Український радіологічний та онкологічний журнал. 2021. Т. 29. № 3. С. 63–75
Ukrainian journal of radiology and oncology. 2021;29(3):63–75
ISSN 2708-7166 (Print)
ISSN 2708-7174 (Online)

CC BY
OPEN ACCESS

DOI: https://doi.org/10.46879/ukroj.3.2021.63-75
УДК: 615.849:616-006.6+611-018

Структурно-функціональний стан карциноми Герена після локального фракційного ікс-опромінення та сумісного застосування опромінення та мелоскикаму

Лукашова О.П., ORCID: 0000-0002-4518-5104; e-mail: olga.petrovna.Lukashova@gmail.com
Державна установа «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України», м. Харків, Україна

Structural and functional state of Heren carcinoma after local fractional X-irradiation and irradiation combined with meloxicam

Lukashova O.P., ORCID: 0000-0002-4518-5104; e-mail: olga.petrovna.Lukashova@gmail.com
State of Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kharkiv, Ukraine

Ключові слова:

ікс-опромінення, ультраструктура, мелоксикам, мітоз, апоптоз.

Для кореспонденції:

Лукашова Ольга Петрівна
Державна установа «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України», лабораторія радіаційної онкології;
вул. Пушкінська, буд. 82, м. Харків, Україна, 61024;
e-mail: olga.petrovna.Lukashova@gmail.com

© *Лукашова О.П., 2021*

РЕЗЮМЕ

Актуальність. Однією з важливіших проблем онкології є переборення терапевтичної резистентності пухлин, яка виникає зокрема внаслідок підвищення рівня ферменту циклооксигенази 2 (ЦОГ-2). Відомо, що зростання рівня ЦОГ-2 та продукту її діяльності, простагландину-Е2 при онкологічних захворюваннях, сприяє таким процесам в організмі, як ріст пухлин, стимуляція в них проліферації, індукція ракових стовбурових клітин, гальмування апоптозу, активація ангіогенезу, інвазія, метастазування та розвиток хіміо- та радіорезистентності. Застосування інгібіторів ЦОГ-2, якими є нестероїдні протизапальні препарати (НСПЗП), значно обмежує ці процеси та поліпшує показники виживаності та смертності у хворих на рак, а у сполученні з хіміопрепаратами відмінює викликану ними резистентність.
Мета роботи – вивчення структурно-функціонального стану клітин карциноми Герена після комбінованого застосування нестероїдного протизапального мелоксикаму і локального ікс-опромінення пухлини у сумарних дозах 1,0 та 10 Гр.
Матеріали та методи. На 33 щурах-самицях з перещепленою карциномою Герена за допомогою стандартних методів електронної мікроскопії досліджена ультраструктура пухлинних клітин (ПК) через 24 години після сумісного застосування мелоксикаму у дозі 0,2 мг на 1 кг маси тіла за добу до першого та за 2 години до другого сеансу фракційного локального ікс-опромінення пухлини у сумарних дозах 1,0 та 10 Гр (двічі щоденно по 0,5 Гр та 5 Гр відповідно). Підраховували мітотичний індекс (кількість мітозів на 100 ПК), індекс апоптозу (кількість клітин у стані апоптичної загибелі на 100 ПК) та частоту ПК з дрібними ядрами (%).
Результати та їх обговорення. Встановлено, що опромінення пухлини Герена у сумарній дозі 10 Гр викликає порушення ультраструктури ПК, пов'язані з ураженням ядерного апарату клітин. Спостерігається плеоморфізм ядер, поява двоядерних ПК та мікроядер, достовірне падіння митотичної активності, деяке підвищення індексу апоптозу. Відзначається також стимуляція функціональної діяльності макрофагів. При опроміненні у сумарній дозі 1,0 Гр подібні ефекти виражені менше, або зовсім відсутні, як, наприклад, процеси фагоцитозу. Показник частоти ПК з малими ядрами однаково вірогідно підвищений при обох дозах опромінення. Уведення мелоксикаму сприяє достовірному зниженню мітотичної активності та зростанню частоти малих клітин, тоді як ультраструктурна картина пухлини майже не змінюється. При сумісній дії радіації в обох дозах та мелоксикаму порушення тонкої будови ПК ідентичні тим, що виявляються при одному тільки опроміненні. Поряд з тим, мітотичний індекс у групі з комбінованою дією препарату та радіації у дозі 10 Гр вірогідно нижчий, ніж при одному опроміненні. Крім того, при обох дозах достовірно зростає частота малих форм ПК у порівнянні з показниками як у групі інтактного контролю, так і у відповідних групах опромінення. Тільки у поєднанні з радіацією мелоксикам значно стимулює апоптоз, тоді як в інших серіях його індекс залишається на рівні контрольних значень. Була підтверджена залежність, яка постійно виявлялася в усіх експериментальних групах, між зниженням рівня мітотичного індексу у карциномі Герена і зростанням частки ПК з малими ядрами. Між цими показниками виявлено зворотний кореляційний зв'язок (r = 0,80, P = 0,05).
Висновки. При сумісній дії мелоксикаму та опромінення значно підвищується ефективність обох терапевтичних факторів внаслідок властивості мелоксикаму достовірно гальмувати проліферативну активність та сприяти пострадіаційному розвитку апоптозу у пухлинній тканині. Наявність кореляційної залежності між мітотичним індексом та частотою клітин з дрібними ядрами у пухлині Герена, свідчить про взаємозв'язок процесів клітинного росту і ділення.

ISSN 2708-7166 (Print)
ISSN 2708-7174 (Online)

Для цитування:

Лукашова О.П. Структурно-функціональний стан карциноми Герена після локального фракційного ікс-опромінення та сумісного застосування опромінення та мелоксикаму. *Український радіологічний та онкологічний журнал.* 2021. Т. 29. № 3. С. 63–75. DOI: https://doi.org/10.46879/ukroj.3.2021.63-75

Key words:

X-irradiation, ultrastructure, meloxicam, mitosis, apoptosis.

For correspondence:

Lykashova Olga Petrivna
State Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Laboratory of Radiation Oncology;
82, Pushkinska Str., Kharkiv, Ukraine, 61024;
e-mail: olga.petrovna.Lukashova@gmail.com

© *Lukashova O.P., 2021*

ABSTRACT

Background. One of the most important problems of oncology is the overcoming of therapeutic resistance of tumors, which occurs in particular due to increased levels of the enzyme cyclooxygenase 2 (COX-2). It is known that the growth of COX-2 and the product of its activity, prostaglandin-E2 in cancer, promotes such processes in the body as tumor growth, stimulation of proliferation, induction of cancer stem cells, inhibition of apoptosis, activation of angiogenesis, invasion, metastasis and development of chemoresistance. The use of COX-2 inhibitors, which are nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), significantly limits these processes and improves survival and mortality in cancer patients, and in combination with chemotherapeutics eliminates the resistance they cause.
Purpose – study of the structural and functional state of Guerin's carcinoma cells after the combined use of nonsteroidal anti-inflammatory drug meloxicam and local X-irradiation in total doses of 1.0 and 10 Gy.
Materials and methods. On 33 rats with inoculated Guerin's carcinoma, the ultrastructure of tumor cells (TC) was studied using standard methods of electron microscopy 24 hours after the combined use of the meloxicam drug at a dose of 0.2 mg per 1 kg of body weight one day before the first and 2 hours before the second session fractional local X-irradiation in total doses of 1 and 10 Gy (twice daily at 0.5 and 5.0 Gy, respectively. The mitotic index (the number of cells in the state of mitosis per 100 TC,%), the apoptosis index (the number of cells in the state of apoptotic death per 100 TC,%) and the frequency of TC with small nuclei (%).
Results. It was found that irradiation of Guerin's tumor in a total dose of 10 Gy causes disturbances in the ultrastructure associated with damage to the nuclear apparatus of the TC. Pleiomorphism of the nuclei, the appearance of binucleated cells and micronuclei, a significant decrease in mitotic activity and a slight increase in the apoptosis index are observed. Stimulation of the functional activity of macrophages is also noted. Under irradiation in a total dose of 1 Gy, such effects are less pronounced or completely absent, such as, for example, the processes of phagocytosis. The frequency index of TC with small nuclei is equally reliably increased at both radiation doses. The administration of the drug meloxicam leads to a significant decrease in mitotic activity and an increase in the frequency of small cells, while the ultrastructural picture of the tumor remains almost unchanged. With the combined action of the drug and radiation in both doses, violations of the fine structure of the OC are identical to those found during irradiation. At the same time, the mitotic index in the group with the combined effect of the drug and radiation at a dose of 10 Gy is significantly lower than with only irradiation.In addition, at both doses, the frequency of small forms of PC significantly increases in comparison with the indicators of both the intact control group and the corresponding irradiation groups. Only in combination with radiation does meloxicam reliably stimulate apoptosis, while in other groups its index remains at the level of control values. The relationship was confirmed, which was constantly revealed in all experimental groups, between a decrease in the level of the mitotic index and an increase in the frequency of TC with small nuclei in Guerin's carcinoma. An inverse correlation was found between these indicators ($r = 0.80$, $P = 0.05$).
Conclusions. The combined action of the drug and irradiation significantly increases the effectiveness of both therapeutic factors due to the property of meloxicam to reliably inhibit proliferative activity and promote post-radiation development of apoptosis in tumor tissue. The presence of a correlation between the mitotic index and the frequency of cells with small nuclei in Guerin's tumor may indicate the relationship between cell growth and division.
Under the combined action of both investigated factors, changes in the tumor ultrastructure are mainly caused by irradiation. The administration of meloxicam increases the efficiency of the combined use of both therapeutic agents due to its ability to reliably inhibit proliferative activity and promote post-radiation development of apoptosis in tumor tissue. The presence of a correlation dependence between the mitotic index and the frequency of cells with small nuclei in Guerin's tumor may indicate the relationship between the processes of cell growth and division.

For citation:

Lukashova OP. Structural and functional state of Heren carcinoma after local fractional X-irradiation and irradiation combined with meloxicam. *Ukrainian journal of radiology and oncology.* 2021;29(3):63–75. DOI: https://doi.org/10.46879/ukroj.3.2021.63-75

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами і темами

Стаття є фрагментом планової науково-дослідної роботи Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України» «Визначити роль селективних інгібіторів циклооксигенази-2 в поєднанні з іонізуючим випроміненням у блокуванні ангіогенезу пухлин для розробки нових технологій комбінованої променевої і антиангіогенної терапії онкозахворювань», номер державної реєстрації: 0117U001045, шифр теми: НАМН.01.17, фундаментальна, термін виконання: 01.2017–12.2019 рр., керівники – завідувач відділення дистанційної, поєднаної променевої та комплексної терапії, доктор медичних наук, старший науковий співробітник В.П. Старенький; завідувачка лабораторії радіаційної ендокринології, доктор біологічних наук, старший науковий співробітник Н.А. Мітряєва.

Relationship with academic programs, plans and themes

The paper is a fragment of the planned research project of State Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine» which is «To determine the role of selective inhibitors of cyclooxygenase-2 in combination with ionizing radiation in blocking tumor angiogenesis for the development of new technologies of combined radiation and antiangiogenic therapy of cancer», state registration number: 0117U001045, research project code: NAMS (Ukraine) 01.17, fundamental, period for performance: 01.2017-12.2019; led by Head of Remote, Combined Radiation and Comprehensive Therapy Department, Doctor of Medical Sciences, Senior Researcher V.P. Starenkyi; Head of Radiation Endocrinology Laboratory, Doctor of Biological Sciences, Senior Researcher N.A. Mitriaieva.

ВСТУП

Проблеми терапії онкологічних захворювань у теперішній час є найважливішими для людства, оскільки за смертністю рак стоїть на одному з перших місць після серцево-судинних хвороб і уражує щорічно майже 18 млн осіб, з яких вмирає більше половини [1]. Незважаючи на значні сучасні досягнення у лікуванні онкологічних захворювань, у протираковій терапії існують обмеження, пов'язані як з первинною, так і отриманою внаслідок дії хіміопрепаратів та радіації, резистентністю злоякісних пухлин [2, 3]. Тому проблема переборення нечутливості раку до лікування стає дуже актуальною. Відомо, що онкогенез супроводжується збільшенням у пухлині ферменту циклооксигенази (ЦОГ), зокрема однієї з її ізоформ, ЦОГ-2, концентрація якої у здорових тканинах мінімальна [4]. Зростання рівня ЦОГ-2 та продукту її діяльності, простагландину-Е2, сприяє таким процесам в організмі, як ріст пухлин, стимуляція в них проліферації, індукція ракових стовбурових клітин, гальмування апоптозу, активація ангіогенезу, інвазія, метастазування та розвиток хіміорезистентності [5–9]. Застосування інгібіторів ЦОГ-2 значно обмежує ці процеси та поліпшує показники виживаності та смертності у хворих на рак, а у сполученні з хіміопрепаратами відмінює викликану ними резистентність [10–13]. Основними інгібіторами ЦОГ-2 є протизапальні препарати, стероїдного та нестероїдного походження, а серед широкого їх спектра найбільш важливими є селективні препарати, дія яких спрямована саме на ЦОГ-2: мелоксикам, німелсилід, целекоксиб, целебрекс, тощо [4, 12].

Надійною базою для встановлення механізмів дії протиракової терапії є експериментальні дослідження на пухлинах, перещеплених тваринам. Так, на карциномі Герена проводилося вивчення впливу хіміо- та променевого лікування, у тому числі на структурно-функціональний стан її клітин [14, 15]. Ця модель також є придатною для дослідження дії інгібіторів ЦОГ-2. Так, вона була застосована для вивчення дії нестероїдного протизапального мелоксикаму, розробленого для тварин, основною діючою речовиною якого є мелоксикам.

Мета роботи – вивчення структурно-функціонального стану клітин карциноми Герена після комбінованого застосування мелоксикаму і локального ікс-опромінення пухлини у сумарних дозах 1,0 та 10 Гр.

INTRODUCTION

The challenges related to cancer treatment are currently the most important for humanity, since cancer is one of the leading causes of death after cardiovascular disease affecting almost 18 million people annually, of whom more than half die [1]. Despite significant achievements in cancer treatment, there are limitations in anticancer therapy associated with both primary and acquired resistance to malignancies due to chemotherapy and radiation [2, 3]. Therefore, the issue of overcoming the insensitivity of cancer to treatment becomes very relevant. Oncogenesis is known to be accompanied by increased cyclooxygenase (COX) enzyme in the cell, in particular one of its isoforms, COX-2, the concentration of which in healthy tissues is minimal [4]. The increase of COX-2 level and the product of its activity, prostaglandin-2, encourages such processes in the body as tumor growth, stimulation of its proliferation, induction of cancer stem cells, inhibition of apoptosis, activation of angiogenesis, invasion, metastasis and development of chemoresistance [5–9]. The use of COX-2 inhibitors significantly limits these processes and improves survival and mortality in cancer patients, and in combination with chemotherapy eliminates the resistance they cause [10–13]. The main inhibitors of COX-2 are anti-inflammatory drugs of steroid and non-steroidal origin, and, among the wide range of those, the most important are selective drugs, the action of which is aimed at COX-2: meloxicam, nimesulide, celecoxib, celebrex, etc. [4, 12].

Experimental studies on tumors inoculated in animals are a reliable basis for establishing the mechanisms of action of anticancer therapy. Thus, Heren carcinoma was studied for the effect of chemo- and radiation treatment, including the structural and functional state of its cells [14, 15]. This model may also be suitable for studying the effects of COX-2 inhibitors. In particular, it was applied when studying the action of the non-steroidal antiinflammatory drug (NSAID) developed for animals, meloxicam, the main active ingredient of which is meloxicam.

Purpose – studying the structural and functional state of Heren carcinoma cells after administering the nonsteroidal anti-inflammatory meloxicam in combination with and local X-ray irradiation of the tumor in total doses of 1.0 and 10 Gy.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Експерименти проведено на 33 щурах-самицях масою тіла 160–180 г на 10–12 добу після перещеплення карциноми Герена, коли розміри пухлинного вузла досягали у діаметрі 1,5–2,0 см. На рентгенівському апараті РУМ-17 проводили локальне фракційне опромінення за стандартних технічних умов: напруга – 190 кВ, сила струму – 10 мА, фільтри: 0,5 мм Cu + 1 мм Al у сумарних дозах 1,0 та 10 Гр (двічі щоденно по 0,5 Гр та 5 Гр відповідно). Мелоксикам уводили внутрішньочеревинно за добу до першого сеансу опромінення та за 2 години перед другим сеансом у дозі 0,2 мг на 1кг маси тіла.

Тварин розподіляли методом випадкового добору на такі групи:

1 група – інтактний контроль (4 шт.);

2 група – уведення мелоксмелоксикамуивету (7 шт);

3 група – опромінення у сумарній дозі 1,0 Гр (5 шт.);

4 група – опромінення у сумарній дозі 10 Гр (6 шт.);

5 група – сумісне застосування мелоксикаму та опромінення у сумарній дозі 1,0 Гр (5 шт.);

6 група – сумісне застосування мелоксикаму та опромінення у сумарній дозі 10 Гр (6 шт).

Щурів декапітували через 24 години після останньої фракції опромінення згідно з вимогами належної лабораторної практики «GLP» (Good Laboratory Practice), Конвенції Ради Європи «Про охорону хребетних тварин, що використовуються в експериментах та в інших наукових цілях» від 18.03.1986 р., Директиви Європейського парламенту та Ради ЄС 2010/63/ЄС від 22.09.2010 р. про захист тварин, які використовуються для наукових цілей, наказу Міністерства охорони здоров'я України від 14 грудня 2009 р. № 944 «Про затвердження Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів», Закону України від 21.02.2006 р. № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» та ін.). Дослідження схвалене Комісією з біоетики Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України».

Дослідження ультраструктури карциноми Герена проводили за допомогою стандартних методів електронної мікроскопії [16]. Кусочки пухлин витримували спочатку у глютаральдегідному фіксаторі за Карновським, потім у тетраоксиді осмію за Паладе. Після дегідратації в етанолі зростаючої концентрації матеріал заливали у суміш епоксидних смол епон-аралдит та полімерізували протягом 36 годин при 56ºС. З одержаних блоків виготовлювали напівтонкі зрізи на ультрамікротомі УМТП-4 Сумського ВО «Електрон» та забарвлювали метиленовим синім на 1% тетрабораті натрію. Ультратонкі зрізи виготовлювали на тому ж мікротомі, контрастували у 2% розчині уранілацетату і цитраті свинцю за Рейнольдсом та аналізували в електронному мікроскопі ЕМ-125 того ж ВО. Збільшення на усіх представлених електронномікроскопічних рисунках складає 8000.

На напівтонких зрізах підраховували мітотичній індекс (кількість мітозів на 100 пухлинних клітин (ПК)), а на ультратонких зрізах – індекс апоптозу (кількість клітин у стані апоптичної загибелі на 100 ПК) та частість пухлинних клітин з дрібними ядрами (%) в кожній дослідженій пухлині.

MATERIALS AND METHODS

The experiments involved 33 female rats weighing 160–180g on day 10–12 after Heren carcinoma revaccinating, when the size of the tumor node reached a diameter of 1.5–2.0 cm. The X-ray equipment РУМ-17 was used to perform local fractional irradiation under standard technical conditions: voltage – 190 kV, current – 10 mA, filters: 0.5 mm Cu + 1 mm Al in total doses of 1 and 10 Gy (twice daily 0.5 Gy and 5 Gy, respectively). Meloxicam was administered intraperitoneally one day before the first irradiation session and 2 hours before the second session at a dose of 0.2 mg per 1 kg of body weight.

Animals were randomly assigned to the following groups:

Group 1 – intact control (4);

Group 2 – administration of meloxicam (7)

Group 3 – irradiation in a total dose of 1 Gy (5);

Group 4 – irradiation in a total dose of 10 Gy (6);

Group 5 – combined use of meloxicam and irradiation in a total dose of 1 Gy (5);

Group 6 – combined use of meloxicam and irradiation in a total dose of 10 Gy (6).

The rats were decapitated 24 hours after the last fraction of irradiation in compliance with the requirements of the independent laboratory practice GLP (Good Laboratory Practice), the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes dated March 18 1986, Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes, Order of the Ministry of Health of Ukraine of 14 December 2009 No 944 «About approval of the Procedure for carrying out preclinical studying of medicines and examinations of materials of preclinical studying of medicines», Law of Ukraine of February 21, 2006 No 3447-IV «About protection of animals against ill treatment», etc.). The study was approved by the Commission on Bioethics of State Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine».

The Heren carcinoma ultrastructure was studied by means of standard electron microscopy [16]. The tumor pieces were kept first in a glutaraldehyde fixative according to Karnovsky, then in osmium tetraoxide according to Palade. After dehydration in ethanol of increasing concentration, the material was poured into a mixture of epoxy resins epon-araldite and polymerized for 36 hours at 56ºC. Semi-thin sections were made from the obtained blocks by means of the ultramicrotome УМТП-4 produced by Sumy PA (Production Association) Electron and stained with methylene blue in 1% solution of sodium tetraborate. Ultrathin sections were made on the same microtome, contrasted in 2% solution of uranyl acetate and lead citrate according to the Reynolds method and analyzed in an electron microscope EM-125 of the same PA. The magnification in all presented electron microscopic figures is 8000.

The mitotic index (number of mitoses per 100 tumor cells (TC)) was calculated on semi-thin sections, while the index of apoptosis (number of cells in a state of apoptotic death per 100 TC) and the frequency of tumor cells with small nuclei (%) in each studied tumor were calculated on ultrathin sections.

The obtained data were calculated using the methods of descriptive statistics, non-parametric criteria and correlation analysis using the software package for

Одержані дані обчислювали за допомогою методів описової статистики, непараметричних критеріїв й кореляційного аналізу з використанням пакета програм для ПК «Biostat» та із застосуванням непараметричного критерію максимально правдоподібної оцінки достовірності ($P_{мп}$) [17].

PC Biostat and using the non-parametric criterion of the most plausible reliability assessment (P_{mp}) [17].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Встановлено, що інтактна карцинома Герена складається переважно з досить великих пухлинних клітин (ПК), з крупними світлими ядрами, які мають гладкий контур та містять крупні чіткі ядерця (рис. 1). Дрібнодисперсний хроматин у цих ядрах рівномірно розташовується у нуклеоплазмі та тонким шаром вздовж ядерної мембрани. Основними компонентами цитоплазми є вільні рибосоми та полісоми, а також округлі профілі гранулярної ендоплазматичної сітки (гЕПС), у яких виявляється темна білкова речовина. Мітохондрій небагато, вони темні, подовжені та невеликі за розміром. Трапляються окремі лізосоми та ліпідні краплини.

RESULTS AND DISCUSSION

Heren intact carcinoma has been found to consist mainly of relatively large tumor cells (TCs), which have light nuclei with a smooth border and large clear nucleoli (Fig. 1). The fine chromatin in these nuclei is evenly distributed in the nucleoplasm and in a thin layer along the nuclear membrane. The main components of the cytoplasm are free ribosomes and polysomes, as well as rounded profiles of the rough endoplasmic reticulum (rEPR), in which a dark protein substance is detected. Mitochondria are few, they are dark, elongated and small in size. Individual lysosomes and lipid droplets occur.

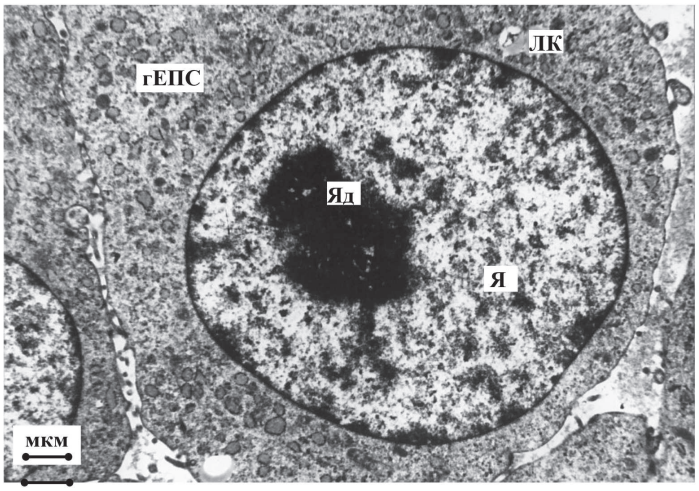

Рис. 1. Пухлинна клітина інтактної карциноми Герена зі світлим ядром, чіткими ядерцями, безліччю округлих профілів гранулярної ендоплазматичної сітки у цитоплазмі.
Я – ядро, Яд – ядерце, гЕПС – гранулярна ендоплазматична сітка, ЛК – ліпідна краплина, мкм – збільшення
Fig. 1. Tumor cell of intact Guerin's carcinoma with a light nucleus, distinct nucleoli, many rounded profiles of the rough endoplasmic reticulum in the cytoplasm.
Я –the nucleus, Яд – the nucleolus, гЕПС – rough endoplasmic reticulum, ЛК – lipid droplet, мкм – increase

Виявляються також ПК у стані ділення, мітотичній індекс інтактної пухлини дорівнює 1,71 (рис. 2, табл. 1). Подібна ультраструктура характерна для клітин, головними функціями яких є проліферативна та білково-синтетична активність, спрямована на вироблення речовин для власної потреби. Певну частину популяції ПК складають клітини з малим ядром, ультраструктура яких, за винятком розміру ядра, мало відрізняється від більшості ПК (рис. 2, табл. 2).

Серед подібних клітин небагато темних функціонально неактивних ПК, яким притаманні ядро з конденсованим хроматином, темна цитоплазма, де розташовуються вакуолізовані органели, окремі ліпідні краплини та дрібні везикули (рис. 3). Присутність таких форм часто реєструється у різних тканинах та пухлинах і вважається ознакою однією з форм клітинної загибелі (темноклітинна загибель) [18]. Трапляються також одиничні ПК у стані апоптозу з характерним для них ядром, у якому хроматин розміщується темною масою вздовж нуклеоплазми, а ядерний матрикс просвітлюється (рис. 4), а також окремі некротичні клітини.

TCs in a state of division are found, the mitotic index of an intact tumor is equal to 1.71 (Fig. 2, Table 1). Such ultrastructure is typical for cells, the main functions of which are proliferative and protein-synthetic activity aimed at producing substances for their own needs. A certain part of the TC population consists of small cells, the ultrastructure of which, except for the size of the nucleus, differs little from most TCs (Fig. 2, Table 2).

Among such cells there are a small number of dark functionally inactive TCs, which are characterized by a nucleus with condensed chromatin, dark cytoplasm with vacuolated organelles, individual lipid droplets and small vesicles (Fig. 3). The presence of such cells is often recorded in various tissues and tumors and is considered a sign of one of the forms of cell death (dark cell death) [18]. There are also single TCs in a state of apoptosis with their characteristic nucleus, in which chromatin is placed in a dark mass along the nucleoplasm, and the nuclear matrix (Fig. 4) is enlightened, as well as individual necrotic cells.

Таблиця 1. Індекс мітозу у пухлині Герена після сумісного застосування мелоксикаму та опромінення у сумарних дозах 1,0 та 10 Гр, %
Table 1. Mitosis index in Guerin's tumor after combined use of the drug meloxicam and irradiation in total doses of 1,0 and 10 Gy, %

Серії дослідження Series under study	Групи дослідження / Groups under study			
	Опромінення (О) Irradiation (I)		Уведення мелоксикаму та опромінення, (МО) Meloxicam administration and irradiation, (MI)	
	n	X±Sx	n	X±Sx
Інтактний контроль Intact control	4	1,71 ± 0,31	–	–
Уведення мелоксисаму Meloxicam administration	7	0,85 ± 0,18*	–	–
Опромінення у дозі 10 Гр Irradiation at a dose of 10 Gy	6	0,80 ± 0,24*	6	0,5 0± 0,08* **
Опромінення у дозі 1,0 Гр Irradiation at a dose of 1,0 Gy	5	0,76 ± 0,14*	5	0,72 ± 0,26*

Примітки:
* – достовірно у порівнянні з інтактним контролем, (p≤ 0,05)
** – достовірно у порівнянні з групою О ($P_{мп}$), (p≤ 0,05)
Notes:
* – significant in comparison with intact control, (p≤ 0,05)
** – significant in comparison with group I (P_{mp}), (p≤ 0,05)

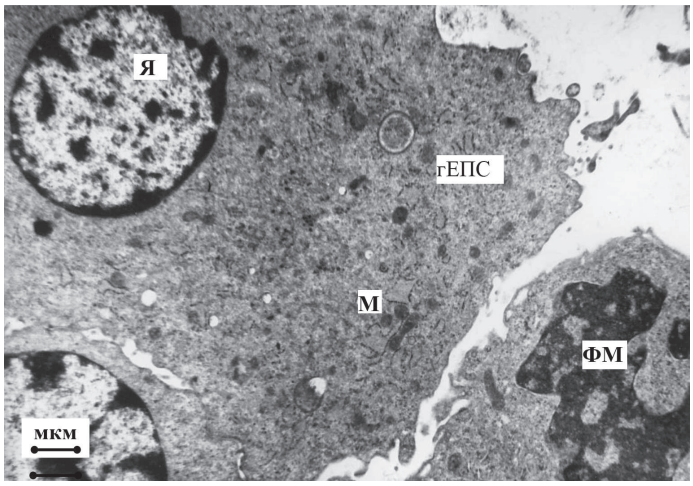

Рис. 2. Пухлинна клітина інтактної карциноми Герена з малим ядром та ПК у стані мітотичного ділення. М – мітохондрії, ФМ – фігура мітозу
Fig. 2. Tumor cell of intact Guerin's carcinoma with a small nucleus and tumor cell in a state of mitotic division. M – mitochondria, ФМ – the figure of mitosis

Таблиця 2. Частота клітин з малими ядрами у пухлині Герена після сумісного застосування мелоксикаму та опромінення у сумарних дозах 1,0 та 10 Гр, %
Table 2. The frequency of cells with small nuclei in Guerin's tumor after cobined use of meloxicam and irradiation in total doses of 1,0 and 10 Gy, %

Серії дослідження Series under study	Групи дослідження / Groups under study			
	Опромінення (О) Irradiation (I)		Уведення мелоксикаму та опромінення (МО) Meloxicam administration and irradiation, (MI)	
	n	X±Sx	n	X±Sx
Інтактний контроль Intact control	4	20,8 ± 2,02	–	–
Уведення мелоксикаму Mmeloxicam administration	7	32,4 ± 2,19 *	–	–
Опромінення у дозі 10 Гр Irradiation at a dose of 10 Gy	6	29,9 ± 1,94 *	6	32.5 ±1.87* **
Опромінення у дозі 1,0 Гр Irradiation at a dose of 1,0 Gy	5	26,7 ± 2,11	5	36,7 ± 4,69* **

Примітки:
* – достовірно у порівнянні з інтактним контролем, (p≤ 0,05)
** – достовірно у порівнянні з групою О ($P_{мп}$), (p≤ 0,05)
Notes:
* – significant in comparison with intact control, (p≤ 0,05)
** – significant in comparison with group I (P_{mp}), (p≤ 0,05)

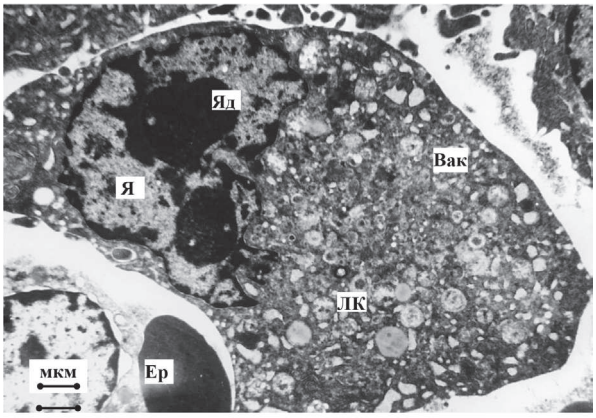

Рис. 3. Темна пухлинна клітина інтактної карциноми Герена з плейоморфним ядром, вакуолізованою цитоплазмою. Вак – вакуолі, Ер – еритроцит
Fig. 3. Dark tumor cell of intact Guerin carcinoma with pleiomorphic nucleus, vacuolated cytoplasm. Вак – vacuoles, Ер – erythrocyte

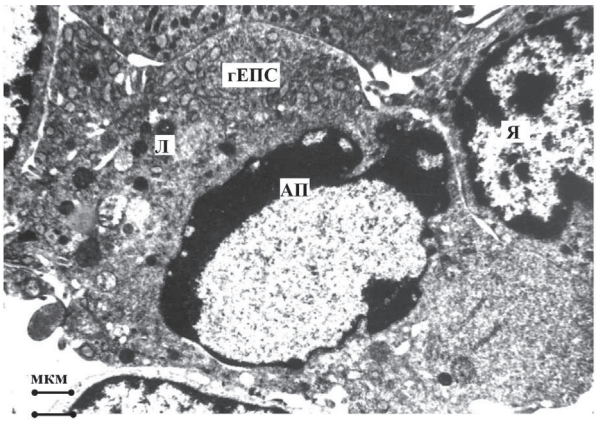

Рис. 4. Пухлинна клітина інтактної карциноми Герена у стані апоптичної загибелі. АП – ядро з ознаками апоптозу, Л – лізосоми
Fig. 4. Tumor cell of intact Guerin carcinoma in a state of apoptotic death. АП –nucleus with signs of apoptosis, Л – lisosomes

У пухлинній тканини також присутні малоактивні макрофаги, які містять невелике світле ядро, іноді примхливої форми, з деконденсованим хроматином та звичайні органели у цитоплазмі: мітохондрії, короткі профілі гЕПС, вільні рибосоми та полісоми і, що характерно для цих клітин, первинні та вторинні лізосоми (рис. 5).

Tumor tissue also contains inactive macrophages having a small light nucleus often capricious in shape with decondensed chromatin and common organelles in the cytoplasm: mitochondria, short profiles of rEPR, free ribosomes and polysomes, and, what is typical for these cells, primary and secondary lysosomes (Fig. 5).

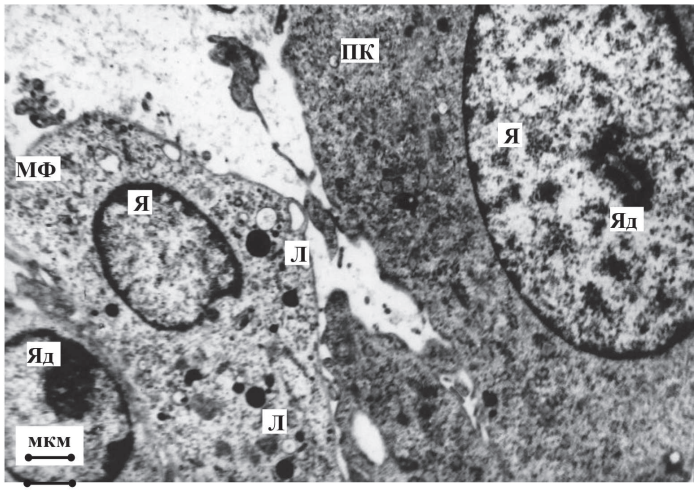

Рис. 5. Малоактивний макрофаг зі світлим ядром та первинними лізосомами у цитоплазмі біля пухлинної клітини інтактної карциноми Герена. МФ – макрофаг, ПК – пухлинна клітина
Fig. 5. Inactive macrophage with light nucleus and primary lysosomes in the cytoplasm near tumor cell of intact Guerin's carcinom

При введенні мелоксивету ультраструктура більшості ПК залишається майже незмінною, спостерігається лише деяке спотворення форми ядер, контур яких стає звивистим (рис. 6). Найбільш характерним для цієї серії стає достовірне падіння мітотичної активності ПК та значуще зростання фракції ПК з малими ядрами та (табл. 1, 2, рис. 7). Це наштовхує на думку про певний зв'язок між розміром клітин та їх властивістю до ділення.

Після опромінення у сумарній дозі 10 Гр у багатьох ПК відзначаються помітні порушення форми ядер, контур яких стає звивистим, часто з інвагінаціями, з'являються плейоморфні ядра, двоядерні та багатоядерні клітини, ПК з мікроядрами, що є характерними ознаками дії радіації (рис. 8, 9, 10, 11). При цьому достовірно знижується рівень мітотичної активності (табл. 1).

When administering Meloxivet, the most TCs ultrastructure remains almost unchanged, there is only some distortion of the nuclei shape, the border of which becomes curly (Fig. 6). The most characteristic of this series is a significant decrease in mitotic activity of TC and a significant increase in the fraction of TC with small nuclei (Table 1, 2, Fig. 7). This suggests a definite relationship between cell size and their ability to divide.

After irradiation in a total dose of 10 Gy, many TCs show the shape defects of the nuclei, the contour of which becomes curly, often with invaginations, appearing pleomorphic nuclei, binuclear cells, TCs with micronuclei, which are typical signs of radiation (Fig. 8, 9, 10, 11). This is accompanied by a significant decrease in mitotic activity (Table 1).

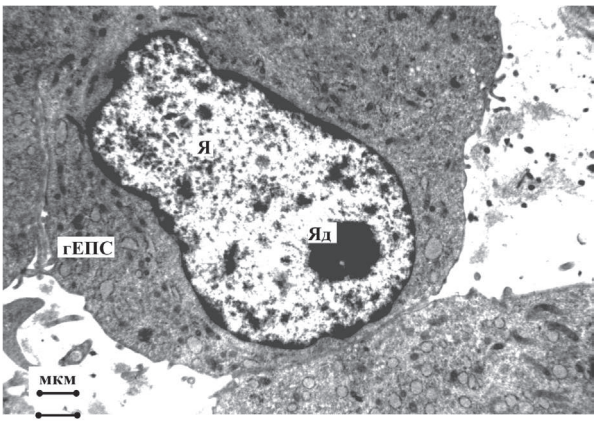

Рис. 6. Пухлинна клітина карциноми Герена з ядром неправильної форми після застосування препарату
Fig. 6. Tumor cell of Guerin carcinoma with the nucleus of irregular shape after application of the drug

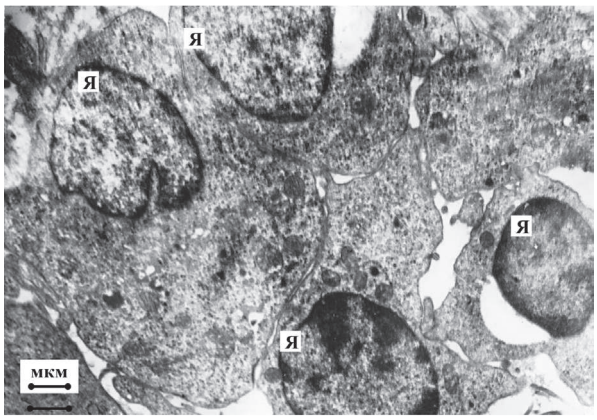

Рис. 7. Група малих пухлинних клітин карциноми Герена після застосування препарату
Fig. 7. Group of small tumor cells of Guerin's carcinoma after application of the drug

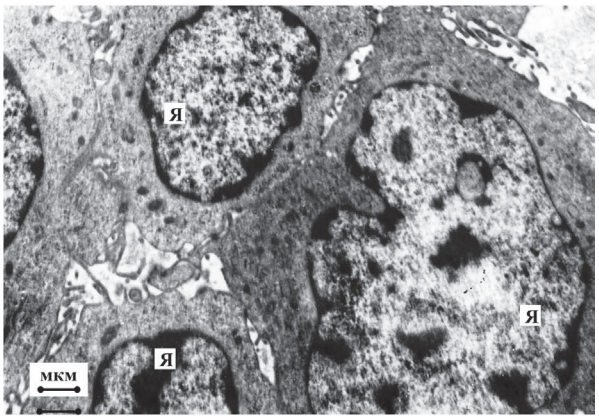

Рис. 8. Пухлинна клітина карциноми Герена з великим ядром неправильної форми та 2 малих пухлин після ікс-опромінення у сумарній дозі 10 Гр
Fig. 8. Tumor cell of Guerin's carcinoma with large nucleus of irregular shape and 2 small tumor cells after x-irradiation in a total dose of 10 Gy

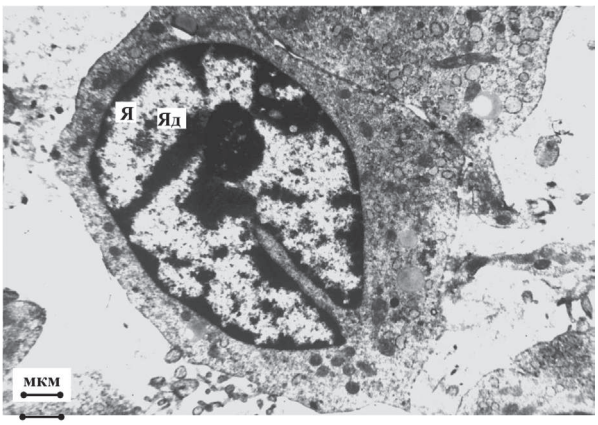

Рис. 9. Пухлинна клітина карциноми Герена після ікс-опромінення у сумарній дозі 10 Гр з плейоморфним ядром, чіткими ядерцями та звичайними органелами у цитоплазмі
Fig. 9. Tumor cell of Guerin's carcinoma after x-irradiation in a total dose of 10 Gy with pleiomorphic nucleus, distinct nucleoli and normal organelles in the cytoplasm

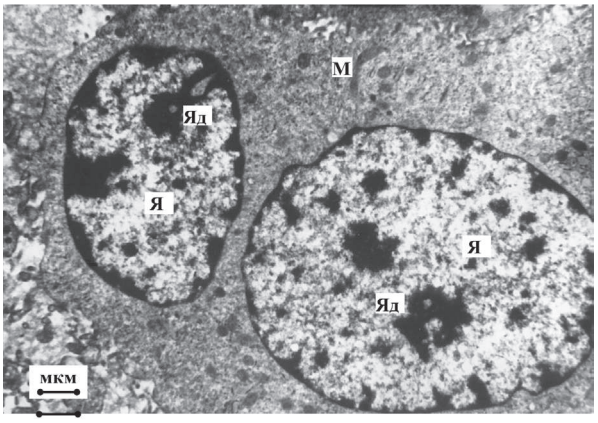

Рис. 10. Двоядерна пухлинна клітина, ядра якої містять грудкуватий хроматин, після ікс-опромінення у сумарній дозі 10 Гр
Fig. 10. Dinuclear tumor cell, the nuclei of which contain lumpy chromatin after x-irradiation in a total dose of 10 Gy

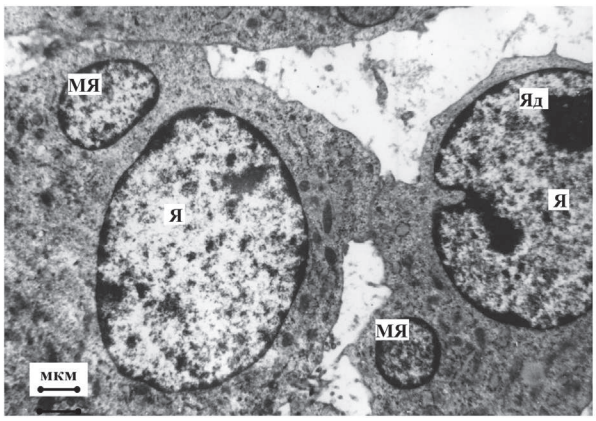

Рис. 11. Мікроядра у пухлинних клітинах карциноми Герена після ікс-опромінення у сумарній дозі 10 Гр. МЯ – мікроядро
Fig. 11. Micronucleus in one of the tumor cells of Guerin's carcinoma after x-irradiation in a total dose of 10 Gy. МЯ – micronucleus

Частіше виявляються ПК у стані апоптичної загибелі, хоча рівень апоптозу значно не відхиляється від контролю (табл. 3). Це відповідає попереднім спостереженням, які свідчать, що пострадіаційний апоптоз у пухлинах Герена сягає максимуму через 6 годин,

TCs in a state of apoptotic death are more often found, though the level of apoptosis does not deviate considerably from control (Table 3). This corresponds to previous observations, which show that post-radiation apoptosis in Heren tumors reaches a maximum after 6 hours, while

тоді як на першу добу після опромінення його рівень знижується до майже нормальних значень [15]. Збільшується також кількість темних функціонально неактивних ПК, які часто розташовуються групами. Активнішими стають макрофаги, у цитоплазмі яких накопичуються вторинні лізосоми та великі фагосоми (рис. 12).

on the 1st day after irradiation, its level decreases to almost normal values [15]. The number of dark functionally inactive TCs, which are often arranged in groups, is also increasing. Macrophages, in the cytoplasm of which secondary lysosomes and large phagosomes accumulate, become more active (Fig. 12).

Таблиця 3. Індекс апоптозу у пухлині Герена після сумісного застосування мелоксикаму та опромінення у сумарних дозах 1,0 та 10 Гр, %
Table 3. Apoptosis index in Guerin's tumor after co-administration of meloxicam and irradiation in total doses of 1,0 and 10 Gy, %

Серії дослідження Series under study	Групи дослідження / Groups under study			
	Опромінення (О) Irradiation (I)		Уведення мелоксикаму та опромінення (МО) Meloxicam administration and irradiation, (MI)	
	n	X±Sx	n	X±Sx
Інтактний контроль Intact control	4	0,13 ± 0,13	–	–
Уведення мелоксикаму Meloxicam administration	7	0,18 ± 0,09	–	–
Опромінення у дозі 10 Гр Irradiation at a dose of 10 Gy	6	0,12 ± 0,08	6	0,39 ± 0,21*
Опромінення у дозі 1,0 Гр Irradiation at a dose of 1,0 Gy	5	0,07 ± 0,08	5	0,32 ± 0,14*

Примітки:
* – достовірно у порівнянні з групою О ($P_{мп}$), ($p \leq 0,05$)
Notes:
* – significant in comparison with group I (P_{mp}), ($p \leq 0,05$)

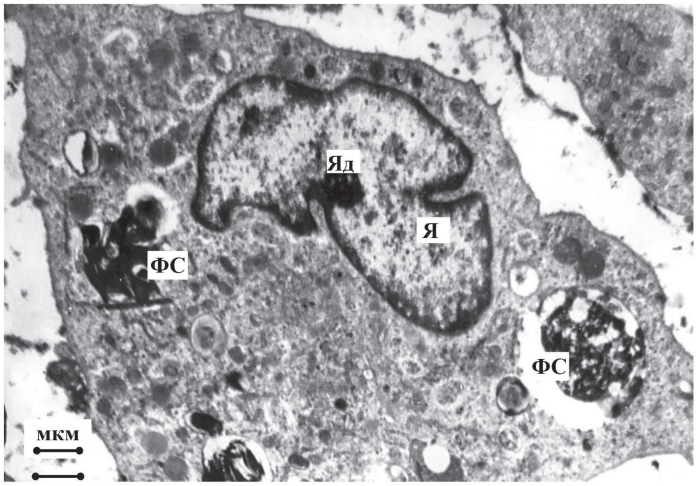

Рис. 12. Активний макрофаг у карциномі Герена після ікс-опромінення у сумарній дозі 10 Гр з невеликим світлим ядром примхливої форми, та фагосомами у різних стадіях розсмоктування у цитоплазмі. ФС – фагосома
Fig. 12. Active macrophage in Guerin's carcinoma after x-irradiation in a total dose of 10 Gy with a small light nucleus of irregular shape, and phagosomes in different stages of resorption in the cytoplasm. ФС –phagosome

Опромінення у сумарній дозі 10 Гр призводить також до значного зростання кількості ПК з малими ядрами, ультраструктура яких не має відхилень від групи інтактного контролю та групи з уведенням тільки препарату (табл. 1). Частина ПК зберігає ультраструктуру, притаманну інтактній пухлині.

Опромінення у сумарній дозі 1,0 Гр викликає менш виражені порушення ультраструктури у пухлині, ніж це відзначається при великій дозі. Лише деякі ПК несуть ознаки радіаційної дії, про що свідчить присутність окремих двоядерних клітин, незначної кількості плейоморфних ядер та мікроядер. При цій дозі не відбувається ані апоптичної загибелі, ані активації макрофагів, які містять лише окремі первинні лізосоми (рис. 13). Однак при обох дозах показники мітотичної активності і частоти клітин з малими ядрами залишаються на

Irradiation at a total dose of 10 Gy also leads to a significant increase in the number of TCs with small nuclei, the ultrastructure of which has no deviations from the group of intact control and the group with the introduction of only the drug (Table 1). The part of the TC preserves the ultrastructure typical for an intact tumor.

Irradiation at a total dose of 1 Gy leads to less pronounced damage of the ultrastructure in the tumor than is observed at high doses. Only some TCs show signs of radiation exposure, as evidenced by the presence of individual dinuclear cells, a small number of pleomorphic nuclei and micronuclei. At this dose, neither macrophages, which contain only individual primary lysosomes, nor apoptotic death are activated. (Fig. 13). However, at both doses, the indicators of mitotic activity and frequency of cells with small nuclei remain at the same level, low –

однаковому рівні, низькому – для мітотичного індексу, і збільшеному – для частоти дрібних ПК.

for the mitotic index and increased – for the frequency of small TCs.

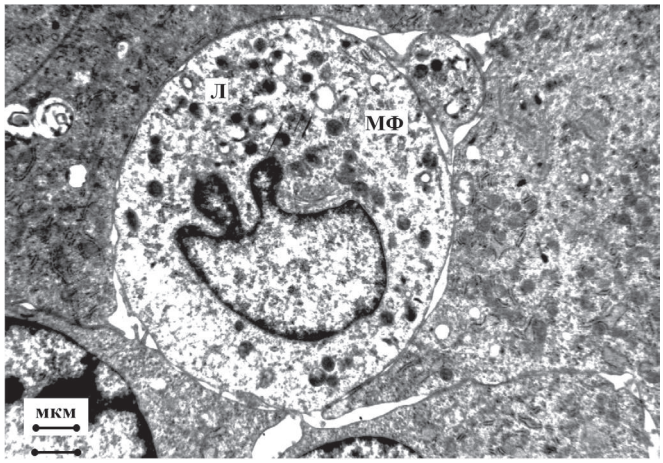

Рис. 13. Малоктивний макрофаг у карциномі Герена після ікс-опромінення у сумарній дозі 1,0 Гр, з первинними лізосомами у цитоплазмі серед пухлинних клітин
Fig. 13. Inactive macrophage in Guerin's carcinoma after x-irradiation in a total dose of 1,0 Gy, with primary lysosomes in the cytoplasm among tumor cells

При сумісному застосуванні препарату та опромінення у сумарній дозі 10 Гр порушення у ядрах ПК подібні до тих, що спостерігаються при дії тільки радіації: наявність двоядерних клітин, ПК з мікроядрами та плейоморфними ядрами, збільшення кількості клітин у стані апоптичної та темноклітинної загибелі. Але при цьому зниження мітотичної активності у пухлинній тканині сягає найнижчих значень серед усіх досліджених груп, чому, очевидно, сприяє радіаційне ураження ядерного апарату, посилене дією мелоксивету.

Комбінована дія обох факторів призводить також до вірогідного зростання індексу апоптозу в цій серії у порівнянні з дією тільки опромінення, що вказує на участь мелоксикаму у стимуляціїі цього процесу. Виразнішою стає у цій серії і фагоцитарна активність, про що свідчить не тільки наявність макрофагів з великою кількістю вторинних лізосом та фагосом у різних стадіях розсмоктування, але й явище еміграції моноцитів з судин, очевидно, для поповнення пулу макрофагів (рис. 14). Кількість ПК з дрібними ядрами у цій серії значимо вище не тільки у порівнянні з інтактним контролем, але й з групою опромінення. І знов прослідковується закономірність між розміром ПК та ступенем проліферативної активності.

When combining the drug and irradiation in a total dose of 10 Gy, the disorders in TC nuclei are similar to those ones observed under radiation only: the presence of dinuclear cells, TC with micronuclei and pleomorphic nuclei, an increase in the number of cells in apoptotic and dark cell death. However, the decrease in mitotic activity in tumor tissue reaches the lowest values among all the studied groups, which, apparently, contributes to the radiation damage to the nuclear apparatus, enhanced by the action of Meloxivet.

The combined action of both factors also leads to a reliable increase in the index of apoptosis in this series in comparison with the action of radiation alone, which indicates the participation of meloxicam in the stimulation of this process. Phagocytic activity also becomes more pronounced in this series, as evidenced not only by the presence of macrophages with a large number of secondary lysosomes and phagosomes at different stages of resorption, but also by the phenomenon of monocyte emigration from blood vessels, apparently to replenish the macrophage pool (Fig. 14). The number of TCs with small nuclei in this series is significantly higher not only in comparison with intact control, but also with the irradiation group. And again there is a regularity between the size of the TC and the degree of proliferative activity.

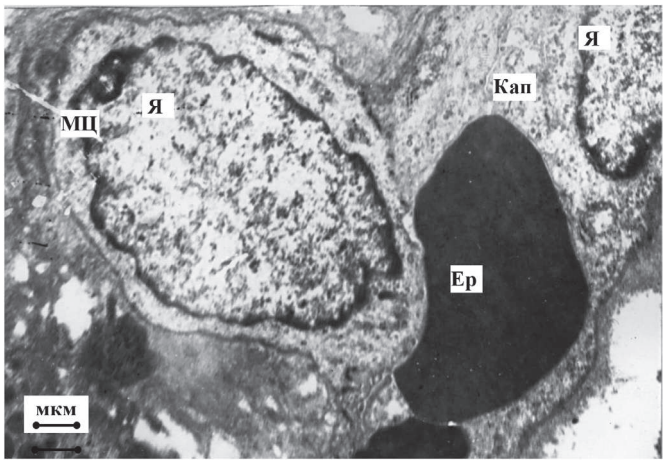

Рис. 14. Моноцит у карциномі Герена після ікс-опромінення у сумарній дозі 10 Гр, який мігрує з капілярної судини до пухлинної тканини. МЦ – моноцит, Кап – капіляр
Fig. 14. Monocyte in Guerin's carcinoma after x-irradiation in a total dose of 10 Gy, which migrates from the capillary vessel to the tumor tissue. МЦ – monocyte, Кап – capillary

Ультраструктурні порушення у пухлинах тварин при дії мелоксикаму та радіації у сумарній дозі 1 Гр ідентичні тим, які викликає одне опромінення у такій дозі. Це окремі пострадіаційні ураження ядер ПК, та відсутність активації макрофагів. Проте ультраструктура малих клітинних форм перетерплює більш виразні зміни. У частині з них ядра набувають спотвореної форми, цитоплазма наповнюється невеликими прозорими вакуолями (рис. 15), у деяких виявляються великі фагосоми у стані розсмоктування свого вмісту (рис. 16). Вплив мелоксикаму у пухлинах цієї групи проявляється у достовірних змінах таких показників, як апоптичний індекс та частота ПК з дрібними ядрами. Так, у цій серії, як і при комбінації препарату з опроміненням у дозі 10 Гр, індекс АП зростає до значень, найвищих серед усіх досліджених груп, що може бути наслідком механізму поновлення процесу апоптозу, шляхом пригнічення циклооксигенази-2, за допомогою мелоксикаму. Частота дрібних клітин при сумісній дії опромінення в обох дозах і препарату достовірно вище у порівнянні з одним тільки опроміненням.

Ultrastructural disturbances in animal tumors under the action of meloxicam and radiation in a total dose of 1 Gy are identical to those caused by a single irradiation at such a dose. These are isolated post-radiation lesions of TC nuclei, and lack of macrophage activation, although the ultrastructure of small cell forms undergoes more pronounced changes. In some of them the nuclei acquire a distorted shape, the cytoplasm is filled with small transparent vacuoles (Fig. 15), in some – large phagosomes are found in the state of resorption of their contents (Fig. 16). The effect of meloxicam in tumors of this group is manifested in significant changes in such indicators as the apoptotic index and the frequency of TCs with small nuclei. Thus, in this series, as in the combination of the drug with irradiation at a dose of 10 Gy, the AP index increases to the highest values among all studied groups, which may be due to the mechanism of resumption of apoptosis by inhibition of cyclooxygenase-2 by meloxicam. The frequency of small cells with the combined action of irradiation in both doses and the drug is significantly higher compared to one irradiation.

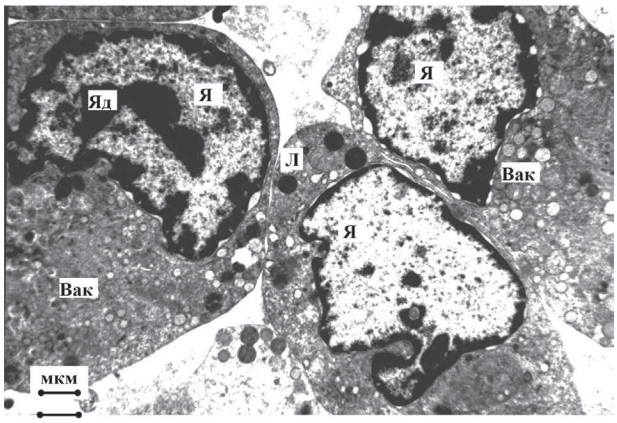

Рис. 15. Дрібні пухлинні клітини з ядрами спотвореної форми та вакуолізованою цитоплазмою у карциномі Герена після введення препарату та опромінення у сумарній дозі 1,0 Гр
Fig. 15. Small tumor cells with distorted nuclei and vacuolated cytoplasm in Guerin's carcinoma after drug administration and irradiation. in a total dose of 1,0 Gy

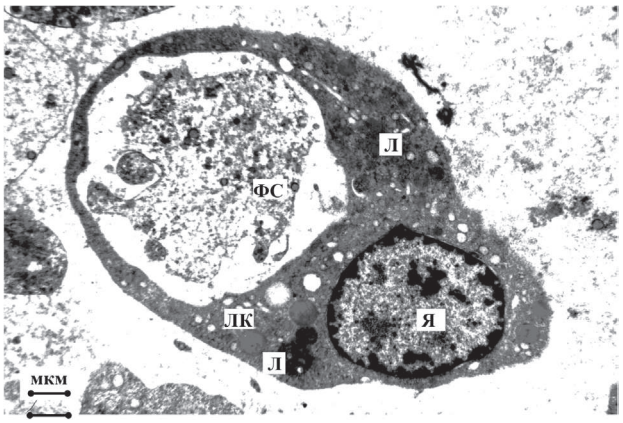

Рис. 16. Велика фагосома у стані розсмоктування свого вмісту у малій пухлинній клітини карциноми Герена після введення препарату та опромінення у дозі 1,0 Гр
Fig. 16. Large phagosome in the state of resorption of its contents in a small tumor cell of Guerin's carcinoma after drug administration and irradiation in a total dose of 1,0 Gy

Таким чином, проведені дослідження показали, що фракційне ікс-опромінення пухлини Герена у сумарній дозі 10 Гр викликає порушення ультраструктури ПК, переважно пов'язані з ураженням ядерного апарату клітин. Спостерігається плеоморфізм ядер, поява двоядерних ПК та мікроядер, достовірне падіння проліферативної активності, деяке підвищення індексу апоптозу. Відзначається також стимуляція функціональної діяльності макрофагів. При дії радіації у сумарній дозі 1,0 Гр подібні ефекти виражені менше, або зовсім відсутні, як, наприклад, процеси фагоцитозу. Показник частоти ПК з малими ядрами однаково вірогідно підвищений при обох дозах опромінення.

Уведення мелоксикаму приводить до достовірного зниження проліферативної активності, що може відбуватися внаслідок аресту клітинного циклу, як це спостерігається для інших НПЗП [19], а також до зростання частоти малих клітин. При цьому ультраструктурна картина пухлини майже не змінюється.

При сумісній дії радіації в обох дозах та мелоксикаму порушення тонкої будови ПК ідентичні тим, що виявляються при одному тільки опроміненні. Поряд з тим додаткове застосування препарату перед опроміненням у сумарній дозі 10 Гр приводить до більш

Thus, studies have shown that fractional X-irradiation of Heren tumor at a total dose of 10 Gy causes disturbances in the ultrastructure of the TC, mainly associated with damage to the nuclear apparatus of cells. There is pleomorphism of nuclei, the appearance of dinuclear TCs and micronuclei, a significant decrease in proliferative activity, some increase in the apoptosis index. Stimulation of functional activity of macrophages is also observed. When exposed to radiation in a total dose of 1 Gy, such effects are less pronounced or absent, e.g. phagocytosis. The frequency index of TCs with small nuclei is equally likely to increase at both doses.

Administering meloxicam leads to a significant decrease in proliferative activity, which may occur due to cell cycle arrest, as observed for other NSAIDs [19], as well as to an increase in the frequency of small cells. At the same time, the ultrastructural picture of a tumor almost does not change.

With the combined action of radiation in both doses and meloxicam, the disorders of the fine TC structure are identical to those ones detected by a single irradiation. The additional use of the drug before irradiation in a total dose of 10 Gy leads to a more pronounced decrease in the mitotic index than under the action of a single

виразного зниження мітотичного індексу, ніж при дії одного опромінення (p ≤ 0,05). Крім того, при обох дозах достовірно зростає частота малих форм ПК, на відміну від показників не тільки у групі інтактного контролю, але й у серії опромінення у відповідній дозі. Тільки у комбінації з опроміненням мелоксикам значно стимулює апоптоз, тоді як в інших серіях його індекс залишається на рівні контрольних значень.

Була підтверджена залежність, яка постійно виявлялася в усіх експериментальних групах, між зниженням рівня мітотичного індексу у карциномі Герена і зростанням частки ПК з малими ядрами. Встановлена наявність зворотного кореляційного зв'язку між цими показниками при r = 0,80, та P = 0,05.

irradiation (P≤ 0.05). Besides, at both doses, the frequency of small forms of TC increases significantly, in contrast to the indicators not only in the group of intact control, but also in the series of irradiation at the appropriate dose. Only in combination with irradiation, meloxicam significantly stimulates apoptosis, while in other series its index remains at the level of control values.

The relationship between the decrease in the level of the mitotic index in Heren carcinoma and the increase in the proportion of TCs with small nuclei was confirmed in all experimental groups. The presence of an inverse correlation between these indicators was established at r = 0.80, and P = 0.05.

ВИСНОВКИ

1. Локальне фракційне ікс-опромінення карциноми Герена через 1 добу викликає виразні пострадіаційні порушення ультраструктури пухлинних клітин, пов'язані з ураженням клітинного ядра, менш виражені при застосуванні радіації у сумарній дозі 1,0 Гр, ніж при дозі 10 Гр.

2. Мелоксикам, не впливаючи на тонку будову клітин карциноми Герена, помітно гальмує проліферативну активність у пухлині на тлі зростання у ній частоти ПК з малими ядрами.

3. При сумісній дії обох досліджуваних чинників зміни ультраструктури в пухлині обумовлюються переважно опроміненням.

4. Уведення мелоксикаму підвищує ефективність сумісного застосування обох терапевтичних факторів внаслідок його властивості достовірно гальмувати проліферативну активність та сприяти пострадіаційному розвитку апоптозу у пухлинній тканині.

5. Наявність кореляційної залежності між мітотичним індексом та частотою клітин з дрібними ядрами у пухлині Герена може свідчити про взаємозв'язок процесів клітинного росту і ділення.

CONCLUSIONS

1. Local fractional X-irradiation of Heren carcinoma after 1 day causes pronounced post-radiation disorders of the ultrastructure of tumor cells associated with cell nucleus damage, less pronounced when using radiation at a total dose of 1,0 Gy than at a dose of 10 Gy.

2. Meloxicam, without affecting the fine structure of Heren carcinoma cells, markedly inhibits the proliferative activity in the tumor against the background of increasing frequency of TCs with small nuclei.

3. In case of combined action of both investigated factors, changes of ultrastructure in a tumor are caused mainly by irradiation.

4. Administering meloxicam increases the effectiveness of the combined use of both therapeutic factors due to its ability to significantly inhibit proliferative activity and promote post-radiation development of apoptosis in tumor tissue.

5. The presence of a correlation between the mitotic index and the frequency of cells with small nuclei in Heren tumor may indicate the relationship between cell growth and division.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Tobore O. T. On the Need for the Development of a Cancer Early Detection, Diagnostic, Prognosis, and Treatment Response System. *Future Science OA.* 2019. Vol. 6, № 2. FSO439. DOI: https://doi.org/10.2144/fsoa-2019-0028
2. Sarmento-Ribeiro A. B., Scorilas A., Gonçalves A. C., Efferth T., Trougakos I. P. The Emergence of Drug Resistance to Targeted Cancer Therapies: Clinical Evidence. *Drug Resistance Updates.* 2019. Vol. 47. 100646 p. DOI: https://doi.org/10.1016/j.drup.2019.100646
3. Vasan N., Baselga J., Hyman D. M. A View on Drug Resistance in Cancer *Nature*. 2019. Vol. 575, № 7782. P. 299–309. DOI: https://doi.org/10.1038/s41586-019-1730-1
4. Курсов С. В., Никонов В. В. Циклооксигеназа: физиологические эффекты, действие нгибиторов, перспективы дальнейшего использования парацетамола (аналитический обзор). *Медицина неотложных состояний.* 2016. Т. 76, № 5. С. 27–35.
5. Goradel N., Najafi H. M., Salehi E., Farhood B., Mortezaee K. Cyclooxygenase-2 in cancer: A review. J*ournal of Cellular Physiology.* 2019. Vol. 234, № 5. P. 5683–5699. DOI: https://doi.org/10.1002/jcp.27411
6. Pang L. Y., Hurst T. A., Argyle D. J. A role in cancer stem cell survival and repopulation of cancer cells during therapy. *Stem Cells International.* 2016. Vol. 2016. 2048731 p. DOI: https://doi.org/10.1155/2016/2048731
7. Wang Q., Lu D., Fan L., Li Y., Liu Y., Yu H., Wang H., Liu J., Sun G. COX-2 induces apoptosis-resistance in hepatocellular carcinoma cells via the HIF-1α/PKM2 pathway. I*nternational Journal of Molecular Medicine.* 2019. Vol. 43(1). P. 475–488. DOI: https://doi.org/10.3892/ijmm.2018.3936
8. Liu B., Qu L., Yan S. Cyclooxygenase-2 promotes tumor growth and suppresses tumor immunity. *Cancer Cell International.* 2015. Vol. 15. 106 p. DOI: https://doi.org/10.1186/s12935-015-0260-7
9. Мітряєва Н. А., Гребінік Л. В., Узлєнкова Н. Є. Вплив комбінованої дії х-випромінення та інгібітора циклооксигенази-2 – мелоксивету на вміст VEGF та PGE-2 у сироватці крові щурів/пухлиноносіїв.

REFERENCES

1. Tobore OT. On the Need for the Development of a Cancer Early Detection, Diagnostic, Prognosis, and Treatment Response System. *Future Science OA.* 2019;6(2): FSO439. (In English). DOI: https://doi.org/10.2144/fsoa-2019-0028
2. Sarmento-Ribeiro AB, Scorilas A, Gonçalves AC, Efferth T., Trougakos IP. The Emergence of Drug Resistance to Targeted Cancer Therapies: Clinical Evidence. *Drug Resistance Updates.* 2019;47:100646. (In English). DOI: https://doi.org/10.1016/j.drup.2019.100646
3. Vasan N, Baselga J, Hyman DM. A View on Drug Resistance in Cancer *Nature.* 2019;575(7782):299–309. (In English). DOI: https://doi.org/10.1038/s41586-019-1730-1
4. Kursov SV, Nikonov VV. Cyclooxygenase: physiological effects, the effect of inhibitors, prospects for further use of paracetamol (analytical review). *Emergency medicine.* 2016;76(5):27–35. (In Russian).
5. Goradel N, Najafi HM, Salehi E, Farhood B, Mortezaee K. Cyclooxygenase-2 in cancer: A review. *Journal of Cellular Physiology.* 2019;234(5):5683–99. (In English). DOI: https://doi.org/10.1002/jcp.27411
6. Pang LY, Hurst TA, Argyle DJ. A role in cancer stem cell survival and repopulation of cancer cells during therapy. *Stem Cells International.* 2016;2016:2048731. (In English). DOI: https://doi.org/10.1155/2016/2048731
7. Wang Q, Lu D, Fan L, Li Y, Liu Y, Yu H, Wang H, Liu J, Sun G. COX-2 induces apoptosis-resistance in hepatocellular carcinoma cells via the HIF-1α/PKM2 pathway. *International Journal of Molecular Medicine.* 2019;43(1):475–88. (In English). DOI: https://doi.org/10.3892/ijmm.2018.3936
8. Liu B, Qu L, Yan S. Cyclooxygenase-2 promotes tumor growth and suppresses tumor immunity. *Cancer Cell International.* 2015;15:106. (In English). DOI: https://doi.org/10.1186/s12935-015-0260-7
9. Mitryaeva NA, Grebinik LV, Uzlankova NYu. Injection of a combined type of hypotension and an ingibitor of cyclooxygenase-2 – meloxiveta on the place of VEGF and PGE-2 in syrovate blood of thyroid/swelling.

Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2019. Вип. 24. С. 261–269. DOI: https://doi.org/10.33145/2304-8336-2019-24-261-269
10. Lin F., Luo J., Gao W., Wu J., Shao Z. et al. COX-2 promotes breast cancer cell radioresistance via p38/MAPK-mediated cellular anti-apoptosis and invasiveness. *Tumour Biology.* 2013. Vol. 34(5). P. 2817–2826. DOI: https://doi.org/10.1007/s13277-013-0840-x
11. Sato A., Mizobuchi Y., Nakajima K., Shono K., Fujihara T. et al. Blocking COX-2 induces apoptosis and inhibits cell proliferation via the Akt/survivin- and Akt/ID3 pathway in low-grade-glioma. *Journal of Neuro-Oncology.* 2017. Vol. 132(2). P. 231–238. DOI: https://doi.org/10.1007/s11060-017-2380-5
12. Mohammed A., Yarla N. S., Madka V., Rao C. V. Clinically Relevant Anti-Inflammatory Agents for Chemoprevention of Colorectal. Cancer: New Perspectives. *International Journal of Molecular Science*. 2018. Vol. 19(8). DOI: https://doi.org/10.3390/ijms19082332.
13. Li S., Jiang M., Wang L., Yu S. Combined chemotherapy with cyclo-oxygenase-2 (COX-2) inhibitors in treating human cancers: Recent advancement. *Biomedicine & Pharmacotherapy.* 2020. Vol. 129. 110389 p. DOI: https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110389.
14. Лукашова О. П. Вплив дрібно фракціонованого ікс-випромінення у сумарній дозі 10 Гр та етопозиду на ультраструктуру клітин карциноми Герена. *Український радіологічний журнал.* 2016. № 1. С. 14–21.
15. Лукашова О. П. Дія іонізувальної радіації та препарату «Етопозид» на процеси апоптозу та ультраструктуру клітин карциноми. *Український радіологічний журнал.* 2013. № 1. С. 56–63.
16. Harris J. R., Richwood D., Hames B. D. Electron microscopy in biology. In the practical approach series. *University Press.* 1991. 308 p.
17. Сусликов В. И. Максимально правдоподобная оценка достоверности различия между результатами наблюдения, когда ожидаемое количество особей с наличием эффекта или его отсутствием в одной (или нескольких) группе (группах) меньше пяти. *Тезисы докладов 2-й Всесоюзной Конференции по фармакологии противолучевых препаратов.* 1972. 38 с.
18. Harmon B. V. An ultrastructural study of spontaneous cell death in a mouse mastocytoma with particular reference to dark cells. *Journal of Pathology.* 1987. Vol. 153, № 4. P. 345–355. DOI: https://doi.org/10.1002/path.1711530408
19. Shi T., Fujita K., Gong J., Nakahara M., Iwama H. et al. Aspirin inhibits hepatocellular carcinoma cell proliferation in vitro and in vivo via inducing cell cycle arrest and apoptosis. *Oncology Reports.* 2020. Vol. 44, № 2. P. 457–468. DOI: https://doi.org/10.3892/or.2020.7630

Problems of radioactive medicine and radiobiology. 2019;24:261–9. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.33145/2304-8336-2019-24-261-269
10. Lin F, Luo J, Gao W, Wu J, Shao Z. et al. COX-2 promotes breast cancer cell radioresistance via p38/MAPK-mediated cellular anti-apoptosis and invasiveness. *Tumour Biology.* 2013;34(5):2817–26. (In English). DOI: https://doi.org/10.1007/s13277-013-0840-x
11. Sato A, Mizobuchi Y, Nakajima K, Shono K, Fujihara T et al. Blocking COX-2 induces apoptosis and inhibits cell proliferation via the Akt/survivin- and Akt/ID3 pathway in low-grade-glioma. *Journal of Neuro-Oncology.* 2017;132(2):231–8. (In English). DOI: https://doi.org/10.1007/s11060-017-2380-5
12. Mohammed A, Yarla NS, Madka V, Rao CV. Clinically Relevant Anti-Inflammatory Agents for Chemoprevention of Colorectal. Cancer: New Perspectives. *International Journal of Molecular Science*. 2018;19(8). (In English). DOI: https://doi.org/10.3390/ijms19082332.
13. Li S, Jiang M, Wang L, Yu S. Combined chemotherapy with cyclo-oxygenase-2 (COX-2) inhibitors in treating human cancers: Recent advancement. *Biomedicine & Pharmacotherapy.* 2020;129:110389. (In English). DOI: https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110389.
14. Lukashova OP. Influence of finely fractionated X-rays at a total dose of 10 Gy and etoposide on the ultrastructure of Guerin's carcinoma cells. *Ukrainian Radiological Journal.* 2016;1:14–21. (In Ukrainian).
15. Lukashova OP. The effect of ionizing radiation and the drug «Etoposide» on the processes of apoptosis and ultrastructure of carcinoma cells. *Ukrainian Radiological Journal.* 2013;1:56–63. (In Ukrainian).
16. Harris JR, Richwood D, Hames BD. Electron microscopy in biology. In the practical approach series. *University Press.* 1991;308.
17. Suslikov VI The most plausible assessment of the reliability of the difference between the results of observation, when the expected number of individuals with the presence of the effect or its absence in one (or several) group (groups) is less than five. *Abstracts of reports 2nd All-Union Conference on Pharmacology of Anti-Radiation Drugs.* 1972;38. (In Russian).
18. Harmon BV. An ultrastructural study of spontaneous cell death in a mouse mastocytoma with particular reference to dark cells. *Journal of Pathology.* 1987;153(4):345–55. (In English). DOI: https://doi.org/10.1002/path.1711530408
19. Shi T, Fujita K, Gong J, Nakahara M, Iwama H et al. Aspirin inhibits hepatocellular carcinoma cell proliferation in vitro and in vivo via inducing cell cycle arrest and apoptosis. *Oncology Reports.* 2020;44(2):457–68. (In English). DOI: https://doi.org/10.3892/or.2020.7630

Перспективи подальших досліджень

У подальших дослідженнях планується вивчення протипухлинної дії інгібіторів ЦОГ-2 не тільки в експерименті, але й у хворих на рак різної локалізації, оскільки електронномікроскопічний метод дозволяє візуалізовати та оцінити структурно-функціональний стан усіх компонентів пухлини, зокрема оточуючого середовища. Співставлення діагностичних та прогностичних маркерів з ультраструктурою цих тканин може розширити уявлення про механізми впливу терапії інгібіторами ЦОГ-2.

Prospects for further research

Further research is planned to be focused on studying the antitumor effect of COX-2 inhibitors not only in the experiment, but also in patients with cancer of different localization, since the electron microscopic method makes it possible to visualize and assess the structural and functional state of all tumor components, including the environment. Comparison of diagnostic and prognostic markers with the ultrastructure of these tissues may enhance the understanding of the mechanisms of action of COX-2 inhibitor therapy.

Конфлікт інтересів

Автор заявляє про відсутність конфлікту інтересів.

Conflict of interest

The author have no conflicts of interest to declare.

Інформація про фінансування

Фінансування видатками Державного бюджету України.

Funding information

Financed by the state budget of Ukraine.

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРА

Лукашова Ольга Петрівна – кандидат біологічних наук, провідний науковий співробітник лабораторії радіаційної онкології Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України»; вул. Пушкінська, буд. 82, м. Харків, Україна, 64024;

e-mail: olga.petrovna.Lukashova@gmail.com

моб.: +38 (050) 780-63-90

Внесок автора: *одержання та обробка експериментальних даних, аналіз результатів, написання статті.*

INFORMATION ABOUT AUTHOR

Lykashova Olga Petrivna – Candidate of Biological Sciences, leading researcher of Laboratory of Radiation Oncology, Radiology Department State of Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»; 82, Pushkinska Str., Kharkiv, Ukraine, 61024;

e-mail: olga.petrovna.Lukashova@gmail.com

tel.: +38 (050) 780-63-90

Author's contribution: *obtaining and processing experimental data, analysis of the results and writing the article.*

Рукопис надійшов *Manuscript was received* 05.07.2021	Отримано після рецензування *Received after review* 27.07.2021	Прийнято до друку *Accepted for printing* 11.08.2021	Опубліковано *Published* 29.09.2021