

577.391:611.41/.42:616-001.28-092.9

MORFOLOGIE POSTRADIAČNÍCH ZMĚN NĚKTERÝCH RADIOSENZITIVNÍCH ORGÁNŮ JEDNORÁZOVĚ ROVNOMĚRNĚ A NEROVNOMĚRNĚ GAMA-OZÁŘENÝCH KRÁLÍKŮ

Část I. Jednorázové celotělové rovnoměrné gama-ozáření dávkou 6 Gy

Mjr. MUDr. Milan REŠL, plk. prof. MUDr. Milan DOSTÁL, CSc., plk. doc. MUDr. Pavel
PETÝREK, CSc., ing. Otakar NERUDA, CSc.

Vojenský lékařský, výzkumný a doškolovací ústav J. E. Purkyně, Hradec Králové
(náčelník: genmjr. prof. MUDr. J. Vaňásek, CSc.)

Úvod

Radiační poškození organismu je dáno řadou faktorů fyzikální nebo biologické povahy. Druh záření, jeho energie a dávka, umístění zdroje i distribuce dávky v čase jsou činitelé, které zásadně ovlivňují konečný efekt záření. Mezi tyto však patří i distribuce dávky v organismu, která nabývá na významu pro pochopení patogenetických mechanismů. Abychom mohli sledovat změny navozené celotělovým jednorázovým nerovnoměrným ozářením, zejména pak jejich dynamiku, provedli jsme základní experiment, ve kterém byli králíci ozáření jednorázově celotělově a rovnoměrně přibližně minimálně letální dávkou, tj. 6 Gy. Předmětem předkládaného sdělení je charakteristika

morfologických změn v systému lymfatickém a kostní dřeni do 60. dne po ozáření.

Materiál a metoda

Pokusná zvířata

V experimentu bylo užito 42 králíků rasy Činčila velká, průměrné hmotnosti 3–3,5 kg a stáří 1,5 roku, dodané farmou Velaz, Praha. Jako krmivo sloužila standardizovaná dieta KO-16 (Velaz, Praha) a pitná voda ad libitum. K této potravě byl 2krát týdně přidáván suchý chléb a mrkev, 2krát měsíčně pak Roboran-H Farmakon (250 g na 5 kg pšeničného šrotu). Králíci byli chováni po jednom až dvou v dřevěných kotcích při venkovní teplotě.

Zdroj ionizujícího záření

Králíci byli dorzoventrálně ozařováni kobaltovým zdrojem gama-záření (Chisotron) s výstupním prostorovým úhlem 33 stupňů. Zdroj byl umístěn ve výši 150 cm nad pomyslným bodem, ležícím ve středu vzdálenosti proc. xiphoides a středem břicha. Příkon zdroje pro tuto výšku a střed těla králíka činil $0,41 \text{ Gy} \cdot \text{min}^{-1}$. Dávka 6 Gy byla měřena ve volném prostoru.

Histologie

Odběr tkání byl prováděn bezprostředně po usmrcení Thiopentalem Spofa (1,0 g i. v.), a to 4., 8., 15., 22., 29. a 60. den po ozáření. Z výchozího počtu 36 králíků uhynul jeden 9. den, jeden 10. den, dva 12. den, jeden 25. den a jeden 31. den po ozáření. Šest neozařených králíků sloužilo jako kontrola. Tkáň thymu byla vyšetřována z 5–7 bloků, získaných kolmými řezy na podélnou osu orgánu. Lymfatické uzliny byly odebírány z oblasti popliteální, inguinální a mesenterální. Kostní dřeň femorální byla získána po narušení kompakty a vyšetřena nejméně ze dvou vzorků, které zpravidla představovaly téměř kompletní krvetvornou tkáň této kosti. Bylo užito standardní histologické techniky, řezy silné $5 \mu\text{m}$ byly barveny hematoxylinem-eosinem (H-E). Barvení podle Giemsa, Von Giesona, Groccota a Grama bylo užito jako doplňujících technik.

Výsledky

Lymfatický systém

Lymfatická uzlina (popliteální, inguinální, mesenterální)

4. den: téměř úplné „setření“ typické architektiky, zvláště korových oblastí, dané úbytkem lymfocytů asi na 10–20 % hodnot kontrolních jedinců (dále pro stručnost považovaných za normu), početné histiocytární elementy s fagocytovanou buněčnou drtí, subkapsulární sinusy prázdné, dřeňové sinusy s minimálním množstvím lymfocytů, které jsou zcela ojediněle v dřeňových trabekulách, žádný edém či krvácení.

8. den: v jednom případě obraz 4. dne, v ostatních nalezeny jednoznačné změny spočívající až v 50–60 % repopulaci vyžrávajících lymfocytů, které se formují do zárodečných center ještě ne typického vzhledu s obrazem „hvězdného nebe“, nepočetné lymfocyty v dřeňových sinusech, trvají známky fagocytární aktivity.

15. den: zachyceny změny podobného charakteru jako 8. den, přibývá lymfocytů v dřeňových trámčích, ojediněle v dřeňových sinusech edematózní tekutina.

22. den: lymfocytární buněčnost přibližně jako 8. a 15. den po ozáření, zárodečná centra typického vzhledu.

29. den: zcela diskrétní vzestup buněčnosti oproti předchozímu odběrovému dni.

60. den: minimální lymfocytární deplece typicky utvářené lymfatické uzliny.

Slezina

4. den: výrazný úbytek lymfocytů s částečným „smazáním“ hranice mezi bílou a červenou pulpou, histiocytární elementy s fagocytovaným materiálem.

8. den: novotvorba Malpighických tělísek ještě ne typického vzhledu, množství lymfoidních elementů asi 30 % normy.

15. den: pokračuje repopulace bílé pulpy, velmi intenzivní extramedulární hematopoéza.

22. den: bílá pulpa tvořena vyžrávajícím lymfocytárním populací (asi 60 % normy), diferenciací od pulpy červené je dobrá, známky extramedulární hematopoézy.

29. den: není významnějších rozdílů oproti změnám nalezeným 22. den po ozáření. Ojediněle přítomna ložiska výraznějšího překrvení až charakteru drobných krvácení.

60. den: buněčnost bílé pulpy v subnormálních hodnotách, prokrvení přiměřené, není extramedulární hematopoéza.

Thymus

Mikroskopický obraz co do buněčnosti výrazně v jednotlivých vzorcích kolísá. Nejvýznamnější změny ve smyslu úbytku lymfocytárních elementů byly nalezeny 4. a 8. den po ozáření. Zachycené změny odpovídaly stavu tzv. inverze kory a dřeně s přítomností nevelkého množství lymfocytů v dřeňové oblasti. Hassalova tělíska a retikulární síť jsou beze změn. Počínaje 15. dnem jsou zachyceny reparační změny, přibývá lymfocytů i v korových oblastech. Nález z 60. dne je shodný s obrazem normálně vyhlížející tkáně thymu.

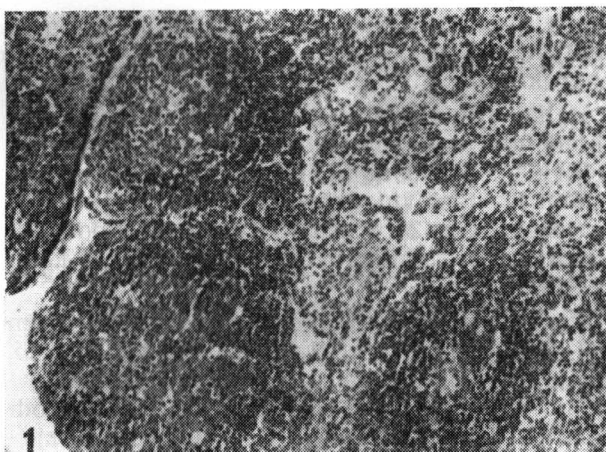
Krvetvorba

Kostní dřeň femuru

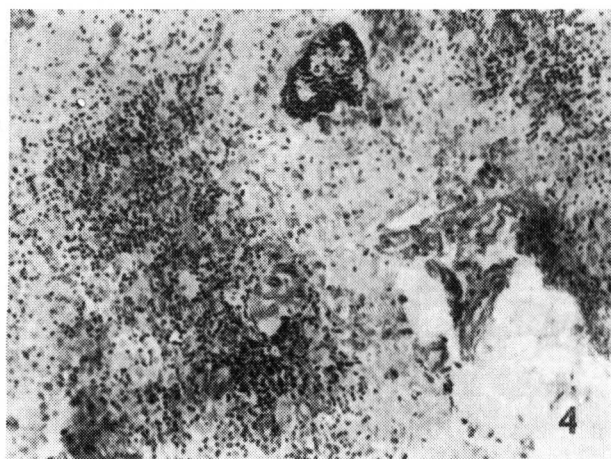
4. den: zachyceny významné změny, spočívající ve snížení buněčnosti všech složek krvetvorby, zvláště pak řady granulocytární, asi na 30 % hodnot u kontrol, řada megakaryocytární s dystrofickými změnami, výrazné překrvení dřeňových sinusů, ojediněle drobná krvácení a gelatinosní materiál, větší cévy b. n.

8. den: progreduje buněčná deplece, elementy granulocytární řady zcela ojedinělé, megakaryocytární řada chybí, změny ložiskově nestejnoměrně vyjádřeny až do obrazu tzv. tukové atrofie kostní dřeně, ve většině případů iniciální překrvení ustupuje, jednou nalezena rozsáhlá čerstvá krvácení.

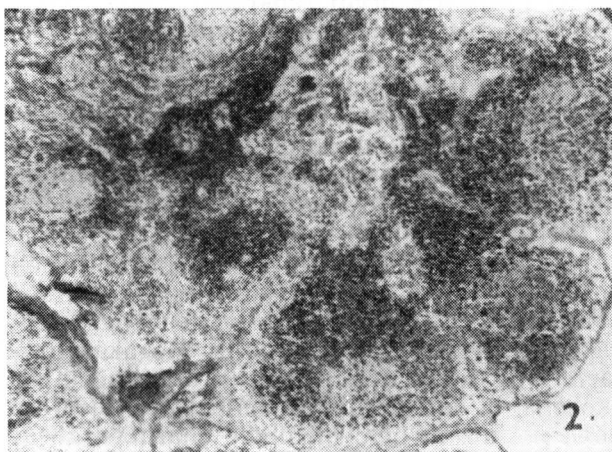
15. den: zachycen nástup reparačních procesů, utváření regeneračních uzlů krvetvorby



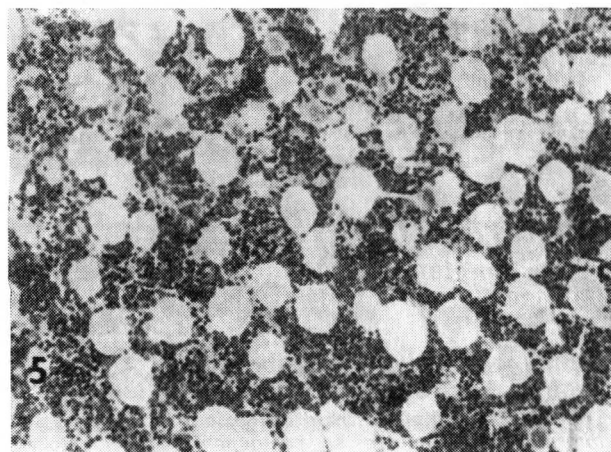
Obr. 1. Lymfatická uzlina kontrolního jedince.
120krát, Giemsa



Obr. 4. Thymus 4. den po ozáření. Tzv. inverze kory
a dřeně, nápadně buněčně chudé korové oblasti.
120krát, Giemsa



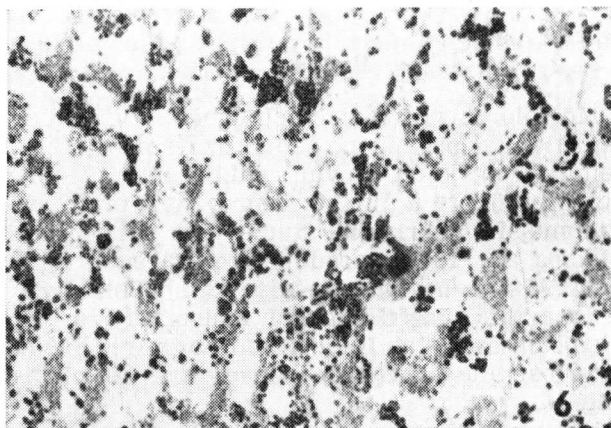
Obr. 2. Lymfatická uzlina 4. den po ozáření. Významná
lymfocytární deplece, zvláště korových partií.
75krát, Giemsa



Obr. 5. Femorální kostní dřeň kontrolního jedince.
120krát, Giemsa



Obr. 3. Thymus kontrolního jedince. 75krát, HE



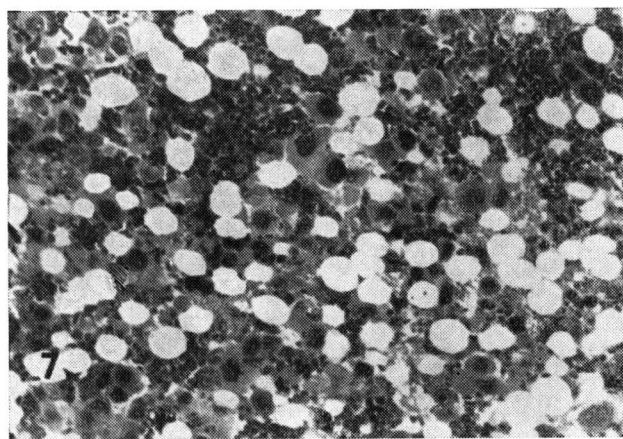
Obr. 6. Femorální kostní dřeň 4. den po ozáření, významná
buněčná deplece, překrvení.
120krát, Giemsa

z převážné části tvořených granulocytární řadou, kvantitativně asi do 30—40 % hodnot kontrol.

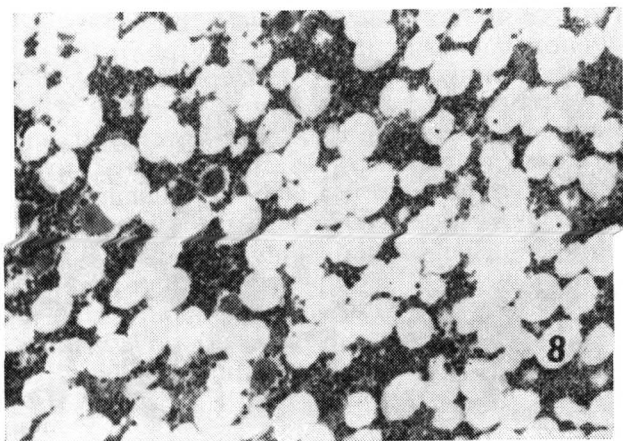
22. den: repopulace buňkami krvetvorby nabývá difúznějšího charakteru, kvantitativně asi

50—60 % hodnot kontrol, erytrocytární řada četnější, ojediněle ložiska krvácení.

29. den: změny obdobného charakteru jako 22. den po ozáření, i zde však jsou přítomny známky výrazné individuální variability.



Obr. 7. Femorální kostní dřeň 15. den po ozáření, ložisková iritace megakaryocytární řady. 120krát, HE



Obr. 8. Femorální kostní dřeň 60. dne po ozáření, subnormální repopulace se zastoupením všech složek krvetvorby. 120krát, HE

60. den: jsou přítomny elementy všech složek krvetvorby, buněčnost v lehce subnormálních hodnotách při srovnání s kontrolami.

Diskuse

Morfologie postradiačních změn tzv. radiosenzitivních orgánů po jednorázovém celotělovém ozáření je na úrovni světelné mikroskopie poměrně dobře a dlouho známa. Mezi první významnější sumarizující studie jistě patří práce Blooma aj. (1948), později pak práce Berdjise aj. (1974) nebo Ivanova aj. (1981). Pokud jde o dynamiku morfologických změn, zvláště pak v delších časových intervalech po ozáření, jsou informace, a to nejen v případě králíka, ojedinělé.

Je pochopitelné, že zásadní změny byly nalezeny v systému lymfatickém. Jde o změny typické, které se ve své podstatě shodují s literárními údaji a jejichž charakter je dán délkou postradiačního intervalu. Spočívají ve významné lymfocytární depleci, která byla zachycena 4. den po ozáření s následnou buněčnou repopulací na více než poloviční hodnoty normy 8. den. Tyto změny se podstatněji nemění až do 29. dne po ozáření, kdy dochází k jejich diskret-

nímu vzestupu. Změny nalezené 60. den po ozáření svědčí pro jejich prognosticky příznivý charakter.

Další významné poškození lymfocytů bylo shledáno ve slezině. Dynamika repopulace korelovala se změnami nalezenými v uzlinách. Znamky intenzivní extramedulární hematopoiezy mezi 15. a 29. dnem po ozáření odpovídají nástupu reparačních procesů, nalezených v kostní dřeni.

Poněkud pozdější nástup regeneračních změn byl nalezen v lymfatické tkáni thymu. Od 15. dne po ozáření přecházejí do obrazu kvalitativně normálně vyhlížející tkáně v posledním odběrovém dnu. Bifázická reparace, která je zjišťována např. u hlodavců (Takada aj., 1971), nám nebyla nalezena. Je vysvětlována tak, že k iniciálnímu poklesu dochází následkem mitotické zástavy a buněčné destrukce bezprostředně po ozáření s první reparační vlnou, danou dělením přežívajících thymocytů a následným poklesem, ke kterému může či nemusí dojít podle možnosti repopulace prekursorů z kostní dřene. V nám dostupné literatuře jsme tuto skutečnost pro větší laboratorní zvířata nenalezli. *Může však být zastřešena kvantitativní nepřesností užitých metodiky.* Není vyloučen ani častější nástup reparace.

Poškození kostní dřene bylo zjištěno 4. den po ozáření. Spočívalo ve významném poklesu buněčnosti, zejména řady granulocytární, provázeném výrazným překrvením. Megakaryocytární řada, která byla přítomna, ale značně poškozena, 8. den již nebyla nalezena. Nejvýraznější poškození bylo ojediněle charakterizováno jen „tukovou“ dření. Její gelatinosní charakter pravděpodobně souvisí s poruchou cévní integrity, pro kterou může svědčit nalezené krvácení. Regenerační procesy, které převládají od 15. dne po ozáření, ústí do lehce subnormálního stavu buněčnosti s přítomností všech složek krvetvorby. V ojedinělých případech však byly zjištěny nálezy diskrepantní, které je možno vysvětlit individuální variabilitou, fázovostí reparačních procesů nebo ložiskovostí probíhajících změn. Individuální variabilita středních a velkých laboratorních zvířat je známa a v literatuře často zdůrazňovaná skutečnost. Na fázovost reparace, respektive na dvoufázový pokles buněčnosti upozorňuje např. Maloney již v r. 1972. Vzhledem k anatomické struktuře a atrofickým změnám zde fyziologicky u velkých laboratorních zvířat probíhajících jsme v dalších experimentech vyšetřovali dekalifikované vzorky kostní dřene obratlové.

Souhrn

Je popsána dynamika morfologických změn krvetvorné dřene a lymfatického systému po jednorázovém celotělovém gama-ozáření králíků dávkou 6 Gy. Změny se vyznačují časnou buněčnou deplecí s následnou reparací jejich vzájemného zastoupení tak, že morfologický

obraz téměř připomíná stav u kontrolní skupiny.

Literatura

1. BERDJIS, CH. C. et al.: Pathology of irradiation. Baltimore, Ed. Williams-Wilkins Co. 1971. 710 s.
2. BLOOM, W. et al.: Histopathology of irradiation from external and internal sources. New York, McGraw-Hill Book Co., 1948. 808 s.
3. IVANOV, A. E. et al.: Patologičeskaja anatomija lučevoj bolezni. Moskva, Medicina 1981. 303 s.
4. MALONEY, M. A. - PATT, H. M.: Persistent marrow hypocellularity after local X-irradiation of the rabbit femur with 1000 rad. Radiat. Res., 50, 1972, č. 2, s. 284—292.
5. TAKADA, A. et al.: Bone marrow, spleen and thymus regeneration patterns in mice after whole-body irradiation. Radiat. Res., 45, 1971, č. 3, s. 522—535.

Klíčová slova: Ionizující záření; Morfologie.