

DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.676530>

EDN: WJRCFA

Количественная характеристика популяции тучных клеток селезёнки лабораторных мышей при экспериментальном облучении рентгеновским излучением

И.А. Одинцова, С.Э. Русакова, Д.Р. Слуцкая, Е.В. Мурзина, М.А. Трофимов

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

АННОТАЦИЯ

Обоснование. Количественная и морфофункциональная характеристики тучных клеток могут служить одним из показателей реактивности тканей в ответ на радиационное воздействие, а также критерием компенсаторно-приспособительных процессов после облучения и при использовании радиопротекторов.

Цель — представить морфофункциональную и количественную характеристики тучных клеток селезёнки лабораторных мышей при фракционированном общем рентгеновском облучении и пероральном введении бета-D-глюкана.

Методы. Проведено экспериментальное одноцентровое проспективное сплошное контролируемое исследование. Объект исследования — образцы селезёнки лабораторных мышей ($n=23$). Количественно оценивали популяцию тучных клеток на гистологических срезах селезёнки. Мышей разделили на 5 групп: 1 — интактные животные ($n=3$); 2 — облучённые животные с суммарной поглощённой дозой 7 Гр ($n=5$); 3 — облучённые мыши с суммарной поглощённой дозой 7 Гр, которым перорально вводили растворимую форму бета-D-глюкана за 15 мин до облучения ($n=5$); 4 — облучённые животные с суммарной поглощённой дозой 18 Гр ($n=5$); 5 — облучённые мыши с суммарной поглощённой дозой 18 Гр, которым перорально вводили растворимую форму бета-D-глюкана за 15 мин до облучения ($n=5$). Взятие материала осуществляли на 14 и 30 сутки после начала экспериментального воздействия. Образцы фиксировали в 10% растворе забуференного формалина, обезвоживали в спиртах и заливали в парафин. Срезы окрашивали по методу Романовского–Гимзы. На каждом гистологическом препарате оценивали структуру и подсчитывали количество тучных клеток. Проводили статистическую обработку полученных данных.

Результаты. Плотность расположения тучных клеток в селезёнке лабораторных мышей при поглощённой суммарной дозе облучения 7 Гр изменилась незначительно по сравнению с интактными животными. При суммарной поглощённой дозе 18 Гр отмечено значительное увеличение плотности расположения и функциональной активности тучных клеток. Предварительное введение бета-D-глюкана перед облучением в суммарной поглощённой дозе 7 Гр снижает количество тучных клеток в 2,5 раза, а при суммарной дозе 18 Гр — в 1,25 раза по сравнению с облучёнными животными без введения препарата (группа сравнения 4).

Заключение. Плотность расположения тучных клеток в селезёнке зависит от поглощённой дозы рентгеновского излучения. Введение бета-D-глюкана за 15 мин до воздействия снижает плотность расположения тучных клеток, что, вероятно, можно рассматривать как положительный радиопротекторный эффект.

Ключевые слова: рентгеновское излучение; облучение; лабораторные мыши; селезёнка; тучные клетки; реактивность.

Как цитировать:

Одинцова И.А., Русакова С.Э., Слуцкая Д.Р., Мурзина Е.В., Трофимов М.А. Количественная характеристика популяции тучных клеток селезёнки лабораторных мышей при экспериментальном облучении рентгеновским излучением // Морфология. 2025. Т. 163, № 4. С. 283–292. DOI: 10.17816/morph.676530 EDN: WJRCFA

DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.676530>

EDN: WJRCFA

Quantitative Characteristics of Splenic Mast Cells of Laboratory Mice Following Experimental X-Ray Irradiation

Irina A. Odintsova, Svetlana E. Rusakova, Dina R. Slutskaya, Elena V. Murzina, Maksim A. Trofimov

Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia

ABSTRACT

BACKGROUND: The quantitative and morphofunctional characteristics of mast cells can serve as an indicator of tissue reactivity in response to radiation exposure, as well as a criterion for compensatory-adaptive processes after irradiation and the use of radioprotectors.

AIM: The work aimed to present the morphofunctional and quantitative characteristics of splenic mast cells of laboratory mice following fractionated total X-ray irradiation and oral administration of beta-D-glucan.

METHODS: An experimental, single-center, prospective, controlled study was conducted. Spleen samples from laboratory mice ($n = 23$) were assessed. The population of mast cells was quantitatively assessed on histological sections of the spleen. The mice were divided into 5 groups: Group 1 included intact animals ($n = 3$); Group 2 included irradiated animals with a total absorbed dose of 7 Gy ($n = 5$); Group 3 included irradiated animals with a total absorbed dose of 7 Gy who received oral soluble beta-D-glucan 15 minutes before irradiation ($n = 5$); Group 4 included irradiated animals with a total absorbed dose of 18 Gy ($n = 5$); Group 5 included irradiated animals with a total absorbed dose of 18 Gy who received oral soluble beta-D-glucan 15 minutes before irradiation ($n = 5$). Samples were collected on days 14 and 30 after the start of experimental exposure. Samples were fixed in 10% buffered formalin, dehydrated in alcohol, and embedded in paraffin. The Romanowsky–Giemsa staining was used. The structure and number of mast cells were assessed on each histological slide. Statistical analysis of the findings was performed.

RESULTS: The density of mast cells in the spleen of laboratory mice at an absorbed dose of 7 Gy changed insignificantly compared to the intact group. At a total absorbed dose of 18 Gy, there was a significant increase in the density and functional activity of mast cells. Beta-D-glucan administration before irradiation at a total absorbed dose of 7 Gy and 18 Gy reduced the number of mast cells by 2.5 times and 1.25 times, respectively, compared to irradiated animals without beta-D-glucan administration (Group 4).

CONCLUSION: The density of mast cells in the spleen depends on the absorbed dose of X-ray irradiation. Beta-D-glucan administration 15 minutes before exposure reduces the density of mast cells, which can be considered a positive radioprotective effect.

Keywords: X-ray radiation; irradiation; laboratory mice; spleen; mast cells; reactivity.

To cite this article:

Odintsova IA, Rusakova SE, Slutskaya DR, Murzina EV, Trofimov MA. Quantitative Characteristics of Splenic Mast Cells of Laboratory Mice Following Experimental X-Ray Irradiation. *Morphology*. 2025;163(4):283–292. DOI: 10.17816/morph.676530 EDN: WJRCFA

DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.676530>

EDN: WJRCFA

实验性放射性照射下实验小鼠脾脏肥大细胞群体的定量特征

Irina A. Odintsova, Svetlana E. Rusakova, Dina R. Slutskaya, Elena V. Murzina,
Maksim A. Trofimov

Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia

摘要

论证。肥大细胞的定量和形态功能特征可以作为辐射影响后组织反应性的指标，并且是辐射保护剂使用后适应性补偿过程的标准之一。

目的：展示小鼠脾脏中肥大细胞在分次全身X射线照射和口服 β -D-葡聚糖处理后的形态功能和定量特征。

方法。进行了一项实验性单中心前瞻性控制研究。研究对象为实验小鼠脾脏样本 ($n=23$)。在组织切片中定量评估脾脏中肥大细胞的数量。小鼠被分为五组：1 - 完整小鼠 ($n=3$)；2 - 被照射小鼠，累计吸收剂量为7Gy ($n=5$)；3 - 被照射小鼠，累计吸收剂量为7Gy，照射前15分钟口服 β -D-葡聚糖溶液 ($n=5$)；4 - 被照射小鼠，累计吸收剂量为18Gy ($n=5$)；5 - 被照射小鼠，累计吸收剂量为18Gy，照射前15分钟口服 β -D-葡聚糖溶液 ($n=5$)。在实验处理后的第14天和第30天取材。样本用10%缓冲福尔马林固定，经过酒精脱水并石蜡包埋。切片用Romanowsky-Giemsa染色。每个组织切片上评估结构并统计肥大细胞的数量。对获得的数据进行统计处理。

结果。在吸收剂量为7Gy时，脾脏中肥大细胞的密度变化与完整小鼠相比没有显著差异。而在吸收剂量为18Gy时，肥大细胞的密度和功能活动显著增加。在照射前口服 β -D-葡聚糖处理的7Gy照射组肥大细胞数量减少了2.5倍，18Gy组则减少了1.25倍，与未接受 β -D-葡聚糖的照射小鼠（比较组4）相比。

结论。脾脏中肥大细胞的分布密度依赖于X射线的吸收剂量。照射前15分钟口服 β -D-葡聚糖可以降低肥大细胞的密度，可能表现为积极的辐射保护效应。

关键词：X射线照射；辐射；实验小鼠；脾脏；肥大细胞；反应性。

To cite this article:

Odintsova IA, Rusakova SE, Slutskaya DR, Murzina EV, Trofimov MA. 实验性放射性照射下实验小鼠脾脏肥大细胞群体的定量特征. *Morphology*. 2025;163(4):283–292. DOI: 10.17816/morph.676530 EDN: WJRCFA

收到: 01.03.2025

接受: 15.04.2025

发布日期: 12.07.2025

ОБОСНОВАНИЕ

Вопросы реактивности организма после лучевого воздействия и оптимизации процессов репарации на органном и тканевом уровнях неразрывно связаны с оценкой эффекта радиации и поиском радиопротекторов как природного, так и синтетического происхождения. Доза ионизирующего излучения 1 Гр является верхней границей достаточно широкого диапазона средних доз (0,1–1,0 Гр). Для этого диапазона можно найти доказательства практически всех известных радиобиологических, эпидемиологических и медицинских последствий облучения, начиная с адаптивного ответа и радиационного гормезиса и заканчивая лёгкой формой лучевой болезни на верхней границе диапазона (1 Гр). Причём эффекты выявляются на всех уровнях организации живой материи [1]. Биологические последствия отдельных актов облучения, как и полученная организмом доза, суммируются. При этом однократное облучение большой дозой вызывает более существенные повреждения, чем многократное (фракционированное) облучение в той же суммарной дозе.

Селезёнка относится к органам периферического отдела иммунной системы. Она является классической моделью для оценки реактивности организма в ответ на облучение, течения восстановительных процессов, а также эффективности радиопротекторных препаратов [2, 3].

Современные методы исследования в биологии и медицине позволяют анализировать клетки, их взаимодействие и взаимовлияние в экспериментальных условиях. В последние десятилетия тучные клетки и их реактивность вновь являются объектом научного интереса [4, 5]. Установлено, что функциональный спектр участия тучных клеток в обеспечении постоянства гомеостаза в соединительной ткани гораздо шире, чем это представлялось ранее. Количественная и морфофункциональная характеристики дифферона тучных клеток могут служить одним из показателей реактивности тканей в ответ на радиационное воздействие, а также критерием компенсаторно-приспособительных процессов, в том числе при использовании радиопротекторов. Количественные и качественные изменения популяции тучных клеток могут использоваться в качестве диагностического критерия при выявлении и оценке отсроченных осложнений, вызванных радиацией. Кроме того, тучные клетки можно рассматривать как потенциальную мишень для действия фармакологических препаратов [6, 7]. Доказано участие тучных клеток в радиационно-индуцированном увеличении проницаемости кровеносных сосудов, а также обнаружена зависимость степени и продолжительности повышенной проницаемости от полученной дозы облучения [8]. Тучные клетки оказывают как прямое, так и опосредованное влияние на заживление ран и патологическое рубцевание, а также способствуют дифференцировке миофибробластов [9]. Разработаны терапевтические препараты, воздействующие на тучные клетки, такие

как ингибиторы дегрануляции, антигистаминные средства, ингибиторы протеаз или антагонисты рецепторов тирозинкиназы. Ведётся поиск новых терапевтических подходов для управления функциональной активностью тучных клеток при острых и хронических проявлениях осложнений лучевой терапии [10]. В своей работе R.E. Landy и соавт. [11] продемонстрировали, что синдром расстройства активации тучных клеток (Mast Cell Activation Syndrome — MCAS) приводит к хронической мультисистемной полиморбидности с аллергическим компонентом или без него.

Ионизирующее излучение — это высокоэнергетическое корпускулярное или электромагнитное излучение, способное вызывать ионизацию вещества, с которым оно взаимодействует. Биологическое действие ионизирующего излучения зависит от дозы облучения. В литературе представлено много сведений о влиянии малых доз радиации на человека и животных. Результаты исследования воздействия ионизирующего излучения в пороговой дозе 0,1 Гр свидетельствуют об индукции как негативных, так и позитивных биологических эффектов в селезёнке лабораторных мышей [12]. Также имеются сведения о том, что малые дозы ионизирующего излучения (до 0,1 Гр) могут ингибировать активацию тучных клеток [13].

Бета-D-глюкан — это полисахарид, полученный из гриба Вешенка обыкновенная (*Pleurotus ostreatus*). Он обладает множеством биологических эффектов, включая стимуляцию иммунной системы, радиопротекторное, противовоспалительное и противомикробное действия [14]. Известно, что он оказывает положительное влияние на выживаемость смертельно облучённых мышей [3]. E.V. Murzina и соавт. [3] отмечают, что противолучевое действие бета-D-глюкана ассоциировано с повышением жизнеспособности стволовых кроветворных клеток костного мозга и более быстрым восстановлением гемопоэза. Сведений о влиянии средних и больших доз рентгеновского излучения, в том числе при введении бета-D-глюкана, на активность тучных клеток в литературных источниках нами не обнаружено.

Цель — представить морфофункциональную и количественные характеристики тучных клеток селезёнки лабораторных мышей при фракционированном рентгеновском облучении и пероральном введении бета-D-глюкана.

МЕТОДЫ

Дизайн исследования

Проведено экспериментальное одноцентровое контролируемое исследование на половозрелых самцах белых беспородных мышей массой 20–23 г ($n=23$), полученных из питомника лабораторных животных «Рапполово» (Ленинградская область).

Объект исследования — селезёнка лабораторных мышей. Оценивали популяцию тучных клеток

на гистологических срезах селезёнки, окрашенных по Романовскому–Гимзе, с учётом гистотопографии органа. Животных разделили на 5 групп: группа 1 — интактные мыши ($n=3$); группа 2 (группа сравнения) — облучённые животные с суммарной поглощённой дозой (СПД) 7 Гр ($n=5$); группа 3 — облучённые мыши с СПД 7 Гр, которым перорально вводили водорастворимую форму бета-D-глюкана за 15 мин до облучения ($n=5$); группа 4 (группа сравнения) — облучённые животные с СПД 18 Гр ($n=5$); группа 5 — облучённые мыши с СПД 18 Гр, которым перорально вводили бета-D-глюкан за 15 мин до облучения ($n=5$). Эвтаназию проводили на 14 и 30 сутки после начала эксперимента. Образцы селезёнки фиксировали в 10% забуференном формалине, обезвоживали в спиртах и заливали в парафин. Срезы толщиной 4 мкм готовили на ротационном микротоме Sakura Accu-Cut SRM 200 (Sakura Finetec, Япония), депарафинизировали и окрашивали гематоксилином и эозином, а также по методу Романовского–Гимзы, после чего заключали в Витрогель (ООО «БиоВитрум», Россия). На каждом гистологическом препарате подсчитывали количество тучных клеток.

Критерии соответствия

В работе использовали животных без видимых аномалий, после карантина в течение 14 суток.

Условия проведения

Исследование проведено на базе кафедры гистологии с курсом эмбриологии Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова (Санкт-Петербург, Россия) и научно-исследовательской лаборатории лекарственной и экологической токсикологии научно-исследовательского отдела НИЦ Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова.

Продолжительность исследования

Продолжительность исследования составила 30 суток (март–апрель 2024 г.).

Описание вмешательства

Облучение животных проводили с использованием рентген-терапевтической установки «РУМ-17» (ООО «МосРентген», СССР) при напряжении 180 кВ, силе тока 14 А, фильтре 0,5 мм Cu + 1 мм Al с мощностью дозы 0,328 Гр/мин в направлении «спина–грудь». Мышей облучали 1 раз в день 3–4 раза в неделю в дозе 1 Гр до получения ими суммарной поглощённой дозы 7 Гр или 18 Гр. Одновременно облучали по 5 особей из каждой группы, для чего мышей помещали в специальные пластиковые контейнеры, расположенные радиально, головой к центру.

В работе использовали хитин-глюкановый комплекс из пищевого гриба Вешенка обыкновенная (*Pleurotus ostreatus*; НПФ «БИОС», Россия), представляющий собой смесь полисахаридов с молекулярной массой 10–1000 кДа. Содержание бета-D-глюканов в составе комплекса составляет 20–25 мас.% [3]. Бета-D-глюкан в виде водного раствора вводили перорально за 15 мин до каждого сеанса облучения в дозе 250 мг/кг, в объёме 0,5 мл/мышь. Введение проводили с помощью атравматичного желудочного зонда.

Основной исход исследования

Реактивность тучных клеток селезёнки лабораторных мышей характеризуется индивидуальной изменчивостью, а также различается в зависимости от СПД (7 Гр или 18 Гр) и введения бета-D-глюкана. Качественная характеристика тучных клеток показала гетероморфность клеточной популяции. В паренхиме селезёнки мышей морфологически выявляются клетки, находящиеся в различном функциональном состоянии.

Анализ в группах

Анализировали гистологические препараты селезёнки лабораторных мышей всех экспериментальных групп (табл. 1).

Таблица 1. Масса селезёнки и количество тучных клеток у мышей на фоне фракционированного облучения (доза одной фракции составляет 1 Гр)
Table 1. Spleen mass and mast cell count in mice following fractionated irradiation (dose per fraction: 1 Gy)

Группы	Продолжительность эксперимента	Масса селезёнки, мг	Количество тучных клеток на 1 мм ²
Интактные мыши (группа 1)	1 сутки	112,0 [100,0; 125,0]	31,4 [25,1; 37,7]
Мыши, облучённые с СПД 7 Гр (группа сравнения 2)	14 суток	51,8 [41,0; 52,0] *	9,4 [6,3; 15,7] *
Мыши, облучённые с СПД 7 Гр + введение бета-D-глюкана (группа 3)	14 суток	61,2 [49,0; 62,0] *	3,8 [3,1; 4,4] *
Мыши, облучённые с СПД 18 Гр (группа сравнения 4)	30 суток	53,0 [49,0; 59,0] *	59,7 [50,3; 66,0] *
Мыши, облучённые с СПД 18 Гр + введение бета-D-глюкана (группа 5)	30 суток	70,6 [59,0; 77,0] *#	44,0 [37,7; 50,3] *#

Примечание. СПД — суммарная поглощённая доза; * $p < 0,05$ при сравнении с группой 1 (интактные мыши); # $p < 0,05$ при сравнении с соответствующим контролем (группы 2 и 4), U-критерий Манна–Уитни.

Методы регистрации исходов

Количество тучных клеток подсчитывали в 20 непересекающихся полях зрения микроскопа при увеличении окуляра $\times 10$, объектива $\times 40$. Тучные клетки идентифицировали по их тинкториальным свойствам — интенсивному метакроматическому окрашиванию гранул по методу Романовского–Гимзы. Плотность расположения рассчитывали как отношение общего количества тучных клеток к 20 (число полей зрения), приведённое к единице площади равной 1 мм^2 . Площадь одного поля зрения составляет $0,159 \text{ мм}^2$. Для подсчёта количества тучных клеток и получения цифровых фотографий использовали световой микроскоп Zeiss Scope A1 (Zeiss, Германия), оснащённый камерой AxioCam ERc 5s. Обработку изображений осуществляли в программе Zen 2.3 (Zeiss, Германия).

Статистический анализ

Статистическую обработку количественных данных проводили с использованием программы Statistica V.7.0 (StatSoft Inc., США). Для оценки различий между группами применяли непараметрический критерий Манна–Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Данные представлены в виде Me [Q25; Q75], где Me — медиана, Q25 и Q75 — нижний и верхний квартили.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Объекты исследования

Объектами исследования служили образцы селезёнки самцов лабораторных мышей ($n=23$). Животных разделили на 5 экспериментальных групп в зависимости от СПД (7 Гр или 18 Гр) и введения бета-D-глюкана.

Основные результаты исследования

В структуре селезёнки лабораторных мышей выделяют белую и красную пульпу [15, 16]. Белая пульпа представляет собой диффузно расположенные лимфоидные узелки округлой формы с выраженными маргинальными зонами и периартериальными лимфоидными муфтами. Красная пульпа включает в себя ретикулярную ткань, форменные элементы крови (эритроциты, тромбоциты, зернистые и незернистые лейкоциты), макрофаги, синусоидные капилляры, гемопоэтические клетки эритробластического и тромбоцитарного дифференнов.

Масса селезёнки intactных животных (группа 1) составила $112,0 [100,0; 125,0]$ мг, а плотность расположения тучных клеток — $31,4 [25,1; 37,7]$ клетки/ мм^2 (см. табл. 1, рис. 1).

После фракционированного рентгеновского облучения с СПД 7 Гр (группа сравнения 2) плотность расположения тучных клеток в 3,3 раза ниже по сравнению с селезёнкой intactных мышей и составляет $9,4 [6,3; 15,7]$ клетки/ мм^2 (рис. 2). Масса селезёнки у мышей группы 2 — $51,8 [41,0; 52,0]$ мг, что на 53,75% ниже по сравнению с intactными животными ($p=0,046$). После фракционированного облучения с СПД 7 Гр на фоне введения бета-D-глюкана (группа 3) плотность расположения тучных клеток меньше в 2,5 раза по сравнению с аналогичным показателем у мышей группы 2 и составляет $3,8 [3,1; 4,4]$ клетки/ мм^2 , а масса селезёнки — $61,2 [49,0; 62,0]$ мг, что на 15,00% больше, чем у животных в группе сравнения 2. Следовательно, введение бета-D-глюкана перед радиационным воздействием уменьшает количество тучных клеток и незначительно увеличивает массу селезёнки по сравнению с мышами с той же СПД, но без введения препарата (группа 2).

Наиболее выраженную реакцию тучных клеток наблюдали при СПД 18 Гр без введения бета-D-глюкана (группа

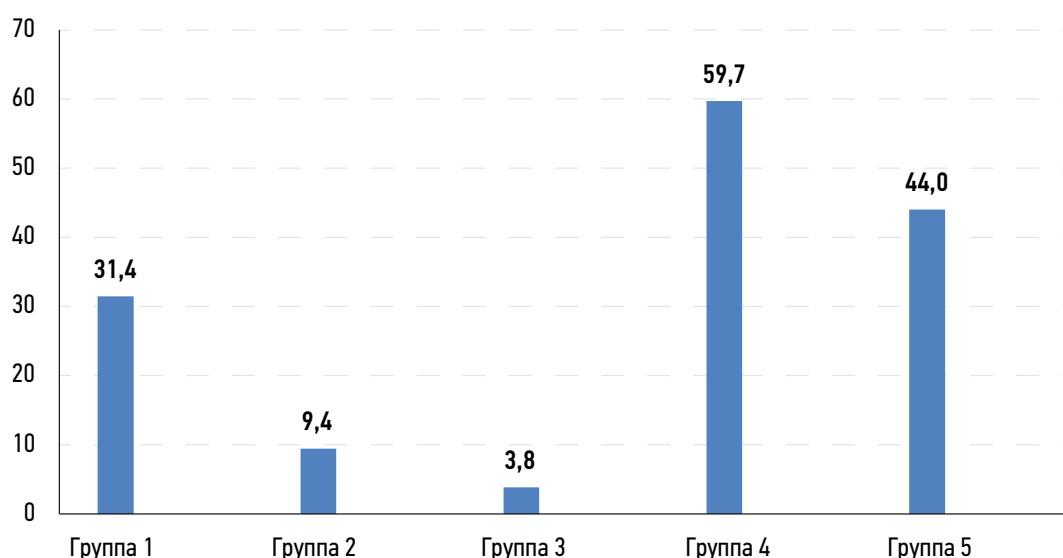


Рис. 1. Плотность расположения тучных клеток после рентгеновского облучения с суммарной поглощённой дозой 7 Гр или 18 Гр и введения бета-D-глюкана: по оси Y — количество тучных клеток на мм^2 .

Fig. 1. Mast cell density after X-ray irradiation with a total absorbed dose of 7 Gy or 18 Gy and beta-D-glucan administration: Y-axis represents the number of mast cells per mm^2 .

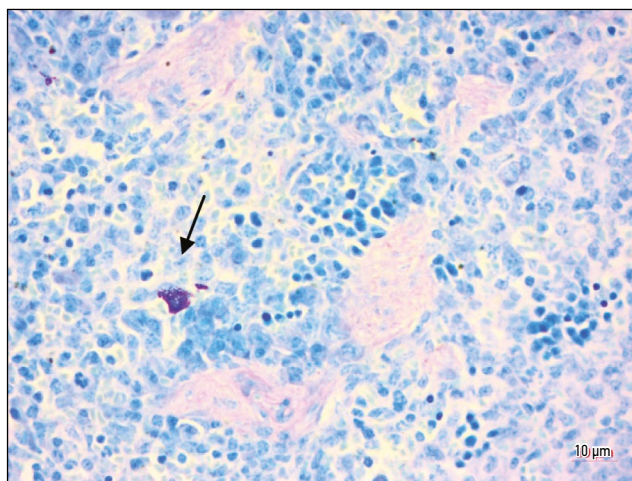


Рис. 2. Тучные клетки в селезёнке мыши после рентгеновского облучения с суммарной поглощённой дозой 7 Гр: окраска по методу Романовского–Гимзы, увеличение $\times 400$.

Fig. 2. Mast cells in the spleen of a mouse after X-ray irradiation with a total absorbed dose of 7 Gy: Romanowsky–Giemsa staining, magnification $\times 400$.

сравнения 4). Плотность расположения тучных клеток увеличилась в два раза по сравнению с селезёнкой интактных животных (группа 1) и составила $59,7 [50,3; 66,0]$ клеток/ мм^2 , при этом масса селезёнки в два раза ниже по сравнению с интактным контролем — $53,0 [49,0; 59,0]$ мг. Такие изменения свидетельствуют о гибели клеток гемопоэтического ряда и пролонгированном опустошении селезёнки. У мышей, которым перед облучением вводили бета-D-глюкан (группа 5), плотность расположения тучных клеток ниже, чем в группе сравнения 4, но остаётся повышенной по сравнению с интактными животными (группа 1) — $44,0 [37,7; 50,3]$ клетки/ мм^2 . Таким образом, введение бета-D-глюкана уменьшает количество тучных клеток на 20,00% по сравнению с облучёнными мышами без введения препарата (группа сравнения 4). Масса селезёнки в группе 5 составила $70,6 [59,0; 77,0]$ мг, что меньше, чем у интактных животных, но на 25,00% больше, чем в группе 4.

Сравнение воздействия рентгеновского излучения на популяцию тучных клеток в зависимости от суммарной поглощённой дозы без введения радиопротектора (группы 2 и 4) показало, что плотность расположения клеток в 6,3 раза выше при СПД 18 Гр (группа 4), чем при СПД 7 Гр (группа 2, $p=0,035$). Сравнение воздействия излучения на популяцию тучных клеток при введении бета-D-глюкана (группы 3 и 5) выявило, что плотность расположения тучных клеток при СПД 18 Гр (группа 5) выше, чем при СПД 7 Гр (группа 3, $p=0,016$). Полученные данные свидетельствуют о том, что суммарная поглощённая доза 18 Гр оказывает значительное воздействие на тучные клетки и существенно изменяет их количество в сторону увеличения. Введение бета-D-глюкана перед каждым сеансом облучения способствует уменьшению количества тучных клеток, что позволяет предполагать наличие противовоспалительного действия у изучаемого препарата.

Анализ изменений массы селезёнки в зависимости от суммарной поглощённой дозы без введения бета-D-глюкана (группы 2 и 4) показал, что как при СПД 7 Гр, так и при СПД 18 Гр селезёнка уменьшается в размерах и её масса становится в 2 раза меньше, чем у интактных животных. При введении бета-D-глюкана (группы 3 и 5) масса селезёнки равна $61,2 [49,0; 62,0]$ мг при СПД 7 Гр, а при СПД 18 Гр масса органа на 13% больше и составляет $70,6 [59,0; 77,0]$ мг. Можно предположить, что радиопротекторное действие препарата усиливается при более многократном введении.

Анализ гистологической структуры селезёнки мышей после облучения с СПД 7 Гр выявил нарушения архитектоники белой пульпы — она представлена слившимися лимфоидными узелками и скоплениями клеток лимфоидного дифферона в субкапсулярных зонах и вокруг соединительнотканых трабекул. В селезёнке мышей, получавших перорально бета-D-глюкан перед облучением с СПД 7 Гр, лимфоидные узелки преимущественно сохраняют округлую форму, характерную для интактного органа, при этом в структурах белой пульпы визуализируются митотически делящиеся клетки.

В селезёнке мышей после облучения с СПД 18 Гр белая пульпа представлена скоплениями клеток лимфоидного дифферона вокруг центральной артерии, соединительнотканых трабекул и субкапсулярно. Выявляются апоптотические тельца, митотически делящиеся клетки отсутствуют. У мышей, получавших бета-D-глюкан, архитектура белой пульпы также нарушена, однако в её структуре присутствуют молодые клетки лимфоидного дифферона, что способствует сохранению популяции малых лимфоцитов.

Морфофункциональная характеристика тучных клеток показала гетероморфность клеточной популяции (рис. 3).

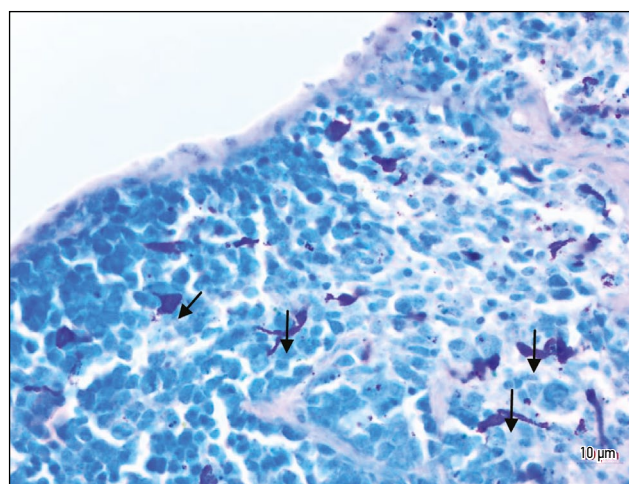


Рис. 3. Тучные клетки в селезёнке мыши после рентгеновского облучения с суммарной поглощённой дозой 18 Гр и введения бета-D-глюкана: окраска по методу Романовского–Гимзы, увеличение $\times 400$.

Fig. 3. Mast cells in the spleen of a mouse after X-ray irradiation with a total absorbed dose of 18 Gy and beta-D-glucan administration: Romanowsky–Giemsa staining, magnification $\times 400$.

В паренхиме селезёнки выявляются клетки, находящиеся в различном функциональном состоянии: дифференцированные, но не дегранулировавшие клетки — небольшие по размеру, с плотно расположенными гранулами, экранирующими ядро; клетки, находящиеся в состоянии накопления гранул — овальной формы, с хорошо заметным ядром и интрацитоплазматическими диффузно расположенными гранулами; крупные клетки необычной формы, окружённые метакроматическими гранулами; полностью дегранулировавшие клетки, окружённые гранулами, свободно лежащими вне цитоплазмы.

ОБСУЖДЕНИЕ

Резюме основного результата исследования

Количество тучных клеток статистически значимо увеличивается при облучении в суммарной поглощённой дозе 18 Гр. Введение бета-D-глюкана перед воздействием излучения уменьшает популяцию тучных клеток, находящихся на разных стадиях секреторного цикла.

Обсуждение основного результата исследования

Проведённое исследование показало, что в ответ на воздействие радиационного излучения изменяется численность популяции тучных клеток в селезёнке. Влияние ионизирующего излучения в дозах 0,5 Гр и 2 Гр на дифференциальную индукцию тучных клеток изучено в работе S. Murakami и соавт. [17]. Используя метод культивирования тканей, авторы пришли к выводу, что клетки костного мозга облучённых мышей способны дифференцироваться в тучные клетки, однако эффективность такой дифференцировки значительно снижается под действием ионизирующего излучения — количество тучных клеток в облучённой группе животных ниже контрольных значений. Помимо этого, дегрануляция тучных клеток после распознавания E-опосредованного аллергена иммуноглобулином статистически значимо усиливается после облучения по сравнению с необлучёнными животными. Имеются также сведения о возможном участии тучных клеток в развитии радиационно-индуцированного цистита — одного из побочных эффектов лучевой терапии органов брюшной полости [18].

В одном из исследований для оценки радиорезистентности организма, наряду с показателями выживаемости, потери массы тела и изменений в поведении, авторы предлагают использовать индекс реактивности тучных клеток в качестве дополнительного критерия [19]. В частности, было установлено, что минимальный уровень естественной радиорезистентности характерен для особей с высоким индексом реакции тучных клеток, тогда как максимальный уровень модифицированной радиорезистентности отмечен у крыс со средним уровнем

реактивности. Та же группа исследователей установила, что действие радиопротектора аминокпропилморфолина¹ наиболее выражено у животных с максимальной реактивностью тучных клеток. Авторы полагают, что связь между особенностями реактивности тучных клеток и радиорезистентностью тканей может служить основой для разработки методов прогнозирования индивидуальной естественной и модифицированной радиорезистентности. В нашем исследовании радиопротекторное действие бета-D-глюкана наиболее выражено при суммарной поглощённой дозе 18 Гр, о чём свидетельствуют показатели средней массы селезёнки и плотности расположения тучных клеток.

Химаза — одна из протеаз тучных клеток, участвующая в поддержании интегративно-буферной метаболической среды соединительной ткани. Этот фермент предлагается рассматривать как диагностический маркер и вероятную фармакологическую мишень при терапии некоторых патологических состояний [7]. Сведения о секреторной активности тучных клеток указывают на существование функциональной избирательности высвобождения химазы во внеклеточный матрикс. От способа секреции химазы зависят особенности её биологического действия на тканевые элементы. В статье Д.А. Атякшина и соавт. [7] приведена характеристика различных форм дегрануляции тучных клеток. Мы полагаем, что в нашем исследовании имеет место так называемая фрагментарная дегрануляция, проявляющаяся в секреции экзосом, макровезикул и отдельных гранул. В пользу этого предположения свидетельствует расположение метакроматических структур различного размера как в непосредственной близости от тучных клеток, так и среди других клеток и компонентов межклеточного вещества.

Известно, что при пероральном введении бета-D-глюкана он захватывается макрофагами в тонкой кишке, а затем переносится в костный мозг, где высвобождается [20]. Бета-D-глюкан способен взаимодействовать с Toll-подобными рецепторами (TLR2), которые экспрессируются тучными клетками [21]. Такое взаимодействие может приводить к активации тучных клеток и их дегрануляции.

Результаты нашего исследования свидетельствуют о том, что реактивность тучных клеток селезёнки лабораторных мышей характеризуется индивидуальной изменчивостью и различается в зависимости от суммарной поглощённой дозы излучения и введения бета-D-глюкана. Установлено, что одним из осложнений после облучения рентгеновским излучением является преждевременное старение тканей и органов. Тучные клетки играют роль индукторов воспаления и способствуют пролонгированному течению воспалительной реакции. Длительно сохраняющаяся дегрануляция тучных клеток, индуцированная

¹ Лекарственное средство не зарегистрировано в РФ.

рентгеновским излучением, и экзоцитоз содержимого гранул способствуют активации фибробластов, усиленной секреции ими коллагена, формированию многочисленных волокон, заполняющих большую часть межклеточного вещества, и последующему фиброзированию белой и красной пульпы селезёнки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты позволяют заключить, что введение бета-D-глюкана перед каждым сеансом облучения снижает плотность расположения тучных клеток в селезёнке. Такой эффект может рассматриваться как проявление положительного радиопротекторного влияния бета-D-глюкана. Поскольку одной из возможных мишеней его действия являются тучные клетки, введение бета-D-глюкана, вероятно, способствует снижению выраженности провоспалительных эффектов.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Вклад авторов. И.А. Одинцова — анализ данных, написание черновика рукописи, пересмотр и редактирование рукописи; С.Э. Русакова — проведение исследования, написание черновика рукописи, пересмотр и редактирование рукописи; Д.Р. Слуцкая — проведение исследования, написание черновика рукописи; Е.В. Мурзина — определение концепции, проведение исследования, анализ данных; М.А. Трофимов — проведение исследования. Все авторы одобрили рукопись (версию для публикации), а также согласились нести ответственность за все аспекты настоящей работы, гарантируя надлежащее рассмотрение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой её части.

Этическая экспертиза. Выполнение исследования одобрено независимым этическим комитетом при Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова (протокол № 291 от 21.05.2024 г.) и проведено с соблюдением закона «О защите животных от жестокого обращения» от 01.12.1999 г. (глава V, ст. 104679-ГД).

Источники финансирования. Отсутствуют.

Раскрытие интересов. Авторы заявляют об отсутствии отношений, деятельности и интересов за последние три года, связанных с третьими лицами (коммерческими и некоммерческими организациями), интересы которых могут быть затронуты содержанием статьи.

Оригинальность. При проведении исследования и создании настоящей статьи авторы не использовали ранее полученные и опубликованные сведения (данные, текст, иллюстрации).

Доступ к данным. Все данные, полученные в настоящем исследовании, представлены в статье.

Генеративный искусственный интеллект. При создании настоящей статьи технологии генеративного искусственного интеллекта не использовались.

Рассмотрение и рецензирование. Настоящая работа подана в журнал в инициативном порядке и рассмотрена по обычной процедуре. В рецензировании участвовали два внешних рецензента, член редакционной коллегии и научный редактор издания.

ADDITIONAL INFORMATION

Author contributions: I.A. Odintsova: formal analysis, writing—original draft, writing—review & editing; S.E. Rusakova: investigation, writing—original draft, writing—review & editing; D.R. Slutskaia: investigation, writing—original draft; E.V. Murzina: conceptualization, investigation, formal analysis; M.A. Trofimov: investigation, visualization. All the authors approved the version of the manuscript to be published and agreed to be accountable for all aspects of the work, ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Ethics approval: The study was approved by the Independent Ethics Committee of the S.M. Kirov Military Medical Academy (Minutes No. 291, dated May 21, 2024) and was conducted in compliance with the Federal Law “On the Protection of Animals from Cruelty” (Chapter V, Article 104679-GD, December 1, 1999).

Funding sources: No funding.

Disclosure of interests: The authors have no relationships, activities, or interests for the last three years related to for-profit or not-for-profit third parties whose interests may be affected by the content of the article.

Statement of originality: No previously obtained or published material (text, images, or data) was used in this study or article.

Data availability statement: All data obtained in this study are available in this article.

Generative AI: No generative artificial intelligence technologies were used to prepare this article.

Provenance and peer review: This paper was submitted unsolicited and reviewed following the standard procedure. The peer review process involved two external reviewers, a member of the Editorial Board, and the in-house scientific editor.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Koterov AN. From very low to very large doses of radiation: new data on ranges definitions and its experimental and epidemiological basing. *Medical Radiology and Radiation Safety*. 2013;58(2):5–21. EDN: QEQHMK
2. Sofronov GA, Berezovskaya TI, Murzina EV. Morphological characteristics of tissue elements of the spleen of laboratory mice in normal and dosed radiation exposure from the standpoint of the doctrine of the histronic structure of the organ. In: Makiev RG, Odintsova IA, editors. *Innovative technologies for studying histogenesis, reactivity and tissue regeneration (Proceedings of the Military Medical Academy)*. Saint Petersburg: Voenno-meditsinskaya akademiya im. S.M. Kirova; 2024. P:122–126. EDN: HPMHPQ ISBN: 978-5-94277-106-5
3. Murzina EV, Sofronov GA, Simbirtsev AS, et al. Impact of beta-D-glucan on survival and hematopoietic parameters of mice after exposure to X-rays. *Medical academic journal*. 2023;23(1):53–66. doi: 10.17816/MAJ114742 EDN: WNXTZP
4. Reddy SM, Reuben A, Barua S, et al. Poor response of neoadjuvant chemotherapy correlates with mast cell infiltration in inflammatory breast cancer. *Cancer Immunol Res*. 2019;7(6):1025–1035. doi: 10.1158/2326-6066.CIR-18-0619
5. Elieh Ali Komi D, Kuebler WM. Significance of mast cell formed extracellular traps in microbial defense. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2022;62(1):160–179. doi: 10.1007/s12016-021-08861-6

6. da Silva EZ, Jamur MC, Oliver C. Mast cell function: a new vision of an old cell. *J Histochem Cytochem.* 2014;62(10):698–738. doi: 10.1369/0022155414545334 EDN: ZACFMF
7. Atiakshin D, Buchwalow I, Tiemann M. Mast cell chymase: morphofunctional characteristics. *Histochem Cell Biol.* 2019;152(4):253–269. doi: 10.1007/s00418-019-01803-6 EDN: JNSKED
8. Lee CG, Moon SR, Cho MY, Park KR. Mast cell degranulation and vascular endothelial growth factor expression in mouse skin following ionizing irradiation. *J Radiat Res.* 2021;62(5):856–860. doi: 10.1093/jrr/rrab067 EDN: YWFLNV
9. Hong YK, Chang YH, Lin YC, et al. Inflammation in wound healing and pathological scarring. *Adv Wound care (New Rochelle).* 2023;12(5):288–300. doi: 10.1089/wound.2021.0161 EDN: GYJXNX
10. Milliat F, François A. Les mastocytes, stakhanovistes de l'immunité — Un rôle énigmatique dans les lésions radiques [The roles of mast cells in radiation-induced damage are still an enigma]. *Med Sci (Paris).* 2018;34(2):145–154. (In French) doi: 10.1051/medsci/20183402012
11. Landy RE, Stross WC, May JM, et al. Idiopathic mast cell activation syndrome and radiation therapy: a case study, literature review, and discussion of mast cell disorders and radiotherapy. *Radiat Oncol.* 2019;14(1):222. doi: 10.1186/s13014-019-1434-6
12. Shin E, Lee S, Kang H, et al. Organ-specific effects of low dose radiation exposure: A comprehensive review. *Front Genet.* 2020;11:566244. doi: 10.3389/fgene.2020.566244 EDN: QBIQPN
13. Joo HM, Nam SY, Yang KH, et al. The effects of low-dose ionizing radiation in the activated rat basophilic leukemia (RBL-2H3) mast cells. *J Biol Chem.* 2012;287(33):27789–27795. doi: 10.1074/jbc.M112.378497
14. Yuan H, Lan P, He Y, et al. Effect of modifications on the physicochemical and biological properties of β -Glucan-A critical review. *Molecules.* 2019;25(1):57. doi: 10.3390/molecules25010057 EDN: VBKOAX
15. Odintsova IA, Rusakova SE, Slutskaya DR, Murzina EV. Reactive changes in the lymphoid histion of the spleen of mice irradiated with a sublethal dose. In: *Questions of morphology of the XXI century. Proceedings of the 26th All-Russian Scientific Conference.* Saint Petersburg: Limited Liability Company «Izdatel'stvo DEAN», 2024. P:242–246. EDN: SWVNUU
16. Slutskaya DR, Berezovskaya TI. Characteristics of functional histions of the spleen of laboratory mice under dosed irradiation. *Cytology.* 2022;64(3):295–296. (In Russ.)
17. Murakami S, Yoshino H, Ishikawa J, et al. Effects of ionizing radiation on differentiation of murine bone marrow cells into mast cells. *J Radiat Res.* 2015;56(6):865–871. doi: 10.1093/jrr/rrv061
18. Smith J, Tan JKH, Short C, et al. The effect of myeloablative radiation on urinary bladder mast cells. *Sci Rep.* 2024;14(1):6219. doi: 10.1038/s41598-024-56655-5 EDN: ZLVRXG
19. Ushakov IB, Kordenko AN. On the relationship of natural and modified radioresistance with mast cell reactivity. *Radiation biology. Radioecology.* 2023;63(4):387–393 doi: 10.31857/S0869803123040100 EDN: VPVLEU
20. Folkerts J, Stadhouers R, Redegeld FA, et al. Effect of dietary fiber and metabolites on mast cell activation and mast cell-associated diseases. *Front Immunol.* 2018;9:1067. doi: 10.3389/fimmu.2018.01067
21. Halova I, Draberova L, Draber P. Mast cell chemotaxis — chemoattractants and signaling pathways. *Front Immunol.* 2012;3:119. doi: 10.3389/fimmu.2012.00119

ОБ АВТОРАХ

***Слуцкая Дина Радиковна**, канд. биол. наук, доцент;
адрес: Россия, 194044, Санкт-Петербург, ул. Академика
Лебедева, д. 6, литера Ж;
ORCID: 0000-0003-3910-2621;
eLibrary SPIN: 2546-9393;
e-mail: dina_hanieva@mail.ru

Одинцова Ирина Алексеевна, д-р мед. наук, профессор;
ORCID: 0000-0002-0143-7402;
eLibrary SPIN: 1523-8394;
e-mail: odintsova-irina@mail.ru

Русакова Светлана Эдуардовна, канд. биол. наук, доцент;
ORCID: 0000-0001-9437-5230;
eLibrary SPIN: 5429-4630;
e-mail: rusakova-svetik@mail.ru

Мурзина Елена Викторовна, канд. биол. наук;
ORCID: 0000-0001-7052-3665;
eLibrary SPIN: 5188-0797;
e-mail: elenmurzina@mail.ru

Трофимов Максим Александрович;
ORCID: 0000-0001-7610-2669;
eLibrary SPIN: 5152-6278;
e-mail: greitminisk@gmail.com

AUTHORS' INFO

***Dina R. Slutskaya**, Cand. Sci. (Biology), Assistant Professor;
address: 6G Akademika Lebedeva st, Saint Petersburg,
Russia, 194044;
ORCID: 0000-0003-3910-2621;
eLibrary SPIN: 2546-9393;
e-mail: dina_hanieva@mail.ru

Irina A. Odintsova, Dr. Sci. (Medicine), Professor;
ORCID: 0000-0002-0143-7402;
eLibrary SPIN: 1523-8394;
e-mail: odintsova-irina@mail.ru

Svetlana E. Rusakova, Cand. Sci. (Biology), Assistant Professor;
ORCID: 0000-0001-9437-5230;
eLibrary SPIN: 5429-4630;
e-mail: rusakova-svetik@mail.ru

Elena V. Murzina, Cand. Sci. (Biology);
ORCID: 0000-0001-7052-3665;
eLibrary SPIN: 5188-0797;
e-mail: elenmurzina@mail.ru

Maksim A. Trofimov;
ORCID: 0000-0001-7610-2669;
eLibrary SPIN: 5152-6278;
e-mail: greitminisk@gmail.com

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author