

Н.Є. Узленкова,
Є.М. Мамотюк,
В.А. Гусакова,
О.К. Кононенко

Інститут медичної радіології
ім. С.П. Григор'єва
АМН України,
Харків

Біохемічні та морфологічні зміни у тканині легень щурів під впливом зовнішнього іонізуючого випромінювання

Biochemical and morphological changes in rat lung tissue under the influence of external ionizing radiation

Цель работы: Изучить динамику и характер формирования радиационно-индуцированных биохимических и морфологических изменений в соединительной ткани легких крыс в ранние и отдаленные сроки после однократного действия внешнего икс- и гамма-облучения.

Материалы и методы: Эксперименты проведены на 84 белых крысах-самцах массой 160–180 г. Однократное тотальное икс- и гамма-облучение животных в минимально- и среднелетальных дозах 2,0; 4,0 и 6,2 Гр проводили на установках РУМ-17 и ГУТ-Со-400М в стандартных технических условиях. Исследования проводили на 3, 7 и 14-е сутки, а также через 1, 3 и 6 месяцев после радиационного воздействия. Возрастной контроль в условиях длительного эксперимента использовали на каждый срок исследований. Количественное содержание суммарного коллагена и его отдельных фракций в легких крыс определяли биохимическими методами. Гистологические и ультраструктурные исследования ткани легких выполняли с помощью стандартных унифицированных методик. В отдаленные сроки после облучения проводили морфометрическую оценку развития фиброза в легких крыс. При анализе корреляционной зависимости рассчитывали коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Статистически обрабатывали полученные данные с использованием пакета программ Biostatik v.4.03 для Windows.

Результаты: Установлено, что однократное внешнее икс-облучение в минимально- и среднелетальной дозах вызывало долговременную активацию биохимических процессов в соединительной ткани легких крыс, что проявлялось в ранний пострадиационный период (3–14-е сутки) возрастанием в ней уровня растворимого коллагена I типа, а в отдаленный период (3–6 месяцев) — повышением содержания суммарного коллагена и его нерастворимой фракции. Морфологические и ультраструктурные изменения в ткани легких в ранние сроки после икс- и гамма-облучения обуславливались развитием деструктивных и дегенеративных реакций, а в отдаленные периоды характеризовались разрастанием соединительной ткани и формированием фиброзно измененных участков в структуре легкого. Обнаружена позитивная корреляция между изменением содержания суммарного коллагена и морфометрическими показателями площади пневмофиброза в легких в отдаленном периоде после облучения.

Выводы: Биохимические и морфологические радиационно-индуцированные изменения в соединительной ткани легких имеют одинаковую направленность в динамике развития, не зависят от дозы и типа излучения, определяются временем после облучения.

Ключевые слова: внешнее рентгеновское и гамма-облучение, легкие, соединительнотканый матрикс, коллаген, ультраструктура, гистология.

Objective: To study the dynamics and character of forming radiation induced biochemical and morphological changes in the connective tissue of the rats at short and long terms after single exposure to x-rays and gamma-radiation.

Material and Methods: The experiments were performed on 84 white male rats weighing 160-180 g. Single total x-ray and gamma-radiation at minimum and mean lethal doses (2.0, 4.0, 6.2 Gy) were delivered to the animals using PVM-17 and ГУТ-Со-400M units in standard technical conditions. The investigation was done on days 3, 7, 14 as well as 1, 3, 6 months after the exposure. Age control in the conditions of a long experiment was used in each period of the study. The amount of total collagen and its fractions in the lungs of the rats was determined using biochemical methods. Histology and ultrastructure of the lung tissue was studied using standard unified techniques. Morphometry of fibrosis development in the rat lungs was done at long terms after the exposure. Spirmen coefficient of ranked correlation was calculated. The obtained findings were processed statistically using Biostatik v.4.03 for Windows.

Results: Single external x-ray exposure at minimum and mean lethal doses was established to cause a long activation of biochemical processes in the connective tissue of the rat lungs, which manifested in an early post-radiation period (days 3 – 14) by increase of type I soluble collagen level and in late period (3-6 months) by increase in total collagen and its insoluble fraction. Morphological and ultrastructure changes in the tissue of the lungs at early terms after x-ray and gamma-radiation exposure were due to development of destructive and degenerative reactions. The long-term changes were characterized by growth of connective tissue and formation of areas of fibrous changes in the structure of the lungs. Positive correlation of the changes in total collagen amount and morphometry indices of pneumofibrosis area in the lungs at long terms after the exposure was revealed.

Conclusion: Biochemical and morphological radiation-induced changes in the lung connective tissue show similar tendencies during the development, do not depend on the dose and type of radiation, and are determined by the time after the exposure.

Key words: external x-ray and gamma-radiation exposure, lungs, connective-tissue matrix, collagen, ultrastructure, histology.

Численні роботи останніх років свідчать про те, що тканина легень є однією з високочутливих систем організму при дії на нього радіаційного фактора. Відомо, що саме променеві пневмонії, які розвиваються при тотальному опроміненні у високих дозах, нерідко мають вирішальне значення у клінічному перебігу променевої хвороби [1]. При терапевтичному опромінюванні пухлин, локалізованих у ділянці грудної клітки,

можливості променевої терапії також значно обмежуються ризиком розвитку променевих ускладнень з боку легеневої тканини. За даними різних авторів, частота виникнення променевих пневмонітів у осіб, опромінених з приводу раку легень, грудної залози, лімфом та тимом, становить 20–70 %, при цьому в 10–15 % з них розвиваються пневмофібрози, які значно погіршують якість життя пацієнтів [2–4]. Не-

зважаючи на численні експериментальні та клінічні дослідження у цьому напрямку, донині відсутні однозначні відомості про характер формування радіаційної патології у легенях. Найповніше вивчені форми променевої патології легень унаслідок локального опромінення у терапевтичних дозах [5–7]. Показано, що характер радіаційної відповіді у легенях значною мірою зумовлюється темпами виснаження і загибелі функціональних клітин, насамперед, респіраторних і зернистих епітеліоцитів та ендотеліоцитів. До того ж латентний період пізньої патології залежить від їх проліферативної активності у відповідь на радіаційно-індуковану клітинну загибель [8]. За даними експериментальних досліджень показано також, що патоморфологічні зміни, які виникають у легенях під впливом загального зовнішнього опромінення, за своєю глибиною та тривалістю часто перевищують такі в інших, навіть більш радіочутливих органах [9]. У сучасній літературі обговорюється роль експресії основних протизапальних і профіброгенних цитокінів (TGF- β 1, VEGF, PDGF та інших) у пускових механізмах променевих ефектів у легенях [10–12]. Але більшість досліджень, присвячених впливу радіації на легеневу тканину, виконано на гістологічному рівні. Практично не існує даних про біохемічні зрушення, особливо у сполучнотканинному матриксі легень, у ранні терміни після опромінювання та їх роль у розвитку пізніх ускладнень. Тому метою даної роботи було вивчення динаміки і характеру формування радіаційно-індукованих біохемічних та морфологічних змін у сполучній тканині легень щурів у ранні та віддалені терміни після одноразового впливу зовнішнього ікс- та гамма-випромінення.

Методика дослідження

Експерименти було проведено на 84 білих безпорідних щурах-самцях масою 160–180 г, яких утримували у стандартних умовах на звичайному раціоні віварію. Використовували модель зовнішнього одноразового ікс- та гамма-опромінювання щурів у мінімально- та середньолетальних дозах: 2,0; 4,0 і 6,2 Гр. Тотальне ікс-опромінювання тварин здійснювали на установці РУМ-17 за технічних умов: напруга на трубці — 200 кВ, сила струму — 10 мА, тубус F = 40 см, фільтри — 0,5 мм Cu + 1,0 мм Al, потужність поглинутої дози — 0,64 Гр/хв. Ультроструктурні дослідження проводили на щурах, яких піддавали дії одноразового гамма-опромінення на

апараті ГУТ-Со-400М у спеціальних клітках з оргскла з потужністю поглинутої дози 0,25 Гр/хв. Тварини контрольної групи отримували псевдоопромінення. Досліди проводили на 3, 7 і 14-ту, а також на 30, 90 і 180-ту добу (1, 3 і 6 місяців) після променевого впливу. У ці терміни з досліду виводили по 7–9 тварин у кожній групі з дотриманням правил евтаназії. Контрольну групу використовували для кожного терміну досліджень, оскільки це дало можливість урахувати вікові зміни піддослідних тварин в умовах тривалого експерименту.

Біохемічну оцінку сполучнотканинного матриксу проводили за даними вмісту сумарного колагену, а також його окремих фракцій у легенях. Виділення таких фракцій здійснювали за принципом його послідовної екстракції з тканини. Колаген I типу екстрагували за допомогою розчинів натрію хлориду у молярній концентрації 2 моль/л на фосфатному буфері (молярна концентрація 0,04 моль/л, pH = 7,0) з 0,04 % Твін 20 (PBS-Tween 20), колаген III типу — цитратним буфером (молярна концентрація 0,35 моль/л, pH = 4,3). Для одержання нерозчинного колагену (НК) осад суспендували у розчині вуглекислого амонію у молярній концентрації 0,2 моль/л і проводили гідроліз з трипсином (100 mg TPCK, Worthington Biochemicals, Freehold, NJ).

При визначенні сумарного колагену (СК) виконували прямий гідроліз тканин у розчині хлористоводневої кислоти в молярній концентрації 6 моль/л. Кількісне визначення колагену в кожній окремій фракції проводили методом окиснювання гідроксипроліну в його реакції з хлораміном Т [13]. Як стандарт використовували гідроксипролін фірми Reanal. Гістологічні дослідження проводили на мікроскопі Axiolab Zeiss (Німеччина) за допомогою уніфікованих методик після фіксації тканини легень у 10 % -вому розчині нейтрального формаліну [14].

Для ультроструктурних досліджень матеріал фіксували у глютаральдегіді та розчині тетраоксиду осмію (концентрація 1 %) [15]. Після зневоднювання у розчині етанолу та ацетоні зразки заливали в епон-аралдит і робили ультратонкі зрізи на ультрамікромомі УМТП-4 (Україна). Дослідження виконували на електронному мікроскопі EM-125 Сумського ВО «Електрон» (Україна) при прискорюючій напрузі 75 кВ.

При проведенні морфометричних досліджень вимірювали площі — фіброзу поверхні альвеол та капілярів у легенях щурів у терміни 1, 3 і 6 місяців після опромінювання. Площу досліджуваних морфологічних структур вимірювали за допомогою метричної окулярної сітки AM-26 з 256 квадратів з площею одного квадрата 0,25 мм² та загальною площею квадрата сітки 64 мм². Вимірювання виконували у 5 полях зору мікроскопа і розраховували середню кількість осередків на гістологічних препаратах з візуально виявленими змінами (умовні одиниці). Одержані результати обробляли за допомогою пакета програм Biostatik v.4.03 для Windows. Оцінювали статистично значущі відмінності у групах з використанням непараметричного критерію Манна-Уїтні та множинного порівняння за критерієм Крускала-Уолліса з поправкою Данна, а також t-критерію Стьюдента. Аналіз кореляційних залежностей проводили за допомогою обчислення коефіцієнта рангової кореляції Спірмена.

Результати та їх обговорення

Проведені біохемічні, гістологічні та ультроструктурні дослідження дозволили характеризувати динаміку і особливості розвитку радіаційно-індукованих змін у легенях щурів при тотальному зовнішньому опроміненні організму. Результати біохемічних досліджень стану

сполучнотканинного матриксу легень за даними вмісту сумарного колагену і його окремих фракцій при ікс-опромінуванні наведені у табл. 1. Як видно з отриманих даних, суттєві біохемічні зміни у сполучнотканинному матриксі легень виникали вже на ранніх строках і зберігалися в більш пізні періоди після променевої дії.

Характер виявлених змін не залежав від дози опромінення, але відрізнявся на початкових і кінцевих етапах спостережень. На ранніх етапах після опромінування, на 3–14-ту добу, не визначали вірогідних змін вмісту СК у легенях, але зростала фракція розчинного колагену I типу, здатного найбільш легко екстрагуватися з тканини. Рівень цього типу колагену на 3-тю добу після опромінення у дозі 4,0 Гр зростав в 1,7, у дозі 6,2 Гр — в 1,9 разу відносно рівня контрольних величин і складав відповідно $34,3 \pm 2,6 \%$ ($p = 0,01$) і $41,3 \pm 3,4 \%$ ($p = 0,01$) від СК у тканині проти $21,3 \pm 2,4 \%$ у контролі. На 7-му добу значення цього показника знижувалися порівняно з 3-ю добою, але перевищували рівень у інтактних тварин, у середньому в 1,5 разу. Водночас зменшувалася концентрація колагену III типу, вміст якого на 7-му добу після опромінення у дозі 4,0 Гр складав лише $5,1 \pm 0,8 \%$ ($p = 0,05$), а при дозі 6,2 Гр — $5,5 \pm 0,6 \%$ ($p = 0,01$) від сумарного порівняно з $9,2 \pm 0,5 \%$ у контролі. На 14-ту добу після опромінення у дозі 4,0 Гр значення показників поверталися до контролю, але залишався підвищеним рівень колагену I типу у легенях щурів, опромінених у дозі 6,2 Гр. Істотні зміни СК відбувалися протягом експерименту в більш пізні терміни, починаючи з 30-ї доби, і були вірогідно виражені на 90 і 180-ту добу після радіаційного впливу.

На кінцевому етапі досліджень вміст СК у легенях ікс-опромінених тварин зростав у середньому в 1,8 разу, що перевищувало значення показника у групах відповідного вікового контролю в 1,3 разу при опроміненні у дозі 4,0 Гр і в 1,4 разу — у дозі 6,2 Гр.

Характерним для віддаленого періоду спостережень було переважне накопичення нерозчинних форм колагену у тканині. На 90-ту добу після опромінування вміст фракції НК складав відповідно $71,6 \pm 9,7 \%$ ($p = 0,03$) і $73,4 \pm 9,2 \%$ ($p = 0,01$) від рівня загального

колагену проти $60,8 \pm 6,8 \%$ у контролі, а наприкінці досліджень — $74,9 \pm 8,9 \%$ ($p = 0,05$) і $78,6 \pm 9,2 \%$ ($p = 0,05$) проти $62,3 \pm 6,8 \%$.

У контрольних тварин у ці терміни, тобто через 6 місяців з початку експерименту, також спостерігалось зростання вмісту СК, у середньому в 1,2 разу, але це зумовлювалося віковими змінами у легенях і відсоткові співвідношення окремих фракцій колагену у контролі залишалися без змін, за винятком зниження колагену I типу, тоді як в опромінених тварин вміст колагену I типу у віддалені терміни залишався вірогідно підвищеним, у середньому в 1,6 разу відносно вікового контролю, але знижувався порівняно з ранніми термінами і складав $16,1 \pm 1,3 \%$ ($p = 0,01$) і $16,2 \pm 2,1 \%$ ($p = 0,02$) проти $13,1 \pm 1,6 \%$ у контролі. Вміст колагену III типу становив відповідно $7,45 \pm 0,13 \%$ ($p = 0,03$) і $7,81 \pm 0,08 \%$ ($p = 0,01$) проти $9,25 \pm 0,11 \%$ у контролі.

Відомо, що колагени I і III типів за своїм амінокислотним складом не відрізняються один від одного і від НК. Однак розбіжності відбуваються через агрегаційні властивості первинних поліпептидних ланцюгів та їх здатність брати участь у процесах дозрівання колагенових фібрил. Справжнім метаболічним попередником зрілого колагену у тканинах вважають колаген I типу, який складається тільки з $\alpha_1, \alpha_2, \alpha_3$ -ланцюгів і швидко перетворюється на НК. Разом з цим, колаген III типу містить α, β і γ -компоненти, які утворюють надмірну кількість інтрамолекулярних зв'язок і перешкоджають перетворенню його у нерозчинний.

Колаген I типу відносять до «молодого» метаболічно активного колагену і маркера активності його синтезу у тканинах [15]. Але якась частина колагену, що синтезується у тканинах, не бере участі у формуванні НК й руйнується під впливом специфічних колагеназ, тому фракції колагенів, які найбільш легко екстрагуються з тканини, завжди вміщують деяку кількість продуктів його ферментативного розпаду [16]. У зв'язку з цим отримані на початку досліджень дані про зростання рівня розчинного колагену у легенях за відсутності змін з боку СК можуть означати посилення ферментативного руйнування новосинтезованого колагену на ранніх етапах після опромінування. Активіза-

ція процесів протеолізу, при якому відбувається розщеплення сполучнотканинних та інших розчинних білків, є однією з основних і універсальних ранніх відповідей організму на дію іонізуючої радіації [17].

На відміну від цього, встановлені у більш пізні терміни зміни складу колагену, навпаки, вказують на активацію процесів його утворення в легенях у віддаленому періоді після ікс-опроміювання. Про це свідчило стійке зростання вмісту

Таблиця 1

Вміст колагену у тканині легень щурів після одноразового зовнішнього ікс-опромінення у дозі 4,0 та 6,2 Гр, мкмоль гідроксипроліну/г тканини
Collagen amount in the tissue of rat lungs after single external x-ray exposure at a dose of 4.0 and 6.2 Gy (mmol hydroxyproline /g of tissue)

Дослід, n = 9	Колаген							
	I типу		III типу		Нерозчинний		Сумарний	
	$\bar{X} \pm Sx$	S	$\bar{X} \pm Sx$	S	$\bar{X} \pm Sx$	S	$\bar{X} \pm Sx$	S
3-тя доба								
Контроль	9,1 ± 0,7	2,1	3,5 ± 0,2	0,7	25,8 ± 1,9	5,7	42,6 ± 2,9	8,1
Опромінення, Гр 4,0;	14,4 ± 0,9 p = 0,010	2,9	2,9 ± 0,3 p = 0,123	0,8	24,4 ± 1,4 p = 0,682	4,4	43,3 ± 2,8 p = 0,229	8,9
6,2	17,3 ± 1,7 *p = 0,010	5,5	3,1 ± 0,2 p = 0,380	0,7	26,8 ± 2,0 p = 0,744	4,9	51,1 ± 3,7 p = 0,170	11,8
7-ма доба								
Контроль	8,1 ± 0,6	1,8	3,5 ± 0,2	0,7	25,2 ± 1,9	5,6	38,0 ± 3,0	8,4
Опромінення, Гр 4,0;	12,6 ± 1,1 p = 0,013	3,4	2,4 ± 0,2 p = 0,003	0,6	28,9 ± 2,2 p = 0,267	6,8	46,8 ± 3,2 p = 0,588	10,1
6,2	13,0 ± 0,9 p = 0,020	2,8	2,7 ± 0,3 p = 0,063	0,9	28,7 ± 1,7 p = 0,197	5,2	48,8 ± 4,7 p = 0,308	14,8
14-та доба								
Контроль	8,6 ± 0,7	2,3	3,9 ± 0,3	1,0	26,4 ± 1,6	4,4	43,5 ± 3,6	10,9
Опромінення, Гр 4,0;	9,7 ± 1,2 p = 0,567	3,4	4,3 ± 0,3 p = 0,327	1,1	30,7 ± 2,5 p = 0,351	7,9	50,1 ± 3,2 p = 0,279	10,1
6,2	12,0 ± 0,8 p = 0,013	2,5	3,3 ± 0,2 p = 0,153	0,8	33,7 ± 1,6 p = 0,015	5,0	52,3 ± 2,8 p = 0,041	12,1
30-та доба								
Контроль	9,4 ± 0,7	1,9	4,2 ± 0,2	0,9	27,8 ± 1,6	4,9	47,4 ± 3,0	9,2
Опромінення, Гр 4,0;	11,5 ± 0,6 p = 0,031	2,1	4,9 ± 0,4 p = 0,164	1,2	39,7 ± 2,0 p = 0,010	6,4	58,3 ± 3,7 p = 0,088	11,6
6,2	2,8 ± 1,2 p = 0,013	3,5	5,4 ± 0,5 p = 0,050	1,4	38,3 ± 3,0 p = 0,020	9,5	60,6 ± 4,7 p = 0,133	14,9
90-та доба								
Контроль	9,2 ± 0,5	1,5	4,4 ± 0,3	0,8	31,2 ± 1,7	4,8	51,3 ± 3,7	10,6
Опромінення, Гр 4,0;	12,3 ± 0,9 p = 0,037	3,2	5,2 ± 0,4 p = 0,106	1,1	49,8 ± 2,0 p = 0,015	6,0	69,6 ± 3,6 p = 0,014	11,5
6,2	13,5 ± 0,8 p = 0,03	2,5	5,6 ± 0,5 p = 0,049	1,5	45,1 ± 2,7 p = 0,018	8,4	72,3 ± 4,0 p = 0,013	12,5
180-та доба								
Контроль	7,4 ± 0,6	1,7	5,2 ± 0,4	1,3	35,3 ± 2,3	7,0	56,2 ± 3,6	10,9
Опромінення, Гр 4,0;	12,1 ± 0,6 p = 0,01	1,9	5,6 ± 0,6 p = 0,765	1,8	56,3 ± 2,9 p = 0,0125	9,1	75,1 ± 4,5 p = 0,026	14,1
6,2	12,7 ± 1,0 p = 0,002	3,1	6,1 ± 0,4 p = 0,201	1,4	3,1 ± 3,0 p = 0,013	4,4	78,1 ± 4,7 p = 0,012	14,7

Примітка: * Тут і далі: p — вірогідно порівняно з контролем, p < 0,05.

СК при збереженні підвищеного рівня метаболічно активного колагену I типу з переважним накопиченням його нерозчинних форм. Слід зазначити, що саме йонізувальне випромінення здатне сприяти виникненню конформаційних модифікацій у молекулах колагену, тим самим прискорюючи процеси дозрівання колагенових фібрил [18, 19]. З цим також може бути пов'язане підвищене відкладення НК у легенях опромінених тварин, тоді як у контрольних щурів вікові зміни не супроводжувалися зростанням відсоткового вмісту цієї фракції колагену.

Таким чином, проведені біохемічні дослідження показали, що радіаційно-індуковані зміни у сполучнотканинному матриксі легень за своєю спрямованістю не залежать від дози ікс-опромінення, але визначаються часом, що минув після радіаційної дії, і мають тривалий, прогресуючий характер.

Результат гістологічних досліджень у легенях ікс-опромінених щурів також свідчить про ранні та віддалені радіаційні ефекти. На ранніх строках, на 3–14-ту добу після опромінювання, у легеневій тканині визначалися ознаки набряку й деструктивних порушень. Ранні радіаційні зміни не залежали від дози опромінення і супроводжувалися розширенням та у деяких місцях ушкодженням дрібних судин, набряком міжальвеолярних перегородок та інфільтрацією в них еритроцитів і клітин білої крові. На окремих ділянках міжальвеолярних перегородок спостерігалися поширені оксифільно забарвлені фрагменти колагенових фібрил з поодинокими фібробластами та інфільтровані клітинами крові. Альвеолярний епітелій був місцями сплющений, у порожнинах деяких альвеол десквамований. Ядра альвеолоцитів мали конденсований гіперхромно базофільний хроматин. Місцями в альвеолах виявлялися дисоційовано роз'єднані альвеолоцити. Починаючи з 30-ї доби і далі, виявлені зміни характеризувалися порушенням альвеолярно-капілярної структури та збільшенням клітинних елементів серед сполучнотканинних структур. На значних ділянках поля зору виявлялися збільшені у розмірах фібробласти з яскраво базофільними ядрами. Пошкоджені альвеоли переважно були розмежовані дрібними повздовжніми й різноманітно орієнтованими колагеновими волокна-

ми. Через 3 місяці після радіаційного впливу збільшувалася поширеність міжальвеолярних перегородок за рахунок розростання волокнистих сполучнотканинних утворів. У віддалені терміни, на пізніх строках спостережень, у легеневій тканині піддослідних тварин визначалися ділянки з ушкодженою гістоструктурою, характерною для розвитку фіброзу. На зрізах у фіброзно змінених зонах площа альвеол була зменшена, кровоносні судини нечисленні, переважно зі стовщеними стінками та вузькими просвітами, місцями облітеровані. Будова судинних стінок була невираженою. Стовщені міжальвеолярні перегородки, здебільшого представлені кількома шарами, компактно межували з полями грубоволокнистих сполучнотканинних утворів (рис. 1). Окремі ділянки волокнистих колагенових розростань з ознаками формування фіброзу виявляли у легенях деяких тварин контрольної групи, але загальна площа фіброзно змінених ділянок у контролі, за даними морфометрії, на пізніх строках спостережень збільшувалася лише у 1,2 разу.

Разом з цим загальна площа фіброзу у легенях піддослідних тварин на 180-ту добу після опромінення у дозі 6,2 Гр в 2,4 разу перевищувала таку у групі відповідного вікового контролю і функціональна площа дихальної поверхні альвеол зменшувалася в 0,8 разу (табл. 2). Морфометрична оцінка відносної площі капілярів дала не такі чіткі результати внаслідок сильного розкиду значень даного показника в окремих дослідах, але наприкінці досліджень відзначалися вірогідні відхилення від контролю і виражене зменшення площі капілярів в 1,5 разу.

Дані морфометричних досліджень відповідали даним біохемічного визначення вмісту СК у легенях цих щурів. За результатами кореляційного аналізу найвищі абсолютні значення коефіцієнта кореляції між показниками вмісту СК та площею фіброзу в легенях були виявлені на 30-ту та 90-ту добу і дорівнювали відповідно $r = 0,976$ ($p = 0,002$) і $r = 0,893$ ($p = 0,012$). На кінцевому етапі спостережень, на 180-ту добу, зберігалася така ж структура кореляційної залежності, і коефіцієнт кореляції складав $r = 0,750$ ($p = 0,053$).

Певним підтвердженням загального характеру радіаційно-індукованих змін у сполучно-

Морфометричні показники у легенях щурів після одноразового зовнішнього ікс-опромінення у дозі 6,2 Гр (умов. од.)
 Morphometry of the rat lungs after single external x-ray exposure at a dose of 6.2 Gy (conventional units)

Термін дослідження, дб	Дослід	n	Площа					
			фіброзу		альвеол		капілярів	
			$\bar{X} \pm S\bar{x}$	S	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	S	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	S
30	Контроль Опромінення	21 23	9,3 ± 0,8	3,8	69,8 ± 5,4	23,3	2,3 ± 0,3	1,3
			11,1 ± 0,9 p = 0,173	4,5	45,8 ± 2,5 p = 0,002	8,7	2,0 ± 0,2 p = 0,137	0,6
90	Контроль Опромінення	17 21	10,5 ± 0,7	2,9	60,5 ± 5,8	24,6	2,6 ± 0,37	1,3
			19,4 ± 2,9 p = 0,014	13,5	52,0 ± 3,9 p = 0,017	12,8	2,7 ± 0,4 p = 0,327	0,9
180	Контроль Опромінення	21 21	12,4 ± 0,7	3,3	54,8 ± 3,6	15,6	1,9 ± 0,2	1,1
			28,6 ± 3,4 p = 0,001	16,3	37,0 ± 1,8 p = 0,001	6,8	1,3 ± 0,3 p = 0,041	1,0

тканинних структурах легень під впливом зовнішнього опромінювання були дані електронномікроскопічних досліджень при дії гамма-випромінення у середньолетальній дозі. Так, ультраструктурні зміни у легеневій тканині внаслідок гамма-опромінення на ранніх етапах після променевого впливу стосувалися всіх клітинних елементів.

Ранні радіаційні зміни на 3–7-му добу характеризувалися редукцією цитоплазматичних органел, «спустошеністю» цитоплазматичного матриксу та зниженням синтезуючої активності основної маси клітин. Порушення ультраструктури у дихальних клітинах (респіраторні епітеліоцити) полягало у набряку цитоплазми. Виявлялися дистрофічні зміни з боку мітохондрій: укорочені кристи, численні мікропіноцитозні везикули з крайовим розташуванням, що часто виходили в просвіт альвеол.

Радіаційні зміни у зернистих епітеліоцитах (гранулярні клітини) і фібробластах виникали дещо пізніше, але також виявлялися у деструктивно-дегенеративних зрушеннях мітохондрій і ушкодженні ядерного апарату. Кількість пластинчастих тілець у цитоплазмі та рівень секреції сурфактанту гранулярними клітинами у ранні терміни були значно зменшені. Часто виявлялися зруйновані клітини, зони десквамованого і дедиференційованого епітелію, вирости цитоплазми різної форми та збільшення кількості лізосом у альвеолярних макрофагах, стовщення базальної мембрани. Ультраструктурні порушення повністю не відновлювалися до кінця досліджень. У віддаленому періоді, на 90-ту і 180-ту добу спостерігалася активація синтезуючих процесів з боку сполучної тканини.

В інтерстиції легень опромінених тварин виявляли надмірне відкладення колагену, який іноді заповнював просвіти окремих капілярів (рис. 2). Отже, зіставлення даних гістологічних та електронномікроскопічних досліджень показали, що радіаційно-індуковані зміни у структурі легень на тканинному і клітинному рівні мають однакову спрямованість при дії обох видів випромінення, але залежать від термінів, що минули після цього. Ранні радіаційні зміни характеризувалися розвитком деструктивних та дегенеративних порушень усіх структурних елементів легеневої тканини, які у віддаленому періоді змінювалися стимуляцією росту колагенових волокон сполучної тканини.

Таким чином, за результатами проведених досліджень встановлено характер та особливості формування біохемічних і морфологічних змін у легенях щурів під впливом ікс- та гамма-іонізуючого випромінення. Показано, що одним із механізмів у реалізації впливу одноразового зовнішнього опромінення в мінімально- та середньолетальних дозах є біохемічні зміни у сполучнотканинному матриксі легень, які відбуваються вже в ранні терміни клінічно прихованих радіаційних порушень і визначають розвиток структурних змін у легеневій тканині у віддаленому періоді після радіаційної дії. Віддалені ефекти опромінення зумовлюють тривалий прогресуючий характер відповіді сполучної тканини на дію іонізуючої радіації. Практичне значення одержаних результатів полягає в тому, що вони підтверджують особливу роль сполучної тканини у патогенетичних механізмах розвитку віддаленої радіаційної патології у легенях.

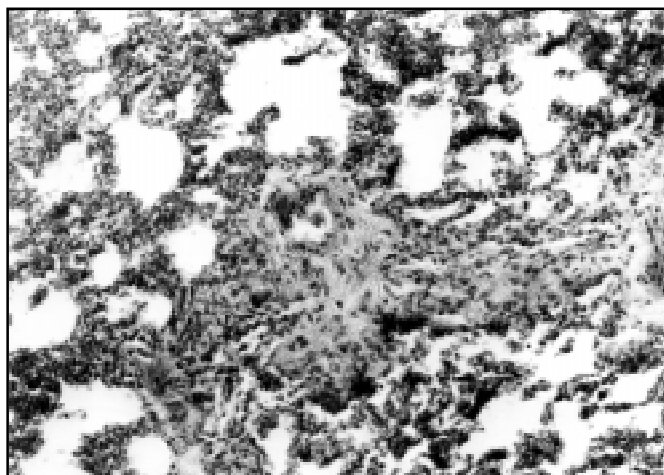


Рис. 1. Тканина легень щурів, 3 міс. після ікс-опромінювання: структура місцями ушкоджена, поширені сполучнотканинні волокна. Гематоксилін-еозин, $\times 1000$

Fig. 1. Rat lung tissue 3 months after x-ray exposure: the structure is damaged, connective-tissue fibers are present. Hematoxylin-eosin, $\times 1000$

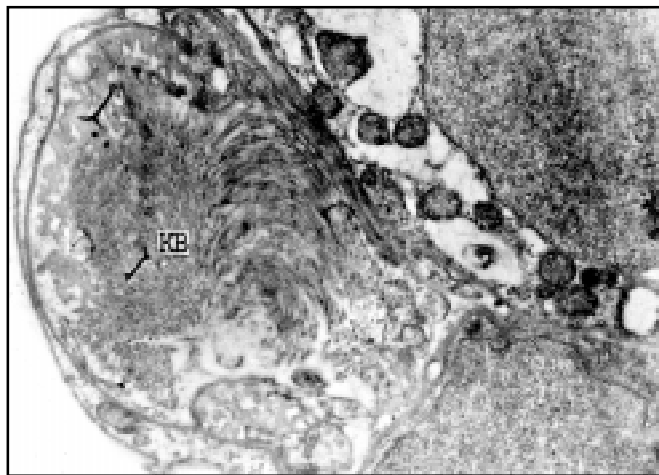


Рис. 2. Тканина легень щурів, 6 міс. після ікс-опромінювання: просвіт капілярів, заповнений колагеновими волокнами (КВ). $\times 8200$

Fig. 2. Rat lung tissue 6 months after x-ray exposure: the lumens of the capillaries are filled with collagen fibers. $\times 8200$

ВИСНОВКИ

1. Встановлено, що спрямованість радіаційно-індукованих змін у сполучній тканині легень щурів під впливом зовнішнього одноразового ікста гамма-іонізувального випромінювання у мінімально- та середньофатальних дозах не залежить від дози та виду випромінювання і визначається часом, що минув після радіаційної дії.

2. Вплив ікс-випромінювання в зазначених дозах викликає тривалу активацію біохімічних процесів у сполучній тканині легень, які в ранній післярадіаційний період (3–14-та доба) призводять до зростання в ній рівня розчинного колагену І типу та підвищення у віддалені терміни (3–6 місяців) вмісту сумарного колагену і його нерозчинної фракції.

3. Існує позитивна кореляція між змінами вмісту сумарного колагену та морфометричними показниками площі пневмофіброзу у легенях у віддаленому періоді після ікс-опромінювання.

4. Морфологічні та ультраструктурні зміни у тканині легень у ранні терміни після ікс- та гамма-опромінювання зумовлені розвитком деструктивно-дегенеративних реакцій на клітинному і тканинному рівні та у віддаленому періоді, характеризуються розростанням сполучнотканинних елементів і волокон колагену й формуванням фіброзно змінених ділянок у структурі легень.

Література

1. Афанасьев Б.П., Акимов А.А., Козлов А.П. // *Мед. радиол. и радиац. безопасн.* — 2000. — Т. 45, № 2. — С. 23–27.

2. Marja Simojori, Markku Sautala, Juha Risteli et al. // *Cancer Gynecol. Oncol.* — 2003. — Vol. 88. — P. 358–362.
3. Cosset J.-M. // *Radiother. Oncol.* — 2002. — Vol. 63. — P. 1–10.
4. Bourgeois J.-F., Gourgou S., Kramar A. et al. // *Skin. Res. Technol.* — 2003. — Vol. 9. — P. 39–42.
5. Hill C., Rodemann H., Hendry J. et al. // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* — 2001. — Vol. 49. — P. 353–365.
6. Chon B., Loeffler J. // *Oncologist.* — 2002. — Vol. 7. — P. 136–143.
7. Burger A., Lofflet H., Bamberg M., Rodemann H. // *Int. J. Radiat. Biol.* — 1998. — Vol. 73. — P. 401–408.
8. Denham J., Hauer-Jensen M. // *Radiother. Oncol.* — 2002. — Vol. 63. — P. 129–145.
9. Кононенко Е.К. // *Комбинированное действие ионизирующей радиации и травмы груди на ультраструктуру клеток респираторного отдела легких: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.* — К., 1985. — 22 с.
10. Barcellos-Hoff M.-H. // *Radiat. Res.* — 1998. — Vol. 150. — P. S109–S120.
11. Blobe G., Shiemann W., Lodisch H. // *N. Engl. J. Med.* — 2000. — Vol. 342. — P. 1350–1358.
12. Border W., Nodle N. // *Ibid.* — 1994. — Vol. 10. — P. 1286–1292.
13. Замаараева Т.В. // *Современные методы в биохимии.* — М.: Медицина. — 1997. — С. 262–264.
14. Морфологічні дослідження на етапі доклінічного вивчення лікарських засобів: Методичні рекомендації / За ред. А.В. Матвієнко, Л.В. Степанова. — К., 2001.
15. Гайер Г. // *Электронная микроскопия: Пер. с нем. И.Б. Бухвалова / Под ред. Н.Т. Райхлина.* — М.: Мир, 1974. — 488 с.
16. Delanian S., Martin M., Lefaix J.-L. // *Br. J. Radiol.* — 1992. — Vol. 65. — P. 82–83.
17. Lefevre Fabrice, Garnotel Roselyne, Georges Nadine et al. // *Experim. cell res.* — 2001. — Vol. 27 — P. 84–93.
18. Vujaskovic Z., Ausher M., Feng Q. et al. // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* — 2001. — Vol. 50. — P. 851–855.
19. Borgmann K., Roper B., El-Awady R. et al. // *Radiother. Oncol.* — 2002. — Vol. 64. — P. 121–152.

Надходження до редакції 26.01.2006.

Прийнято 29.08.2006.

Адреса для листування:

Узленкова Наталія Євгенівна,
ІМР ім. С.П. Григор'єва АМНУ, вул. Пушкінська, 82,
Харків, 61024, Україна