

Криолучевой патоморфоз аденокарциномы Герена

А.А. МИХАНОВСКИЙ, В.А.ГУСАКОВА

*Институт медицинской радиологии им. С.П. Григорьева АМН Украины, г.Харьков***Cryoray Pathomorphosis of Guerin's Adenocarcinoma**

MIKHANOVSKY A.A., GUSAKOVA V.A.

Institute for Medical Radiology named by Grigoriev S. of the Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kharkov

Изучали криолучевой патоморфоз аденокарциномы Герена в зависимости от сроков проведения предлучевой криодеструкции опухоли и суммарной очаговой дозы (СОД) облучения. Исследования показали, что рентгенотерапия аденокарциномы Герена в сочетании с криодеструкцией опухоли за 24 ч до начала облучения оказывает более выраженный ингибирующий эффект по сравнению с опухолями, подвергнутыми криовоздействию за 48 ч и контрольной группой.

Вивчали кріопроменевий патоморфоз аденокарциноми Герена в залежності від термінів проведення передпроменевої кріодеструкції пухлини і сумарної очагової дози опромінення. Дослідження показали, що рентгенотерапія аденокарциноми Герена в сполученні з кріодеструкцією пухлини за 24 год до початку опромінення, виявляє більш значущий інгібуючий ефект, порівняно з пухлинами, підданими кріовпливу за 48 год і контрольною групою.

The authors studied a cryoray pathomorphosis of Guerin's adenocarcinoma depending on the terms of pre-x-ray tumour cryodestruction and total focal dose (TFD) of irradiation. The investigations have shown that X-ray therapy of Guerin's adenocarcinoma in the combination with a tumour cryodestruction in 24 hrs before the irradiation, shows more manifested inhibiting effect comparing to the tumours, subjected to cryoeffect before 48hrs, and the control group.

Вопросы лучевого лечения рака тела матки (РТМ) из-за недостаточной его эффективности продолжают оставаться весьма актуальными. По мнению многих исследователей, неудовлетворительные результаты лучевой терапии обусловлены относительно невысокой радиочувствительностью аденокарциномы эндометрия. В связи с этим необходимо разработать новые или совершенствовать традиционные методы лечения. Одним из путей оптимизации результатов лучевой терапии РТМ является использование предлучевой криодеструкции опухоли [1, 2]. Между тем в настоящее время в литературе отсутствуют данные о влиянии сроков криодеструкции опухоли на эффективность лучевого лечения, что, по нашему мнению, безусловно, является существенным. Однако проведение такого исследования в клинике не является этичным, что и обуславливает необходимость его проведения на экспериментальных животных.

Таким образом, целью настоящего исследования явилось изучение криолучевого патоморфоза аденокарциномы Герена в зависимости от сроков криовоздействия и СОД облучения.

Опыты были проведены на 96 крысах-самцах массой 160–180 г с подкожно перевитой аденокарциномой Герена. Штамм крысиной аденокарциномы Герена был получен из Института экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины. Трансплантацию аденокарциномы Герена осуществляли введением под кожу крыс 0,5 мл 20%-й суспензии опухолевых клеток (ОК). В зависимости от вида воздействия животные были распределены по группам : первая (интактный контроль) –

The problems of x-ray treatment of the uterus body cancer (UBC) have remained to be current due to its low efficacy. According to the notions of many researchers, negative results of x-ray therapy are stipulated by relatively low radiosensitivity of the endometrium adenocarcinoma. In this connection it is necessary to elaborate new treatment methods and improve the traditional ones. One of the ways for UBC x-ray therapy optimisation is use of the tumour pre-x-ray cryodestruction [1, 2]. Nevertheless, nowadays no literature data exist as for the effect of tumour cryodestruction terms on the efficacy of x-ray treatment that, from our point of view, is a significant aspect. However, performance of this investigation in clinics is not ethical, and this fact stipulates the necessity of its accomplishing in experimental animals.

Thus, the aim of the investigation was to study cryo-x-ray pathomorphism of Guerin's adenocarcinoma depending on the cryoeffect terms and TFD of irradiation.

Experiments were performed in 160-180g male rats (n=96) with subcutaneously intertwisted Guerin's adenocarcinoma. Strain of Guerin's adenocarcinoma in rats was delivered from the Institute for Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology named by R.E. Kavetsky of the National Academy of Sciences of Ukraine. Transplantation of Guerin's adenocarcinoma was accomplished by subcutaneous injection of 0,5 ml of 20% tumour cells (TC) suspension. Depending on the type of effect the animals were divided into groups: the first one (intact control) consisted of the animals, the tumours of which had not been subjected to any effect; the second group (control

животные, опухоли которых не подвергались никакому воздействию; вторая (контрольное облучение) – животные, опухоли которых подвергались фракционированному рентгеновскому облучению без криовоздействия; третья – животные с криодеструкцией опухоли за 24 ч до начала облучения; четвертая – животные с криодеструкцией опухоли за 48 ч до начала облучения.

В каждой группе было 24 животных.

Криодеструкция аденокарциномы Герена выполнялась закисью азота при температуре -70°C криогенным гинекологическим аппаратом АКГ-01 контактным способом. Криовоздействие осуществлялось непрерывно в течение 10 мин.

Локальное облучение зоны роста опухоли Герена проводили на аппарате РУМ-17 при стандартных технических условиях: напряжение – 150 кВ, сила тока – 15 мА, фильтры – 0,5 мм Cu_1 и 1,0 мм Al , фокусное расстояние – 25 см. Коэффициент распределения дозы в воздухе 0,97. Тело крыс экранировали трехмиллиметровыми свинцовыми пластинами. Разовая очаговая доза на фракцию составляла 5 Гр, СОД – 40 Гр с интервалом 48 ч между фракциями.

Для изучения патоморфоза опухоли в результате лучевого и криолучевого воздействий животных (по 3 крысы в каждой экспериментальной группе) выводили из опыта после каждой последующей дозы облучения для проведения гистологических исследований. Препараты фиксировали в 10%-м растворе нейтрального формалина, подвергали парафиновой проводке по общепринятой методике. Микротомные срезы окрашивали гематоксилином-эозином и по Ван-Гизону. Общее время наблюдения составило 30 сут.

Макроскопически на разрезе опухолевая ткань была ограничена белесоватой волокнистой капсулой с узкими тяжами, проникающими местами в творожистые, местами в бурые массы компактного строения. В некоторых случаях центральные части опухолей содержали полости. Глубина крионекроза опухоли колебалась от 0,7 до 1,0 см.

При изучении криолучевого патоморфоза аденокарциномы Герена были обнаружены отличительные морфологические особенности, зависящие от сроков криовоздействия и СОД облучения. Было установлено, что штамм аденокарциномы Герена развивается опухолью с высокой степенью злокачественности и радиорезистентности. Наиболее чувствительными к лучевому воздействию оказались тяжи активно функционирующих элементов паренхимы – светлые базофильные клетки. Обширные поля плотно размещенных темных мелких (камбиальных) клеток без видимых признаков синтетических процессов в начале облучения в последующем обнаруживали интенсивную способность к

irradiation) comprised the animals, tumours of which were subjected to fractional x-ray irradiation without a cryoeffect; the third - animals with a tumour cryodestruction in 24 hrs before starting irradiation; the fourth group consisted of the animals with a tumour cryodestruction in 48 hrs before start of irradiation.

Each group comprised 24 animals.

Cryodestruction of Guerin's adenocarcinoma was accomplished by means of nitrous oxide under the temperature of -70°C using ACG-01 cryogenic gynaecological apparatus during 10 min.

Local zone irradiation of the growth of Guerin's tumour was performed by means of RUM-17 apparatus under standard technical conditions: voltage-150kV, 15 mA current, filters: 0,5mm Cu_1 and 1,0 mm Al , a focus distance: 25 cm. Coefficient of a dose redistribution in an air made 0,97. Rats' bodies were screened with 3mm' lead plates. A single focal dose per one fraction made 5g; TFD: 40 Gy with 48hrs' interval between the fractions.

To study a tumor pathomorphosis as a result of x-ray and cryo-ray effects, the animals (3 rats in each experimental group) were excluded from the experiment after each following irradiation dose with the aim to perform histological investigations. Preparations were fixed in 10% solution in neutral formalin, subjected to a paraffin impregnation according to the standard method. Microtome sections were stained with hematoxylin-eosin and according to van Gizon. A total term of observation made 30 days.

Macroscopically in the sections a tumour tissue was limited with a whitish fibrous capsule with thin cords, penetrating here and there into a coagulated (curdled), sometimes into brown compact masses. In some places central sites of the tumour contained cavities. The depth of tumour cryonecrosis varied from 0,7 to 1,0 cm.

When studying a cryo-ray pathomorphism of Guerin's adenocarcinoma there were found characteristic morphological peculiarities, depending on the terms of cryoeffect and TFD of irradiation. It was established that Heren adenocarcinoma's strain is developed in a tumour with a high extent of malignancy and radioresistance. The most sensitive to x-ray effect occurred to be the cords of actively functioning parenchyma elements: light basophilic cells. Extensive areas of tightly located dark small (cambial) cells without obvious synthetic processes when started irradiation, have revealed in future an intensive capability to proliferation and differentiation. Fractional x-ray irradiation in TFD up to 15 Gy (the second group) stimulated differentiation and proliferation of cambial cells, as well as increased the number of mitoses.

TFD rise of a fractional x-ray irradiation up to 20-25 Gy caused the destruction in the areas of cambial and light cells. As a result of reactive

пролиферации и дифференцировке. Так, фракционное рентгеновское облучение в СОД до 15 Гр (вторая группа) стимулировало дифференцировку и пролиферацию камбиальных клеток, а также увеличивало количество митозов.

Увеличение СОД фракционного облучения до 20–25 Гр вызывало деструкцию полей камбиальных и светлых клеток. Как следствие реактивного воспаления на повреждения, в препаратах этих опухолей наблюдались отек стенок сосудов и диапедезная инфильтрация клетками крови образовавшихся некротизированных участков. Вокруг мелких тонкостенных сосудов, заполненных эритроцитами с увеличенным количеством клеток белой крови, располагались базофильно окрашенные мелкие и крупные “гигантские клетки инородных тел”. При дальнейшем увеличении СОД фракционного рентгеновского облучения до 40 Гр (среди полей клеточного детрита) в препаратах обнаруживались очаги базофильно окрашенных крупных клеток, прилежащих к тонкостенным, мелким, атипично расширенным капиллярам. Среди клеточного состава обнаруживались “лучевые гиганты”, конгломерация хромосом, неправильное расположение хромосомных пластинок, а в отдаленных участках укрупненные, полиморфные, светлбазофильные клетки.

Сочетание рентгенотерапии с криодеструкцией опухоли (третья и четвертая группы) повышало количество разрушенных ОК. Причем криолучевой патоморфоз аденокарциномы Герена в группах животных с криовоздействием за 24 ч до начала облучения отличался некоторыми особенностями и степенью выраженности по сравнению с криолучевым патоморфозом опухоли с криодеструкцией за 48 ч.

При фракционном облучении дозой 5 Гр, проведенном через 24 ч после криовоздействия, в препаратах опухолевой ткани обнаруживалось разделение светлых базофильных клеток на клетки с базофильной и оксифильной цитоплазмами. Известно, что дифференцированные клетки аденокарциномы Герена имеют обширную базофильную мелкоглыбчатую цитоплазму. Клетки с активными синтетическими процессами, продуцирующие белковые секреты, отличаются базофилией цитоплазмы, обусловленной высоким содержанием в эргастоплазме рибонуклеиновых кислот. Через сутки после криодеструкции и облучения СОД 5 Гр половина ОК имела бурооксифильную цитоплазму, что свидетельствовало о повреждении эргастоплазмы и нарушении метаболического состояния клеток. Криолучевое воздействие вызвало гибель дифференцированных ОК, выделив из общей популяции гетерогенного клеточного состава наиболее лабильные клетки. Участки камбиальных клеток, прилежащие к тяжам разрушенных дифференцированных клеток, содержали множество фрагментированных

inflammation on damages, in the tumour preparations there were observed an oedema of vascular walls and diapedesis infiltration by blood cells of the narcotised sites formed. Around small thin-walled vessels, filled up with red cells with an increased amount of white blood cells, there were located basophilically stained small and big “giant cells of alien bodies”. At further TFD magnification of fractional x-ray irradiation up to 40Gy (among the areas of cell detritis) in the preparations there were found the foci of basophilically stained large cells, adjoining to thin-wall, small, atypically enlarged capillaries. Among a cellular content there were revealed “x-ray giants”, chromosomes’ conglomeration, irregular location of chromosome plates, and in distant sites – enlarged, polymorphous, lightly basophylic cells.

Combining the x-ray therapy with tumour cryodestruction (the third and fourth groups) increased the amount of the destroyed tumour cells. However, x-ray pathomorphism of Guerin’s adenocarcinoma in animals’ groups with cryoeffect 24 hrs prior to starting irradiation was characterised by some peculiarities and manifestation degree comparing to x-ray pathomorphism of a tumour with cryodestruction 48 hrs prior irradiation.

At fractional irradiation with the dose of 5Gy, performed in 24 hrs after cryoeffect in the tumour tissue preparations there was found a cleavage of light basophilic cells on cells with basophilic and oxyphilic cytoplasm. It is known that differentiated cells of Guerin’s adenocarcinoma have a wide basophilic small-clod cytoplasm. Cells with active synthetic processes, producing protein secrets, are characterised by a cytoplasm’s basophilicity, stipulated with a high content of RNAs in ergastoplasm. In a day after cryodestruction and 5Gy TFD of irradiation a half of tumour cells had brown-oxyphilic cytoplasm, that testified to ergastoplasm damage and a failure of cell metabolic state. Cryo-x-ray effect caused the death of differentiated tumour cells, isolating the most labile cells out of the general population of heterogenous cell content. Areas of cambial cells adjacent to the cords of destroyed differentiated cells, comprised many fragmented hyperchrome nuclei, red cells’ foci, penetrating fibrin cords.

In tumour preparations after the cryodestruction performed 48 hrs prior to starting the irradiation and 5Gy TFD, in contrast to tumour preparations of the third group of animals there were observed an extensive discompleting, wrinkling, hyperchrome staining of differentiated cells and destruction of cambial ones among large-fibrous, oedemal and widened stromal structures, chaotically and radially oriented to a tumour’s centre. The presence of extensive areas of fibrous structure of interstitial stromal tissue was found as well.

In tumours after cryodestruction 48 hrs prior to starting the irradiation and 10 Gy TFD vacuolised

гиперхромных ядер, очаги эритроцитов, проникающие тяжи фибрина.

В препаратах опухолей, после криодеструкции за 48 ч до начала облучения и СОД 5 Гр, в отличие от препаратов опухолей третьей группы животных, наблюдались обширная дисконфлексация, сморщивание, гиперхромное окрашивание дифференцированных и деструкция камбиальных клеток среди крупноволокнистых, отечных и расширенных стромальных структур, ориентированных хаотически и радиально к центру опухоли. Также обнаруживалось наличие обширных полей волокнистой структуры межуточной стромальной ткани.

В опухолях после криодеструкции за 48 ч до начала облучения и СОД 10 Гр вакуолизированные и гиперхромно измененные ОК были размещены в густых сетчатых волокнистых структурах. Сосудистая сеть не дифференцировалась. Вокруг некротических участков опухоли среди дифференцированных ОК определялось до 10–15 митозов в поле зрения. При этом в опухолях третьей группы животных после криодеструкции и лучевого воздействия СОД 10 Гр количество дифференцированных и камбиальных клеток, размещавшихся в волокнистых структурах стромы, было значительно меньше. Эндотелиальные клетки капилляров были гиперхромны, вытянуты и расположены на значительном расстоянии друг от друга.

В третьей и четвертой группах, в отличие от второй, криовоздействие в сочетании с рентгеновским облучением СОД 10–15 Гр способствовало появлению в опухолях очагов некроза. Сосудистая сеть была расширена и содержала продольно ориентированные волокна и межуточные стромальные структуры с лимфоидными и гистиоцитарными клетками.

С увеличением СОД облучения до 20–25 Гр в препаратах опухолей третьей и четвертой групп животных, в отличие от второй, наблюдалось замещение опухолевой ткани фиброзной, разрушение клеток паренхимы, расширение стромальной основы и склероз сосудов.

После облучения СОД 30–35 Гр в препаратах опухолей третьей и четвертой групп животных, в отличие от второй, вокруг участков некроза опухолевой ткани обнаруживался демаркационный вал. При этом в опухолях животных третьей и четвертой групп практически отсутствовали элементы васкуляризации, что является ценным фактором в предотвращении рассеивания ОК из очага криолучевого воздействия и возможной генерализации опухолевого процесса.

Максимальная доза облучения (40 Гр) в опухолях третьей и четвертой групп животных проявлялась полями детрита среди фиброзных структур, ограниченных плотными демаркационными полосами. При этом в участках опухоли (с

and hyperchromically changed tumour cells were located in dense grid-like fibrous structures. Vascular net was not differentiated. Around necrotic sites of a tumour among differentiated TC there were detected up to 10-15 mitoses in a vision field. In this case in tumours of the 3rd animal group after cryodestruction and x-ray effect of 10 Gy TFD the amount of differentiated and cambial cells, located in fibrous stromal structures was significantly less. Endothelial capillary cells were hyperchromous, extended and located in a considerable distance from each other.

In the 3rd and 4th groups in contrast to the 2nd one, cryoeffect combined with 10-15 Gy TFD x-ray irradiation promoted to the appearance of necrosis foci in tumours. Vascular net was extended and contained longitudinally oriented fibres and interstitial stromal structures with lymphoid and histiocytic cells. With the increasing of irradiation TFD up to 20-25 Gy in tumour preparations of the 3rd and 4th groups of animals, in contrast to the 2nd one, there were observed a tumour tissue substitution with a fibrous one, destruction of parenchyma cells, extending of a stromal base and vessels' sclerosis.

After 30-35 Gy TFD irradiation in tumour preparations of the 3rd and 4th animals' groups, in contrast to the 2nd one, around the areas of tumour tissue necrosis there was found a demarcation bank. In this case in the tumours of the 3rd and 4th groups of animals the elements of vascularisation were practically absent, that is an important factor when preventing the TCs' dissemination from the focus of cryo-ray effect and possible generalisation of a tumour process.

The maximum irradiation dose (40Gy) in tumours of the 3rd and 4th animals' groups was manifested by the dendrites areas among fibrous structures, limited by dense demarcation bands. Thereat in tumour sites (with the cryoeffect 48 hrs prior to starting the irradiation), adjacent to a demarcation bank, in contrast to the group with Heren's adenocarcinoma cryodestruction in 24 hrs before starting irradiation, there was found an increased mitotic activity of tumour cells. Obviously, this fact explains the difference in the levels of an inhibiting cryo-ray effect on tumours of the 3rd and 4th animals' groups.

Thus basing on the investigation, performed, it could be concluded that:

1. During the process of cryo-ray effect specific morphological changes, the character of those and manifestation degree depend on the terms of tumour cryodestruction and TFD irradiation, take place in Guerin's adenocarcinoma.

2. In 48 hrs after the cryoeffect in undestroyed sites of Guerin's adenocarcinoma there was appeared a huge amount of mitotically cleaving tumour cells, in contrast to the group with tumour cryodestruction in 24 hrs.

криовоздействием за 48 ч до начала облучения), прилежащих к демаркационному валу, в отличие от группы с криодеструкцией аденокарциномы Герена за 24 ч, обнаруживалась повышенная митотическая активность ОК. По всей видимости, этим и объясняется различие в уровнях ингибирующего криолучевого эффекта на опухоли животных третьей и четвертой групп.

Таким образом, на основании проведенного исследования можно сделать следующие выводы:

1. В процессе криолучевого воздействия в аденокарциноме Герена происходят специфические морфологические изменения, характер которых и степень выраженности зависят от сроков криодеструкции опухоли и СОД облучения.

2. Через 48 ч после криовоздействия в неразрушенных участках аденокарциномы Герена, в отличие от группы с криодеструкцией опухоли за 24 ч, появляется большое количество митотически делящихся ОК.

3. После окончания рентгенотерапии (СОД 40 Гр) в участках опухоли животных с криовоздействием за 48 ч, в отличие от группы с криодеструкцией аденокарциномы Герена за 24 ч, обнаруживается повышенная митотическая активность ОК.

4. В опухолевой ткани, подвергшейся криолучевому воздействию, практически отсутствует васкуляризация, что является ценным фактором в предотвращении диссеминации ОК.

5. Проникновение из травмированных сосудов опухоли лимфоидных и гистиоцитарных клеток в организм опухоленосителя на ранних фазах криолучевого воздействия может оказывать положительное влияние на его иммунный статус (неспецифическая иммунотерапия).

Литература

1. Міхановський О.А. Променева лікування раку тіла матки з передпроменевою кріодеструкцією пухлини // Укр. радіолог. журн.— 2001.— Т. 9, Вип. 2.— С. 232-235.
2. Міхановський О.А., Сухіна О.М. та ін. Перший досвід використання передпроменевої кріодеструкції пухлини у поєднано-променевому лікуванні раку тіла матки // Укр. радіолог. журн.— 1999.— Т. 7, Вип.1.— С. 54-55.

Поступила 23.06.2002

3. After finishing x-ray therapy (TFD of 40Gy) in tumour sites of animals with the cryoeffect in 48 hrs, in contrast to the group with Guerin's adenocarcinoma cryodestruction in 24 hrs, there was found an increased mitotic activity of TCs.

4. In a tumour tissue, subjected to a cryo-ray effect, vascularisation is practically absent, that is an important factor when preventing TCs' dissemination.

5. Penetration out of injured tumour vessels of lymphoid and histiocytic cells in a patient's organism, at early phases of cryo-x-ray effect may positively affect its immune status (non-specific immunotherapy).

References

1. Mikhanovsky O.A. X-ray therapy of the uterus body cancer with pre-x-ray tumour's cryodestruction // Ukr. Radiolog. Zhurnal.— 2001.— V.9, Issue 2,— P. 232-235.
2. Mikhanovsky O.A., Sukhina O.M. et. al. The first experience of the use of pre-x-ray tumour cryodestruction in a combined x-ray therapy of the uterus body cancer // Ukr. Radiolog. Zhurnal.— 1999.— V.7, Issue 1.— P. 54-55.

Accepted in 23.06.2002