

Ранние радиационные повреждения внеклеточного матрикса тазовых органов, выявляемые методами нелинейно-оптической и атомно-силовой микроскопии

В.А. Тимофеева¹, С.Л. Котова¹, М.В. Кочуева², К.В. Бабак³, А.В. Масленникова²,
А.Б. Соловьева¹

¹ *ФГБУН Институт химической физики им. Н. Н. Семенова РАН, 119991, Москва, Россия
vik.timofeeva@gmail.com*

² *ГБОУ ВПО "Нижегородская государственная медицинская академия",
Министерства здравоохранения РФ, Нижний Новгород, Россия*

³ *Нижегородский государственный университет им. Н.И.Лобачевского, Нижний Новгород, Россия*

Побочные реакции в нормальных тканях после облучения злокачественных опухолей имеют важное значение в современной радиационной онкологии. Мы применили нелинейно-оптическую и атомно-силовую микроскопию для выявления ранних повреждающих эффектов ионизирующего излучения на коллагеновые структуры мочевого пузыря и прямой кишки крыс.

Early radiation-induced damage of the extracellular matrix of pelvic organs tracked by nonlinear optical and atomic force microscopies

V.A. Timofeeva¹, S.L. Kotova¹, M.V. Kochueva², K.V. Babak³, A.V. Maslennikova²,
A.B. Solovieva¹

¹ *N.N.Semenov Institute of Chemical Physics, 119991, Moscow, Russia*

² *Nizhny Novgorod State Medical Academy, 603005, Nizhny Novgorod, Russia*

³ *N.I.Lobachevsky Nizhny Novgorod State University, 603950, Nizhny Novgorod, Russian Federation*

Adverse events in normal tissues after irradiation of malignant tumors are of great importance in modern radiation oncology. In our study, we have applied nonlinear optical and atomic force microscopies to track early damaging effects of ionizing radiation on the collagen structures in the bladder and rectum of rats.

Лучевая терапия широко используется при лечении разнообразных злокачественных новообразований в области малого таза. Однако применение лучевой терапии неизбежно связано с радиационным повреждением здоровых тканей в поле облучения. В данном исследовании, мы применили нелинейно-оптическую (генерация второй гармоники) и атомно-силовую микроскопию для выявления ранних повреждающих эффектов ионизирующего гамма-излучения на коллагеновые структуры в области подслизистого слоя мочевого пузыря и прямой кишки экспериментальных животных (крыс). Животных облучали локальным полем в дозах от 2 до 40 Гр, исследования структуры коллагена проводили через 1 день, 1 неделю и 1 месяц после облучения.

Микроскопия второй гармоники позволяет наблюдать структуру коллагеновых волокон и их пучков без дополнительного окрашивания. Сканирование остро сфокусированным лазерным пучком дает возможность получать изображения, детально отражающие особенности укладки коллагена в ткани. Через неделю после облучения наблюдали признаки повреждения эпителия и отека подслизистого слоя, особенно сильно выраженные для высокой дозы (40 Гр). Сигнал второй гармоники при этом снижался, что отражает процессы деградации коллагеновых структур как в мочевом пузыре, так и в прямой кишке. Через месяц после облучения наблюдали увеличение поперечных размеров и числа коллагенсодержащих структур (в наибольшей степени выраженные для дозы 40 Гр) что указывало на начало процессов радиационно-индуцированного фиброза.

Атомно-силовая микроскопия (АСМ) позволяет визуализировать коллагеновые структуры внеклеточного матрикса на микро- (коллагеновые волокна и их пучки) и

наноуровнях (коллагеновые фибриллы, составляющие волокна). Первые признаки воздействия низкой дозы облучения (2 Гр) визуализировались уже через неделю после облучения на уровне изменения упаковки коллагеновых фибрилл. Наблюдаемое разрыхление упаковки фибрилл и увеличение доли неволоконистых элементов матрикса свидетельствовали о начальной стадии разрушения коллагенового каркаса после облучения. Последующие изменения (утолщение коллагеновых волокон с появлением плотной квазипараллельной укладки фибрилл) через месяц после облучения указывали на начало фиброзных изменений.

По данным АСМ, ранний повреждающий эффект облучения в высоких дозах (от 8 до 40 Гр), наблюдаемый через сутки после облучения, оказался пропорционален дозе облучения и времени после облучения – от относительно небольших изменений в упаковке коллагена при 8 Гр к прогрессированию разрушения коллагеновой матрицы при более высоких дозах и полному разрушению исходной трехмерной коллагеновой структуры с появлением признаков фиброзных изменений при высоких дозах (22 и 40 Гр).

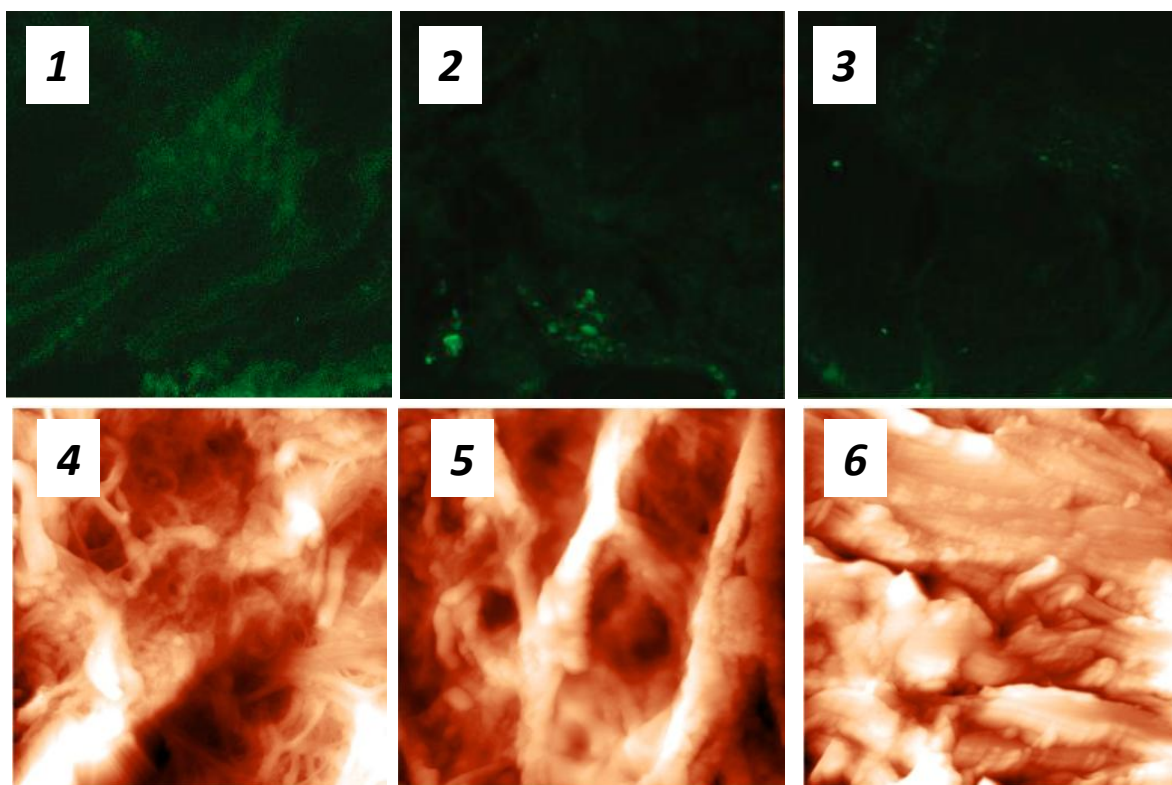


Рисунок 1. Усиление повреждающего эффекта гамма-облучения на внеклеточный матрикс прямой кишки крыс при увеличении дозы облучения по данным микроскопии генерации второй гармоники (1-3) и АСМ (4-6).

1,4 – интактная ткань.

2,3 – дозы 10 и 40 Гр, 1 неделя после облучения.

5,6 – дозы 8, 22 Гр, 1 сутки после облучения.

Таким образом, методами нелинейно-оптической микроскопии и АСМ было показано, что процессы развития повреждения и последующего ремоделирования внеклеточного матрикса органа под воздействием ионизирующего излучения носят этапный характер и начинаются с дезорганизации и деградации коллагена на уровне волокон и пучков. Следующим этапом ответа ткани на радиационное повреждение является восстановление — процесс неоколлагеногенеза, начало которого было зафиксировано уже через 1 нед после повреждающего воздействия. Через месяц после облучения наблюдаются признаки начала радиационно-индуцированного фиброза. Установлено, что скорость процессов ремоделирования внеклеточного матрикса зависит от дозы облучения.