патологічні зміни в легенях найбільш виражені у групі спонтанно-гіпертензивних щурів і найменш - у щурів групи Вістар, що доводить роль генетичних факторів у розвитку постхіміопроменевих легневих ускладнень.

Вивчення генетичних передумов розвитку хіміопроневих пошкоджень може допомогти у виявленні груп ризику та розробці профілактичних заходів у онкологічних хворих.

Література

1. Булдагов Л.А. Медицинские последствия радиационных аварий для населения / Л.А. Булдагов // Мед. радиология и радиационная безопасность. – 2002, – №2, – С. 7–17.
2. Воротынцева Н.С. Рентгенопульмонология / Н.С. Воротынцева, С.С. Голев. – Москва: МИА. – 2009. – 280с.
3. Хурані І.Ф. Легеневі ускладнення комбінованого лікування онкологічних хворих/ І.Ф. Хурані // Новоутворення. – 2010. – №6. – С. 20-23.
4. Does granulocyte colony-stimulating factor exacerbate radiation-induced acute lung injury in rats? / G. Miura, H. Awaya, T. Matsumoto et al. // Radiat Med. – 2000. Vol. 18(4). – P. 227-232.
5. Epstein-Barr virus-associated pneumonia in patients with post-transplant lymphoproliferative disease after hematopoietic stem cell transplantation / Q. Liu, Z. Fan, X. Luo et al. // Transpl Infect Dis. – 2010. Vol. 12(4). – P. 284-291.
6. The combined impact of CYP2C19 and CYP2B6 pharmacogenetics on cyclophosphamide bioactivation / N. Helsing, C. Hui, M. Goldthorpe et al. // Br J Clin Pharmacol. – 2010. Vol. 70(6). – P. 844-853.

Summary

PATHOMORPHOLOGICAL CHANGES IN LUNGS OF RATS AT IONIZING RADIATION AND CYCLOPHOSPHAMIDE INTRODUCTION

I.F. Khurani

Key words: lungs of rats, irradiation, cyclophosphamide.

The study investigates the effect of irradiation and cytostatics on lung tissue of rats of different genetic lines. The study was performed on the white line male rats weighing 200-300 g. The animals were divided into three groups: A - control group, B - rats the lungs of which were irradiated in the total dose of 40 Gy., C - rats injected with intraperitoneal cyclophosphamide at 100 mg / kg twice; D - rats the lungs of which were irradiated and simultaneously injected with cyclophosphamide. Each group contained 10 rats of different genetic lines (Fisher, Wistar, spontaneously hypertensive). The morphological study of the lungs was performed. The histological sections were stained with hematoxylin, eosin and Van Gieson's Stain. Via the light microscopy the condition and composition of lung tissue, the presence and nature of the pathological and reparative changes were assessed. It has been revealed that irradiation leads to the increase of collagen fibers in bronchovesicular stroma; it initiates the development of fibrosis; the administration of cyclophosphamide causes the depletion and degeneration of lymphoid tissue of the lung; the combination of irradiation with the introduction of cytostatics greatly enhances the degree of sclerosis and delymphatization development. Lungs of rats of different genetic groups respond differently to irradiation and introduction of cyclophosphamide, which proves the role of genetic factors in radio- and chemoresistance of lung tissue.

National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia

Матеріал надійшов до редакції 05.09.2011