

**RADIATION INDUCED TISSUE ALTERATIONS IN RATS**

**Pencheva M<sup>1</sup>, Tashev R<sup>2</sup>, Ardasheva R<sup>3</sup>, Turiiski V<sup>3</sup>, Kristev A<sup>3</sup>.**

*Medical University of Plovdiv, <sup>1,2</sup> Medical Faculty, Department of Anatomy; <sup>3</sup> Faculty of Pharmacy, Department of Medical physics and Biophysics.*

**ABSTRACT**

The present research aims to describe some of the possible histological changes, observed on the gastric mucose after a given exposure to accelerated electrons, related to changes in the cellular integrity as well as the subsequent inflammation with mastocyte infiltration. Used methods: The experimental animal group was exposed to a singular beam of electrons with 9MeV of energy. A standard electronic symmetrical applicator was used 25x25 cm. The operational doses of 1Gy, 3Gy and 5Gy were applied individually and in fractions. The dose was adjusted according the required penetration depth of the beam 2 cm.

Operations were conducted using Siemens Primus S/N 3561 (linear accelerator). Results demonstrated an inflammatory response (by the SM cells, interstitial cells, enteroendocrine cells and immune cells). Early signs of inflammation were also confirmed by the presence of mastocytes.

Conclusion: Tissue response after being affected with accelerated electrons includes processes of oxidation and inflammation as well as necrosis. The reason for the infiltration of inflammatory cells is not well researched, which gives rise to the need of further investigation.

*Key words: electron beam irradiation, rat, mastocytes, gastro-intestinal*

**ВЪВЕДЕНИЕ**

Добре известно е че, радиационното увреждане на тъканите генерира неконтролиран възпалителен процес. Използването на лъчетерапия в коремната област може да доведе до увреда на структурите в нея. Тъй като тъканите на гастроинтестиналния тракт са особено податливи на радиационна увреда, от фундаментален и практически интерес е проучването на потенциалните неблагоприятни ефекти на йонизиращата терапия. Последните зависят от вида на йонизиращата радиация, погълнатата доза и нейната мощност, както и от времето изтекло от облъчването. Настоящото изследване представя описание на някои хистологични промени, които се наблюдават по стомашната лигавица след облъчване ѝ с ускорени електрони, свързани с увреда на клетките и последвалото възпаление с мастоцитна инфилтрация.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Мъжки плъхове (10 бр.) Wistar биваха облъчени целотелно с електронен сноп с енергия 9MeVc помощта на линеен ускорител Siemens Primus S/N 3561. За формиране на снопа бе използван стандартен симетричен апликатор 25x25 см. Извършени бяха еднократни и фракционирани облъчвания, предизвикващи погълнати дози 1Gy, 3Gy и 5Gy. Дозата е дефинирана в дълбочината на дозния максимум на използваната енергия, а именно 2см.

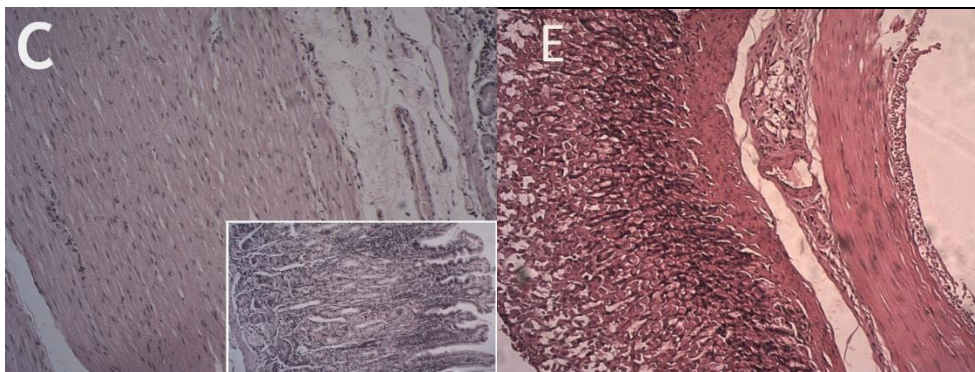
Фрагменти от плъши стомах и тънки черва (0,5-0,7 см.), биваха фиксирани в 10% формалинов разтвор за 24 часа. Последва дехидратация в алкохоли с възходяща концентрация и просветляване в кедрово масло. Така обработените препарати престояваха в течен парафин (в термостат при 56°C ) за 12 – 18 часа и се включваха в парафин. Изготвяха се парафинови срези (общо 50 бр.) с дебелина 3-4  $\mu\text{m}$ , които се оцветяваха с Н-Е, Toluidine blue. Бяха наблюдавани по 5 среза от всяко животно при увеличение x100, с използване на мерителна решетка (6x6).

Средното разпределение на мастоцитите на срез беше изчислявано като произведение от средния брой мастоцити на квадрат и броя квадрати с находка . Морфометричното изследване бе осъществено с помощта на софтуер “DP - Soft” 3.2, Olympus, Japan. Данните са представени като средна аритметична стойност  $\pm$  стандартна грешка на средната аритметична ( $X \pm \text{SEM}$ ).

Цел на изследването бе да се охарактеризират морфологичните изменения в стената на стомах и тънко черво и експресията на мастоцити като имуновъзпалителен отговор.

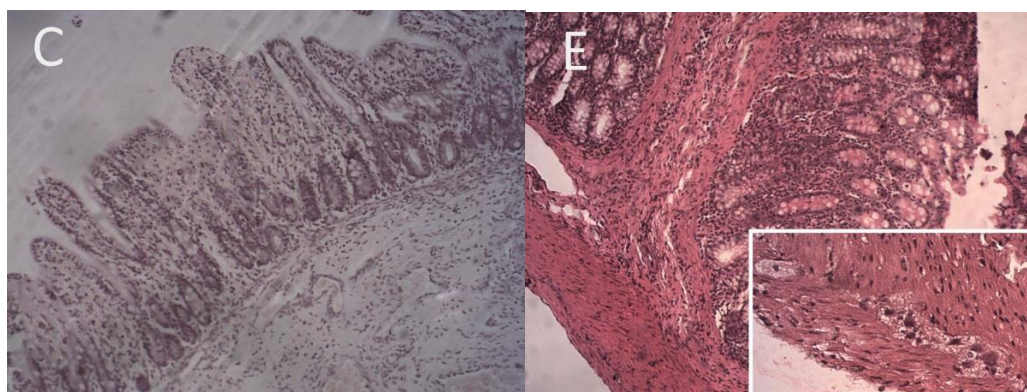
## РЕЗУЛТАТИ

При препаратите, изготвени от стомах 5 дни след облъчване (експериментални животни погълнали 5Gy), се наблюдава субмукозно и мускулно увреждане, свързано с дистрофия на мезентериални съдове, както и оток и възпаление. Наблюденията са илюстрирани на фигура 1.



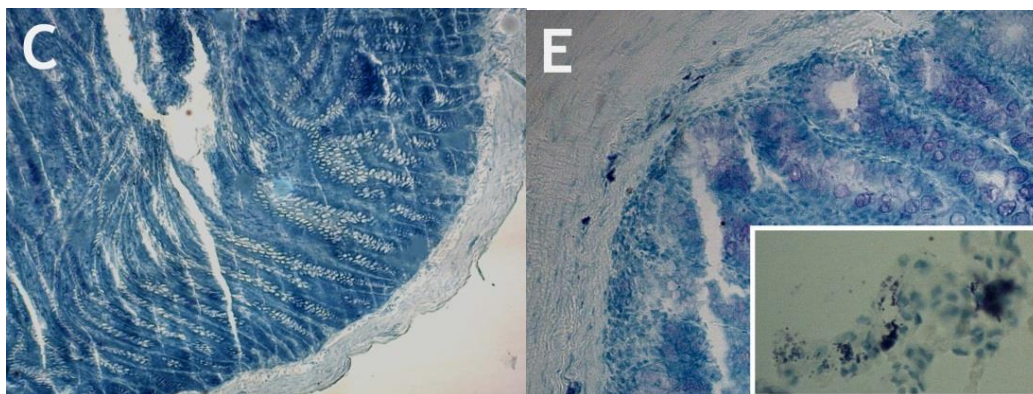
Фигура 1. С-контрола, стомах. Е-Експериментална група, стомах,  
Оцв, Н-Е, x10, x20.

При препаратите от тънко черво се установява начална дезорганизация и фиброза в и около нервния плексус в стената на тънкото черво (при групата експериментални животни погълнали 5Gy, 5 дни след облъчване). Наблюденията са илюстрирани на фигура 2.



Фигура 2. С- контрола, тънко черво. Е-експеримент.  
Оцв. Н-Е, x10, x 20.

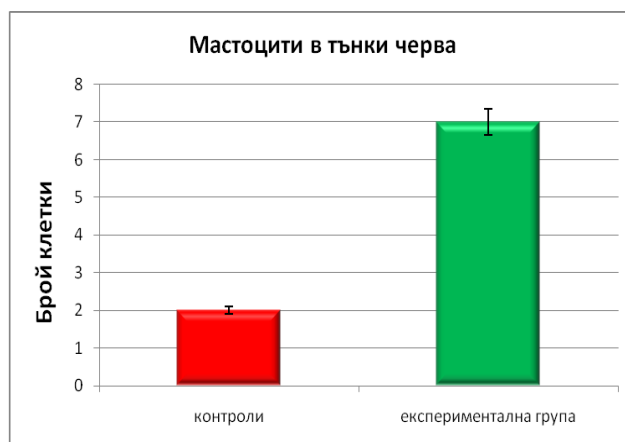
На срезите от тънко черво, оцветени с Toluidine blue беше определяно средното разпределение на мастоцитите на срез, като се отчитаха само мастоцитите в стената на тънко черво (фиг. 3).



Фигура 3. С- Контрола. Е-Експеримент, 5 дни след излагане на 5Gy, тъканта показва повишена експресия на мастоцити в стената на тънкото черво.

Оцветени с Toluidine blue, x10, x40.

На фигура 4 са сравнени количествено мастоцити, установени в тънките черва на контролни плъхове и такива, подложени на облъчване.



Фигура 4. Активирани мастоцити в облъчени тънки черва

5 дни след излагане на 5Gy доза.

## ОБСЪЖДАНЕ

Йонизиращата радиация предизвиква възпаление, което води до изменения в гладкомускулни, интерстициални, ентероендокринни и имунни клетки в стомах и тънко черво.

Пет дни след излагане на радиационно облъчване, в стената на стомаха се наблюдават изменения (оток и възпаление), по-ясно изразени на границата между субмукоза и мускулен слой, и свързани с дистрофия на мезентериалните съдове.

Увреждането на съдовете е един от най-честите ефекти на терапевтичното облъчване, засягащо здравите тъкани и съпроводено с пролиферация, миграция и фиброза на гладко мускулните клетки в стената на кръвоносните съдове. Ефектът е продукт на дисбаланс в комуникацията между ендотелните клетки и гладкомускулните клетки в стената.

Наблюдаваните изменения в стената на тънкото черво след облъчване не са драстични, защото еволюцията им е бавен процес, развиващ се дълго след завършване на радиационната терапия. Хронологията на измененията се маркира с начални безсимтомни процеси в съединително тъканната структура, разположена около двата нервни плексуса в стената на тънкото черво с характерна дезорганизация и извън клетъчни отлагания водещи до фиброза. На по-късен етап тези изменения водят до влошена двигателна и сензорна активност, атрофия и повишена чувствителност на болка (Gosk et al., 2007).

В *Lamina propria*, 5 дни след излагане на 5Gy, се отчита повишена експресия на мастоцити в стената на тънкото черво, съпроводена с активна дегранулацията на мастоцити в условията на активно чревно възпаление.

В тънките черва на облъчените животни се регистрира повишаване броя на мастоцитите в *tunica mucosa* и *submucosa*, като отговор на развиващ се възпалителен процес. Гранулите изпълващи мастните клетки съдържат провъзпалителни медиатори, като химаза, триптаза и хистамин, които участват в физиологични и патологични изменения свързани с пролиферация, стимулиране на контрахилността на гладките мускули, ангиогенеза, възпаление и фиброза (Hallgren et al., 2006).

Повишеното освобождаване на медиатори от мастоцитите води и до дистрофични изменения в tunica mucosa (Blirando et al., 2011) и изменения в съдовия ендотел (Blirando et al., 2012).

В проучвания с животни са установени хистологични изменения в съдовата стена вследствие на лъчетерапия, като атеросклеротични промени, натрупване на липиди, възпаление и тромбоза (Fajardo et al., 1999). Молекулярният механизъм за тези промени не е добре установен. Изследователите са на мнение, че измененията в съдовата стена се дължат на индуцирания хроничен оксидативен стрес, който активира множество процеси с участие на: металопротеинази, адхезионни молекули, провъзпалителни цитокини. Всички те предизвикват клетъчна пролиферация и апоптоза на гладкомускулните клетки и инактивиране на азотния оксид като протектор на съдовата стена.

Заклучение:

Тъканныят отговор след облъчване с ускорени електрони е свързан с изменения във всички структури на храносмилателната система, като факторите участващи в развитието на симптомите са многостранни. Всички резултат в хронични възпаления, които от своя страна нарушават функциите на стомашно-чревния тракт.

### БИБЛИОГРАФИЯ

J. Hallgren and G. Pejler, "Biology of mast cell tryptase: an inflammatory mediator," *The FEBS Journal*, vol. 273, no. 9, pp. 1871–1895, 2006.

K. Blirando, F. Milliat, I. Martelly, J. C. Sabourin, M. Benderitter, and A. Francois, "Mast cells are an essential component of human radiation proctitis and contribute to experimental colorectal damage in mice," *American Journal of Pathology*, vol. 178, no. 2, pp. 640–651, 2011.

K. Blirando, M. Hneino, I. Martelly, M. Benderitter, F. Milliat, and A. Francois, "Mast cells and ionizing radiation induce a synergistic expression of inflammatory genes in endothelial cells by a mechanism involving p38 $\alpha$  MAP kinase and (p65)NF- $\kappa$ B activation," *Radiation Research*, vol. 178, no. 6, pp. 556–567, 2012.

## Science & Technologies

Fajardo LF. Is the pathology of radiation injury different in small vs large blood vessels? *Cardiovasc Radiat Med.* 1999;1:108–10.

osk J, Rutowski R, Reichert P, Rabczyński J. Radiation-induced brachial plexus neuropathy – aetiopathogenesis, risk factors, differential diagnostics, symptoms and treatment. *Folia Neuropathol.* 2007; 45(1): 26-30.