

## Морфофункціональний стан клітин карциноми Герена після фракційного рентгенівського опромінення та спільної дії крио- та радіаційного факторів

О.П. Лукашова,  
О.А. Міхановський

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

Morphofunctional state of Guerin's carcinoma after fractionated x-ray irradiation and simultaneous action of cryo- and radiation factors

**Цель работы:** Изучение патоморфоза клеток карциномы Герена при действии ионизирующей радиации и использовании облучения с предшествующей криодеструкцией опухоли для выявления наиболее эффективного варианта криолучевой терапии.

**Материалы и методы:** Эксперименты проведены на белых крысах линии Вистар с привитой карциномой Герена. Локальное фракционное облучение опухоли в дозах 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 и 40 Гр проводили на аппарате РУМ-17 в стандартных условиях. Криодеструкцию выполняли с помощью криогенного аппарата АКГ-01 при температуре  $-70^{\circ}\text{C}$  в течение 10 минут. Материал для изучения ультраструктуры опухоли обрабатывали по стандартным электронномикроскопическим методикам. Количество митозов и клеток с гранулами подсчитывали с помощью светового микроскопа. Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ Statistica v. 6.0 для IBM.

**Результаты:** Установлены закономерности действия радиации на структурно-функциональное состояние клеток карциномы Герена, их митотическую активность, а также влияние частичной криодеструкции опухоли, предшествующей облучению.

**Выводы:** Карцинома Герена является достаточно радиорезистентной опухолью. Облучение опухоли приводит к значительной дифференциации клеток Герена, с преобладанием высокоспецифичных форм при больших суммарных дозах. Митотическая активность в опухоли стимулируется при действии меньших доз радиации и угнетается — при больших. Появление недифференцированных форм с сопутствующим ростом митотической активности при дозе 40 Гр может свидетельствовать о возникновении клона радиорезистентных клеток. Частичная криодеструкция, проведенная за 24 часа до облучения, не меняет тенденции опухолевых клеток к дифференциации под влиянием радиационного воздействия, однако значительно снижает пролиферацию опухоли. Криодеструкция за 48 часов до облучения также не препятствует радиационно обусловленной дифференциации клеток карциномы Герена, однако вызывает усиление процессов деления опухоли и появление недифференцированных радиорезистентных клеток, что является неблагоприятными признаками. Для нужд криолучевой терапии рака целесообразным является соблюдение 24-часового интервала между крио- и радиационным воздействием.

**Ключевые слова:** опухоль Герена, облучение, криодеструкция, ультраструктура.

**Objective:** To study the pathomorphism of Guerin's carcinoma cell at exposure to ionizing radiation and to use irradiation with preliminary cryodestruction of the tumor to reveal the most effective variants of cryoradiation therapy.

**Material and Methods:** The investigation involved white Wistar rats with inoculated Guerin's carcinoma. Local fractionated irradiation of the tumor at a dose of 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 and 40 Gy was performed using RUM-17 unit under standard conditions. Cryodestruction was performed using cryogenic unit AKG-01 at  $-70^{\circ}\text{C}$  for 10 min. The material for investigation of the tumor was prepared using standard techniques for electron microscopy. The number of mitoses and cells with granules was calculated using a light microscope. Statistical assessment was done using Statistica v. 6.0 for IBM.

**Results:** Regularities of radiation effect on structural functional state of Guerin's carcinoma, their mitotic activity as well as the influence of partial tumor cryodestruction before the exposure were established.

**Conclusion:** Guerin's carcinoma is a rather radioresistant tumor. The tumor irradiation results in considerable differentiation of Guerin's cells with prevalence of highly specific forms at high summary doses. Mitotic activity of the tumor is stimulated by lower dose of radiation and inhibited by higher ones. The appearance of undifferentiated forms with accompanying growth of mitotic activity at a dose of 40 Gy can suggest appearance of a clone of radioresistant cells. Partial cryodestruction 24 hours before the irradiation does not change the tendencies of the tumor cells to differentiation under the influence of radiation exposure but considerably reduces the tumor proliferation. Cryodestruction 48 hours before the irradiation does not prevent radiation-induced differentiation of the cells in Guerin's carcinoma but increases the processes of division in the tumor and appearance of undifferentiated radioresistant cells, which are unfavorable signs. For cryodestruction of cancer it is reasonable to observe 24-hour interval between cryo- and radiation therapy.

**Key words:** Guerin's carcinoma, irradiation, cryodestruction, ultrastructure.

Протягом останнього десятиріччя в Україні значно зросла частість раку тіла матки (РТМ), яка за даними 2002 року складає 23,8 випадку на 100 000 жіночого населення. Серед захво-

рювань геніталій у жінок РТМ трапляється найчастіше [1, 2], що й зумовлює актуальність розробки нових методів терапії цієї патології.

Основними методами лікування хворих на РТМ досі залишаються хірургічний і комбінований, яким піддається близько 80 % пацієнтів. Променева терапія (ПТ) у самостійному варіанті також не втратила свого значення. Це зумовлене тим, що РТМ часто поєднується з тяжкою соматичною патологією, через що оперативні втручання стають украй ризикованими і здатними спричинити тяжкі ускладнення, особливо у хворих похилого віку. У таких випадках ПТ уявляється єдиною можливим методом лікування, хоч ефективність його недостатня. Так, за даними різних авторів, п'ятирічна виживаність хворих на РТМ становить 52,5–79,0 % [3–6].

Найчастіше розвиток рецидивів і метастазів у хворих на РТМ, лікованих променевим методом, зумовлений відносною радіорезистентністю аденокарциноми ендометрія. Це спонукає до розробки нових засобів удосконалення методів ПТ. Одним із реальних шляхів підвищення ефективності лікування хворих на РТМ є застосування кріодеструкції пухлини як додаткового ушкоджуючого агента. На сьогодні вже отримано численні обнадійливі клінічні результати використання кріодії при інших локалізаціях раку [7–9].

Незважаючи на досягнуті успіхи в галузі застосування низьких температур в онкології, до кінця не вивченим залишається кріопроменевий патоморфоз злоякісних пухлин і, зокрема, РТМ — залежно від термінів кріодії та доз іонізуючого випромінювання. Це зумовлює доцільність вивчення дії кріо- та радіаційного факторів у експериментах на лабораторних тваринах.

Отже метою даної роботи стало вивчення патоморфозу клітин карциноми Герена при дії йонізуючої радіації і опромінювання з попередньою кріодеструкцією пухлини для виявлення найефективнішого варіанту кріопроменевої терапії.

## Методика дослідження

Експерименти було проведено на 75 щурах лінії Вістар з масою тіла 160–180 г з підшкірно прищепленою карциномою Герена. Через 12–14 днів після прищеплення тварин розподіляли на 4 групи:

1 — контрольна група, інтактна пухлина Герена;  
2 — локальне фракційне рентгенівське опромінення пухлини;

3 — кріодеструкція пухлини за 24 години до локального фракційного рентгенівського опромінення;

4 — кріодеструкція пухлини за 48 годин до локального фракційного рентгенівського опромінення.

Локальне опромінювання пухлини проводили на апараті РУМ-17 у таких умовах: U — 150 кВ, I — 15 мА, фільтри — 0,5 мм Cu, 1,0 мм Al, фокусна відстань — 25 см. Тіло щурів екранували свинцевими пластинами завтовшки 3,0 мм. Разова доза опромінення складала 5 Гр, інтервал між фракціями — 24 години. Кріодеструкцію проводили рідким азотом при температурі -70 °C за допомогою кріогенного апарата АКГ-01 протягом 10 хв, розміщуючи наконечник кріозонду в центрі пухлини.

Декапітацію тварин виконували із дотриманням правил евтаназії. Через 24 години після досягнення сумарних доз опромінення 5, 10, 15, 20, 25, 30 та 40 Гр зразки пухлинної тканини для дослідження ультраструктури обробляли за стандартними електронномікроскопічними методиками [10]. Матеріал спочатку витримували у глютаральдегідному фіксаторі за Карновським, потім фіксували у забуферному 1 % -вому розчині тетраксиду осмію за Паладе. Після дегідратації у розчинах етанолу зростаючої концентрації та абсолютному ацетоні, зразки заливали у суміш епоксидних смол (епон-аралдит) та полімеризували 36 годин при 56–60 °C. Із одержаних блоків на ультрамікротомі УМТП-4 Сумського ВО «Електрон» (Україна) виготовляли напівтонкі зрізи, забарвлювали їх метиленовим синім та переглядали під світловим мікроскопом. У ділянках пухлинної тканини без ознак некрозу підраховували кількість мітозів і клітин з вакуолями у полі зору мікроскопа (окуляр × 10, об'єктив × 20, біокуляр × 2,5). Матеріал статистично обробляли за допомогою пакета програм Statistica v. 6.0 для IBM.

Ультратонкі зрізи одержували на тому ж мікротомі, контрастували в насиченому розчині уранілацетату і цитраті свинцю за Рейнольдсом та аналізували в електронному мікроскопі EM-125 (Сумське ВО «Електрон», Україна).

## Результати та їх обговорення

Паренхіма інтактною пухлини Герена складається переважно з недиференційованих клітин, яким притаманне округле або овальне велике світле ядро з 1–2 ядерцями та вузькою обляміркою гетерохроматину, розташованого вздовж ядерної мембрани. Цитоплазма багата вільними рибосомами та полісомами, містить поодинокі мітохондрії й окремі короткі профілі гранулярної ендоплазматичної сітки (гЕПС) (рис. 1). Подібна будова характерна для клітин, які синтезують білкові речовини переважно для власних потреб, зокрема для процесів росту та поділу. У цитоплазмі деяких пухлинних клітин розташовуються невеликі розширені цистерни гЕПС, що вміщують білкову речовину, та збільшена кількість мітохондрій. Ультраструктура таких клітин свідчить про процеси диференціації та продукції білка на експорт. У пухлині

Герена виявляються також осередки некрозу й окремі клітини у стані апоптозу, які мають ядро із просвітленою нуклеоплазмою, з перетвореним на безструктурну масу хроматином, зосередженим в одному чи кількох місцях біля ядерної мембрани, тоді як у цитоплазмі не виявляється помітних змін (рис. 2), а також клітини, що мітотично діляться (рис. 3).

Вивчення ультраструктури аденокарциноми Герена після локальної радіаційної дії у дозах 5 і 10 Гр показало, що в ділянках пухлини, вільних від некрозу, тонка будова її клітин практично не відрізняється від тієї, що спостерігається в інтактній пухлині. Особливістю є лише значне зростання мітотичної активності (табл. 1).

При збільшенні сумарної дози до 15–20 Гр у тканині пухлини виявляються переважно мало-диференційовані клітини із більш розвинутою гЕПС та мітохондріальним апаратом, ніж при менших дозах. Відзначається значне спотворення форми ядер, які часто набувають примхливого вигляду та містять великі грудки гетерохроматину, цитоплазматичні псевдовключення. У цитоплазмі окремих пухлинних клітин виявляються великі аутофагосоми й ліпідні краплини (рис. 4). Трапляються клітини з ознаками апоптозу, що може вказувати на процеси радіаційної деструкції навіть у ділянках, які не зазнають руйнування. Характерним для дії радіації є з'явлення у пухлинній тканині значної кількості клітин з цитоплазматичними вакуо-

Таблиця 1

Кількість мітозів у карциномі Герена після опромінювання та кріодеструкції пухлини  
The number of metastases in Guerin's carcinoma after irradiation and cryodestruction of the tumor

Доза опромінення, Гр	Опромінення		Кріодеструкція до опромінення			
			за 24 год.		за 48 год.	
	n	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	n	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	n	$\bar{x} \pm S\bar{x}$
Інтактна пухлина	5	$3,2 \pm 0,6$				
5	6	$5,5 \pm 0,6^*$	5	$0 \pm 0^{* **}$	6	$2,8 \pm 0,6^{* **}$
10	5	$3,4 \pm 0,2$	9	$2,4 \pm 0,7$	5	$1,8 \pm 0,5^*$
15	5	$7,4 \pm 1,2^*$	5	$1,6 \pm 0,5^{**}$	6	$5,3 \pm 0,9^{**}$
20	3	$2,7 \pm 0,3$	6	$1,2 \pm 0,5^{* **}$	5	$2,4 \pm 0,7$
25	5	$0,8 \pm 0,4^*$	5	$1,4 \pm 0,5$	—	—
30	4	$0,25 \pm 0,2^*$	4	$1,0 \pm 0,4^*$	6	$4,0 \pm 0,7^{* **}$
35	4	$1,0 \pm 0,4^*$	8	$0,8 \pm 0,4^*$	6	$2,5 \pm 0,4^{* **}$
40	4	$2,5 \pm 0,3$	4	$1,0 \pm 0,7$	4	$4,5 \pm 0,6^{**}$

\* Вірогідно порівняно з інтактною пухлиною, \*\* — з опроміненням у відповідній дозі.

Таблиця 2

Кількість клітин з вакуолями у карциномі Герена після опромінювання та кріодеструкції пухлини  
The number of cells with vacuoles in Guerin's carcinoma after irradiation and tumor cryodestruction

Доза опромінення, Гр	Опромінення		Кріодеструкція до опромінення			
			за 24 год.		за 48 год.	
	n	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	n	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	n	$\bar{x} \pm S\bar{x}$
Інтактна пухлина	5	$0,2 \pm 0,2$				
5	4	$0,25 \pm 0,2$	5	$0 \pm 0$	5	$0,2 \pm 0,2$
10	7	$1,75 \pm 0,9$	9	$0,2 \pm 0,2$	5	$0 \pm 0$
15	5	$0,4 \pm 0,2$	5	$1,0 \pm 0,3$	6	$0 \pm 0$
20	4	$0,75 \pm 0,2$	6	$1,0 \pm 0,6$	5	$2,2 \pm 1,2$
25	7	$4,6 \pm 1,0^*$	5	$4,4 \pm 1,4^*$	—	—
30	4	$4,0 \pm 0,3$	4	$0,5 \pm 0,3$	6	$1,2 \pm 0,2^*$
35	4	$3,0 \pm 0,4^*$	8	$4,2 \pm 0,7^*$	6	$1,7 \pm 0,5^*$
40	5	$1,6 \pm 0,8$	4	$1,2 \pm 0,8$	4	$3,5 \pm 1,4$

\* Вірогідно порівняно з інтактною пухлиною.

лями різного розміру (рис. 5, табл. 2). Вони частіш електроннопрозорі, іноді містять дрібно-гранулярну речовину або мембранні структури. Ультраструктура вакуолей нагадує будову секреторних гранул, які виявляються у деяких пухлинах людини.

Із зростанням дози до 25–30 Гр у пухлинній тканині виявляються переважно диференційовані клітини, які мають ядра з дуже великим ядерцем, а основний об'єм цитоплазми займає гЕПС, у розширених порожнинах якої міститься білкова субстанція (рис. 6). З'являється також комплекс Гольджі, відсутній у недиференційованих клітинах (рис. 7). Досить підвищеною залишається чисельність клітин з вакуолями. Все це свідчить про посилення білково-синтетичних та секреторних процесів. Слід зазначити, що в указаному діапазоні доз кількість мітозів у пухлинній тканині знижується, що може бути пов'язано зі зменшенням кількості недиференційованих клітин, функцією яких є поділ. У окремих клітинах виявляються великі лізосоми та фагосоми.

Подальше збільшення дози опромінення до 35 Гр приводить до змінювання клітинного складу пухлини, при якому практично повністю зникають недиференційовані та малодиференційовані форми. Усі клітини мають ядра із звивистим або покращним контуром, які містять 2–3 дуже великих ядерця; гЕПС значно розширена, комплекс Гольджі гіпертрофований. Багато клітин із вакуолями найрізноманітніших розмірів, з'являються багатоядерні клітини (рис. 8). Мітотична активність не перевищує такої в інтактних пухлинах. Серед пухлинних клітин виявляються нейтрофільні лейкоцити, що свідчить про процеси запалення у пухлинній тканині внаслідок променевої загибелі клітин.

При сумарній дозі 40 Гр у клітинній популяції пухлини Герена починають з'являтися недиференційовані клітини, що супроводжується зростанням кількості мітозів. Відзначаються також явища внутріклітинної деструкції: наявність лізосом, аутофагосом, апоптозних ядер.

Таким чином, проведені дослідження показали, що навіть після опромінення у сумарній дозі 40 Гр у тканині аденокарциноми Герена виявляються ділянки життєздатних пухлинних клітин. При цьому опромінення призводить до

загибелі переважно недиференційованих форм, тоді як клітини із посиленою білково-синтетичною активністю більш радіорезистентні і не тільки зберігаються після дії радіації, але й посилюють свою діяльність. Очевидно, їх здатність до поділу менша, ніж у недиференційованих клітин, про що може свідчити зниження кількості мітозів у пухлинній тканині, де переважають функціонально активні клітини. Ріст мітотичної активності та з'явлення недиференційованих клітин при дозі 40 Гр вказують на підвищення радіостійкості клітинної популяції та здатності ракових клітин до дедиференціації.

Вивчення ділянки пухлини Герена поза зоною кріодеструкції після кріодії за 24 години до опромінення у дозах 5–20 Гр показало, що у тканині новоутвору практично відсутні недиференційовані клітини. Більшість пухлинних клітин малодиференційовані, мають світле ядро з великим чітким ядерцем та більш розвинену, ніж у інтактному контролі, гЕПС, яка являє собою невеликі округлі профілі, заповнені темним білковим вмістом. По досягненні дози 25 Гр та вище з'являються високодиференційовані форми із значно розширеними порожнинами гЕПС або концентрично розташованими його профілями. Лише при накопиченні сумарної дози 40 Гр у пухлинній тканині спостерігаються окремі недиференційовані клітини. При всіх досліджених дозах у цій серії збільшена кількість клітин з вакуолями. При цьому різке зростання спостерігається вже при дозі 5 Гр, що може бути наслідком попередньої кріодії.

Найхарактернішим для цієї серії досліджень, на відміну від дії лише опромінення, є зниження мітотичної активності у ділянках пухлини, що збереглися після кріодеструкції. Кількість мітозів збільшена лише при дозі 10 Гр, тоді як далі спостерігається значне падіння цього показника до значень у інтактній пухлині та нижче. До того ж багато з них мають патологічний характер (рис. 9).

Клітини з аутофагосомами та апоптичними ядрами зустрічаються при відносно низьких дозах (5–15 Гр), а по досягненні сумарної дози 15 Гр і вище виявляється значна кількість двота багатоядерних клітин. Серед пухлинних клітин постійно виявляються нейтрофільні

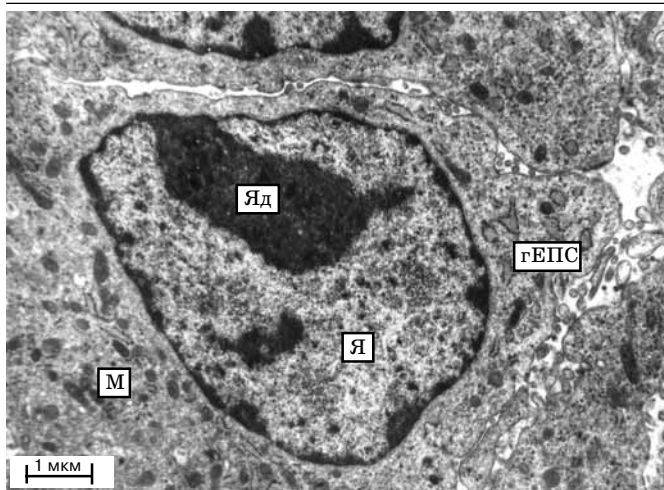


Рис. 1. Недиференційована клітина інтактної карциноми Герена. Я — ядро, Яд — ядерце, М — мітохондрія, та гЕПС — гранулярна ендоплазматична сітка

Fig. 1. Undifferentiated cells of intact Guerin's carcinoma. Я — nucleus, Яд — nucleus, М — mitochondria, гЕПС — granular endoplasmatic network

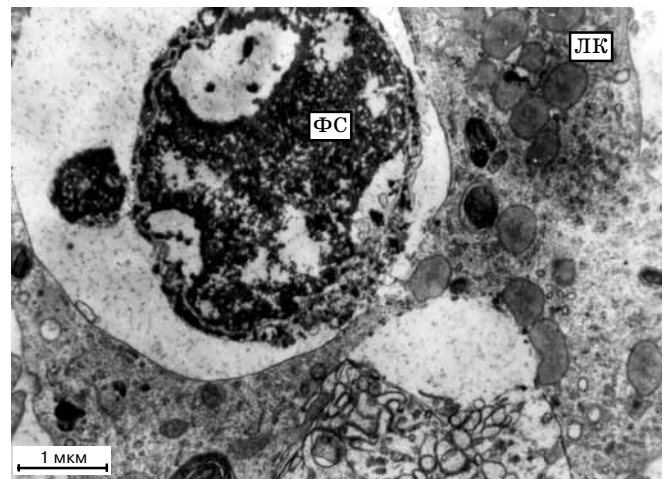


Рис. 4. Фагосоми та ліпідні краплини у цитоплазмі пухлинної клітини після опромінення в сумарній дозі 20 Гр. ФС — фагосома, ЛК — ліпідна краплина

Fig. 4. Phagosomes and lipid drops in the cytoplasm of the tumor cell after the exposure at a total dose of 20 Gy. ФС — phagosome, ЛК — lipid drops

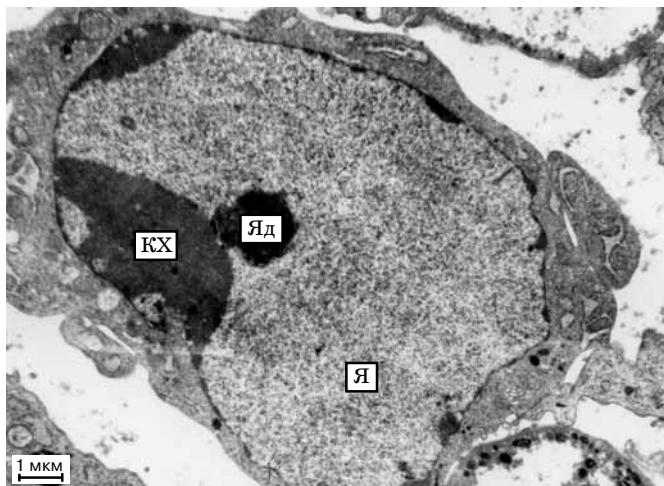


Рис. 2. Клітина інтактної карциноми Герена у стані апоптозу. КХ — конденсований хроматин

Fig. 2. Intact Guerin's carcinoma in the state of apoptosis. КХ — condensed chromatin

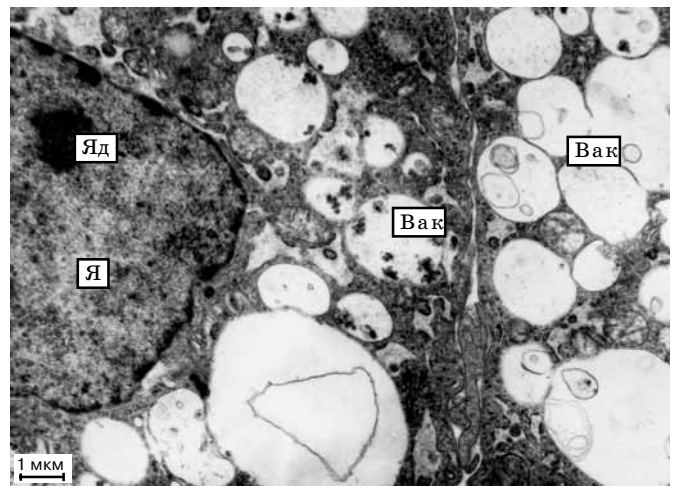


Рис. 5. Пухлинна клітина з цитоплазматичними вакуолями різних розмірів після опромінення в сумарній дозі 20 Гр. Вак — вакуоль

Fig. 5. The tumor cell with cytoplasmatic vacuoles of different size after the exposure at a total dose of 20 Gy. Вак - vacuole

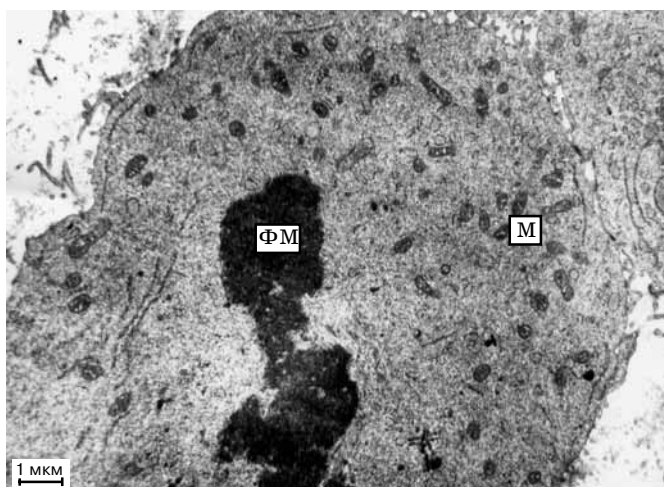


Рис. 3. Мітоз у клітині інтактної карциноми Герена. ФМ — фігура мітозу

Fig. 3. Mitosis in the cell of intact Guerin's carcinoma. ФМ — mitosis figure

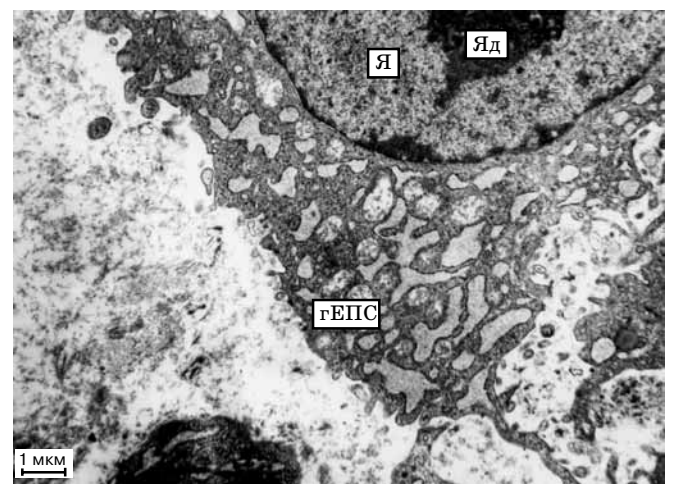


Рис. 6. Диференційована пухлинна клітина з розширеними порожинами гЕПС після опромінення в сумарній дозі 25 Гр

Fig. 6. Differentiated tumor cell with dilated cavities of granular endoplasmatic network after the exposure to a total dose of 25 Gy



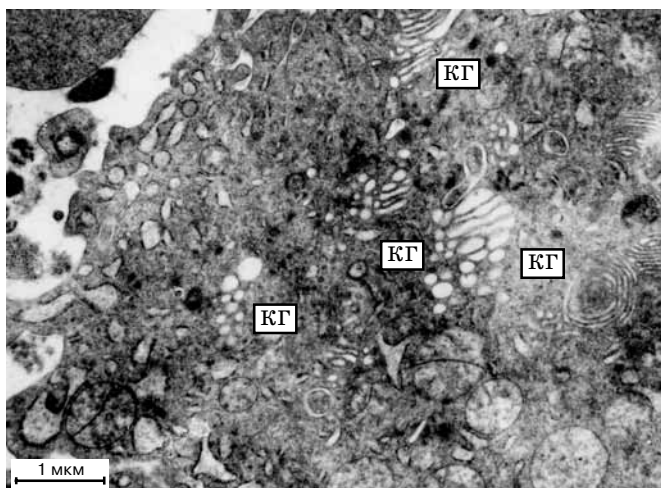


Рис. 7. Декілька комплексів Гольджі у пухлинній клітині після опромінення в сумарній дозі 20 Гр. КГ — комплекс Гольджі

Fig. 7. Several Golgi complexes in the tumor cell after the exposure to a total dose of 20 Gy. КГ – Golgi complex

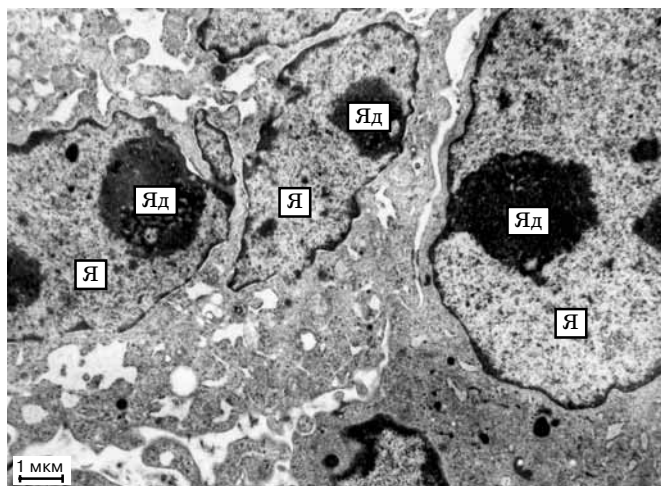


Рис. 8. Багоядерна пухлинна клітина після опромінення в сумарній дозі 35 Гр

Fig. 8. Polynuclear tumor cell after the exposure to a total dose of 35 Gy

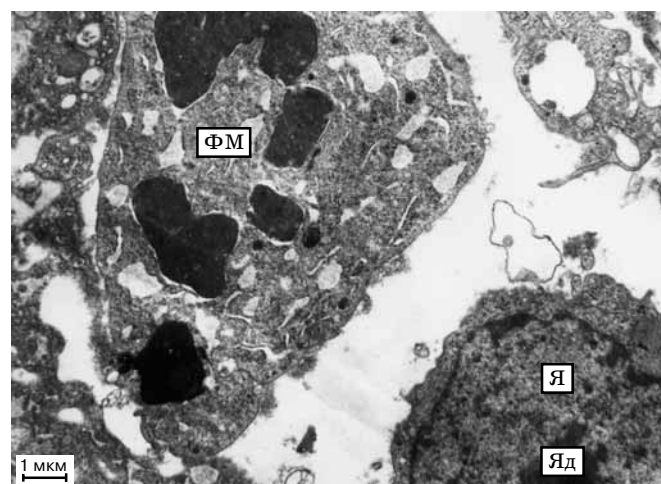


Рис. 9. Патологічний мітоз у пухлинній клітині після кріодеструкції за 24 години до опромінення в сумарній дозі 30 Гр

Fig. 9. Pathological mitosis in the tumor cell after cryodestruction 24 hours before the exposure to a total dose of 30 Gy

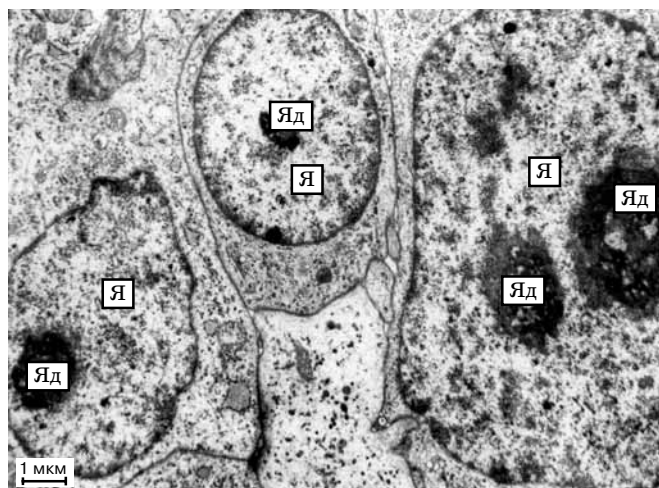


Рис. 10. Група недиференційованих пухлинних клітин після кріодеструкції за 48 годин до опромінення в сумарній дозі 20 Гр

Fig. 10. A group of undifferentiated cells after cryodestruction 48 hours before the exposure to a total dose of 20 Gy

лейкоцити та макрофаги, що може бути пов'язаним із наявністю великого осередку кріонекрозу.

Описана картина свідчить про те, що в умовах дії кріогенного та радіаційного факторів зберігається загальна тенденція посилення диференціації пухлинних клітин і збільшення кількості вакуолізованих форм, що характерно для дії самого опромінювання, причому початок цього процесу зрушений у бік низьких доз. Однак найбільш важливим є той факт, що кріодеструкція, проведена за 24 години до початку опромінювання, призводить до значних порушень процесів поділу у пухлинних клітинах, про що свідчить низький рівень мітотичної активності, наявність патологічних мітозів, дво- та багоядерних клітин.

Після кріодеструкції пухлини за 48 годин до локального фракційного рентгенівського опромінення у дозах 5–20 Гр ультраструктура більшості клітин пухлини Герена, що збереглися, відповідає недиференційованим та малодиференційованим формам з усіма притаманними їм особливостями (рис. 10). Серед них спостерігається значна кількість лейкоцитів та макрофагів. Незважаючи на те, що при відносно низьких дозах (5–10 Гр) на світловому рівні клітини з вакуолями не виявляються, електронномікроскопічно можна знайти їх ранні стадії. Такі пухлинні клітини мають розвинену цитоплазму, в якій розташовуються вузькі та розширені

профілі гЕПС, кілька комплексів Гольджі та багато дрібних везикул, очевидно, попередників більш великих секреторних вакуолей. При дозах радіації 15–20 Гр кількість клітин з вакуолями зростає. Трапляються також окремі пухлинні клітини з розширеними порожнинами гЕПС та клітини у стані апоптозу. Для цього діапазону доз характерна значна мітотична активність, причому при дозі 5 Гр число мітозів втричі перевищує цей показник при самому опроміненні.

Із досягненням сумарної дози 30–35 Гр у популяції пухлинних клітин починають переважати диференційовані форми з розширеними порожнинами гЕПС та клітини з вакуолями. Зростає також кількість пухлинних клітин з ознаками апоптозу, у деяких — з'являються аутофагосоми, що свідчить про наявність деструктивних процесів у пухлинній тканині. Постійно присутні лейкоцити й макрофаги, очевидно, внаслідок близькості осередку кріонекрозу. Мітотична активність залишається на досить високому рівні: кількість мітозів у 2,5–4 рази перевищує показники в інтактній пухлині.

По накопиченні дози 40 Гр основними у пухлині стають недиференційовані клітини, що супроводжується зростанням мітотичної активності. Зустрічаються також диференційовані форми, дво- та багатоядерні і клітини у стані апоптозу. На цьому фоні особливо помітним є значне зростання кількості вакуолізованих клітин, розташованих групами.

Таким чином, при комбінації кріодеструкції та опромінювання, розпочатого через 48 годин після неї, електронномікроскопічна картина багато в чому подібна до тієї, що спостерігається при дії лише одного радіаційного чинника, для якого характерні процеси наростаючої диференціації пухлинних клітин із збільшенням кількості клітин з вакуолями, які змінюються по досягненні дози 40 Гр переважанням у популяції недиференційованих форм. Однак, якщо при дії одного опромінювання зростання мітотичної активності обмежується дозами 5–20 Гр, то при поєднаній дії обох факторів відзначається ріст кількості мітозів практично при всіх досліджених дозах, що є вкрай несприятливою ознакою. Причина подібного явища може полягати в особливостях змінювання

радіочутливості пухлинних клітин після кріодії. Так, через 24 години після кріодеструкції їх радіочутливість, очевидно, збільшується, тоді як через 48 годин пухлинні клітини, які збереглися, можуть вступити до стадії радіорезистентності, що проявляється у зростанні мітотичної активності при всіх дозах опромінення.

Проведені дослідження показали, що кріодеструкція аденокарциноми Герена перед опроміненням модифікує морфофункціональний стан клітин пухлини залежно від часу її нанесення. При цьому застосування кріогенного чинника за 24 години до радіаційного різко знижує здатність клітин у збережених ділянках до поділу, про що свідчить незначна кількість мітозів, раннє з'явлення дво- та багатоядерних клітин, майже повна відсутність недиференційованих форм. Подовження періоду між кріообробкою та опромінюванням до 48 годин призводить до значної стимуляції мітотичної активності пухлинних клітин майже в усі терміни дослідження, а також до менш виражених процесів диференціації, що може бути пов'язано із подіями, які відбуваються у пухлині після заморожування. Очевидно, ця процедура ініціює проліферацію у пухлинній тканині, і через 24 години більша частина клітин опиняється в радіочутливій фазі мітозу, внаслідок чого перша ж доза опромінення викликає їх загибель. Зберігаються лише диференційовані форми, стійкі до дії радіації, з невеликою потенцією до поділу. Протягом 48 годин пухлинні клітини вже встигають завершити мітоз, а новоутворенні можуть з різних причин бути більш радіорезистентними, що й відбивається згодом у процесі опромінення.

## Висновки

1. Карцинома Герена є радіорезистентною пухлиною.
2. Опромінення пухлини Герена призводить до значної диференціації її клітин з переважанням високоспецифічних форм при великих сумарних дозах.
3. Мітотична активність у пухлині Герена стимулюється при дії менших доз радіації (5–15 Гр) і пригнічується — при більших (25–35 Гр).

4. З'явлення недиференційованих форм із супровідним зростанням мітотичної активності при дозі 40 Гр може свідчити про виникнення клону радіорезистентних клітин.

5. Часткова кріодеструкція, проведена за 24 години до опромінювання, не змінює тенденції пухлинних клітин до диференціації під впливом радіаційної дії, але значно знижує проліферацію в пухлині.

6. Кріодеструкція за 48 годин до опромінювання також не перешкоджає радіаційно зумовленій диференціації клітин карциноми Герена, але викликає посилення процесів ділення і з'явлення недиференційованих радіорезистентних форм, що є несприятливими ознаками.

7. Для потреб кріопроменевої терапії раку доцільним є дотримання 24-годинного проміжку часу між кріо- та радіаційною дією.

### Література

1. Трапезников Н.Н., Аксель Е.М. *Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ (состояние онкологической помощи, заболеваемость и смертность)*. — М., 2001. — 291 с.
2. Федоренко З.П. та ін. *Бюлетень національного канцерреєстру України*. — К., 2003. — №4. — 34 с.
3. Іванкова В.С. *Променева і комбіноване лікування хворих на рак тіла матки: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук.* — 14.01.23. — К., 2000 — 35 с.
4. Мар'яна Л.А., Нечушкин М.И. *Отдаленные результаты лечения больных раком эндометрия // Матер. IX Всерос. конф. Онкол.* — СПб, 2002. — С. 237-239.
5. Гранов А.М., Винокуров В.Л. *Лучевая терапия в онкогинекологии и онкохирургии / Под ред. А.М. Гранова.* — СПб: Фолиант, 2002. — 349 с.
6. Столярова И.В. *Современные достижения лучевого и комбинированного лечения больных раком тела матки в ЦНИРРИ МЗ РФ // Матер. IX Всерос. конф. онкол.* — СПб, 2002. — С. 277-278.
7. Воробьева Л., Турчак А. *Лечение больных микроинвазивным раком вульвы криохирургическим методом // Тез. докл. II съезда онкологов стран СНГ.* — К., 2000. — № 998.
8. Водолажская П.П. *Реабилитация больных ранним раком шейки матки после криохирургического лечения // Там же.* — № 997.
9. Gage A.A. // *Semin. Surg. Oncol.* — 1998. — Vol. 14, № 2. — P. 99-109.
10. *Electron microscopy in biology. A practical approach / Ed. by J.R. Harris.* — New York: Oxford University Press, 1991. — 308 p.

Надходження до редакції 14.03.2007.

Прийнято 05.04.2007.

Адреса для листування:

Лукашова Ольга Петрівна,  
ДУ Інститут медичної радіології ім. С.П. Григор'єва АМНУ,  
вул. Пушкінська, 82, Харків, 61024, Україна