



# Интегральные взаимосвязи параметров соединительной ткани при реакции организма крыс на локальное облучение

Э. А. Надыров<sup>1</sup>, И. Л. Кравцова<sup>1</sup>, А. Н. Шклярова<sup>2</sup>, М. Н. Стародубцева<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Гомельский государственный медицинский университет, г. Гомель, Беларусь

<sup>2</sup>Институт радиобиологии Национальной академии наук Беларуси, г. Гомель, Беларусь

## Резюме

**Цель исследования.** Установить гистологические изменения легкого и взаимосвязи этих изменений со свойствами наноразмерных частиц крови у лабораторных животных, вызванных локальным облучением верхней части туловища рентгеновским излучением.

**Материалы и методы.** Однократное локальное облучение крыс линии Wistar проводили с использованием рентгеновского аппарата биологического назначения X-RAD 320 Precision X-ray Inc в дозах 0,1, 1 и 15 Гр. После трехнедельного постлучевого периода были измерены активности каталазы и супероксиддисмутазы, размеры и дзета-потенциал наноразмерных частиц крови; проведено гистологическое исследование легких крыс, необлученных и облученных в различных дозах.

**Результаты.** Качественно-количественная оценка степени фиброза в легких показала рост степени фиброза в зависимости от уровня дозы облучения ( $r_s = 0,5531$ ,  $p < 0,0001$ ). В крови облученных животных размеры и дзета-потенциал наноразмерных частиц существенно увеличивались после облучения крыс с дозой 0,1 Гр ( $p < 0,05$ ). Активности супероксиддисмутазы и каталазы крови после облучения изменялись в зависимости от дозы облучения немонотонно.

**Заключение.** В экспериментальной животной модели установлены значительные изменения состояния организма после облучения в малой дозе — 0,1 Гр на разных иерархических уровнях. В большей степени изменения проявляются в антиокислительной системе крови и системе наночастиц крови, в меньшей — на уровне состава и строения органа (легкого). Дальнейшее изучение радиационно-индуцированных изменений наночастиц крови целесообразно не только для углубления понимания механизмов развития постлучевых патологических состояний, но и для оценки эффективности в эксперименте новых радиопротекторных лекарственных средств с целью их последующего внедрения в клиническую практику.

**Ключевые слова:** рентгеновское излучение, легкое, фиброз, плазма крови, экзосомы крови, редокс-свойства

**Вклад авторов.** Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической и экспериментальной работ и подготовку статьи, прочитали и одобрили финальную версию для публикации.

**Благодарность.** Авторы выражают благодарность Медведевой Е.А., Сусленковой А.Е., Аксёненко О.С. — сотрудникам ГНУ «Институт радиобиологии Национальной академии наук Беларуси», Гигс О.В. — лаборанту научно-исследовательской лаборатории УО «Гомельский государственный медицинский университет» за техническую помощь в лабораторных исследованиях и работе с животными.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Источники финансирования.** Работа выполнена в рамках ГПНИ «Природные ресурсы и окружающая среда», подпрограмма «Радиация и биологические системы», задание 3.01.2 «Разработать критерии оценки радиационно-индуцированных изменений ткани внутренней среды, основанной на анализе структуры и механических свойств клеточного компонента на моделях *in vitro* и *in vivo*».

**Для цитирования:** Надыров ЭА, Кравцова ИЛ, Шклярова АН, Стародубцева МН. Интегральные взаимосвязи параметров соединительной ткани при реакции организма крыс на локальное облучение. Проблемы здоровья и экологии. 2024;21(4):103–112. DOI: <https://doi.org/10.51523/2708-6011.2024-21-4-11>

# Integrated interrelations of connective tissue parameters during the rats' body response to local irradiation

Eldar A. Nadyrov<sup>1</sup>, Irina L. Kravtsova<sup>1</sup>, Nastassia M. Shkliarava<sup>2</sup>,  
Maria N. Starodubtseva<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

<sup>2</sup>Institute of Radiobiology of National Academy of Sciences of Belarus, Gomel, Belarus

## Abstract

**Objective.** To establish histological changes in lung tissue and the interrelationship of these changes with the properties of nanoscale blood particles in laboratory animals caused by local irradiation of their upper torso with X-rays.

**Materials and methods.** Local irradiation of Wistar rats was carried out using a X-RAD 320 Biological Irradiator (Precision X-Ray, USA) in doses of 0.1, 1, and 15 Gy. After a 3-week post-irradiation period, the activity of catalase and superoxide dismutase, sizes and zeta-potential of nanoparticles were measured in blood; a histological analysis of the lungs was carried out for rats non-irradiated and irradiated by various X-rays doses.

**Results.** A semi-quantitative assessment of the pulmonary fibrosis progression showed an increase in the fibrosis grade depending on the irradiation dose ( $r_s = 0.5531$ ,  $p < 0.0001$ ). In the blood of irradiated animals, the size and zeta potential of nanoscale particles increased significantly after irradiation of rats with a dose of 0.1 Gy ( $p < 0.05$ ). The activities of superoxide dismutase and catalase in the irradiated rat's blood changed non-monotonically depending on the dose.

**Conclusion.** In the experimental animal model, significant changes in the body state were found after irradiation with a low dose (0.1 Gy) at different hierarchical levels. The changes are more pronounced in the blood antioxidant system and the system of nanoparticles of blood, less — at the level of composition and structure of the organ (lung). Further study of radiation and induced changes of blood nanoparticles is advisable not only to deepen the understanding of mechanisms of development of post-radiation pathological conditions but also to evaluate the efficacy of new radioprotective drugs in an experiment with a view to their subsequent introduction into clinical practice.

**Keywords:** X rays, lung, fibrosis, blood plasma, blood exosomes, redox properties

**Author contributions.** All authors made significant contributions to the search, analytical and experimental work and preparation of the article, read and approved the final version before publication.

**Acknowledgements.** The authors express their gratitude to E. A. Medvedeva, A.E. Suslenkova, O.S. Aksyonenko from the Institute of Radiobiology of the National Academy of Sciences of Belarus and Gigs O.B. from the Research Laboratory of Gomel State Medical University for technical assistance in laboratory research and work with animals.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Funding.** The work was carried out within the State Programme of Scientific Research "Natural Resources and the Environment", the subprogram "Radiation and Biological Systems", task 3.01.2 "To develop criteria for assessing the radiation-induced changes in tissues of the internal environment based on an analysis of the structural and mechanical properties of the cellular component using in vitro and in vivo models".

**For citation:** Nadyrov EA, Kravtsova IL, Shkliarava NM, Starodubtseva MN. Integrated interrelations of connective tissue parameters during the rats' body response to local irradiation *Health and Ecology Issues*. 2024;21(4):103–112. DOI: <https://doi.org/10.51523/2708-6011.2024-21-4-11>

## Введение

Прогрессирование возраст-зависимых патологий приводит к увеличению числа процедур медицинской визуализации с использованием ионизирующего излучения (рентгеноскопии, рентгенографии, компьютерной томографии и др.), а также процедур лучевой терапии. Одним из проявлений действия ионизирующего излучения на организм является радиационный фиброз — патологическое состояние, вызываемое воспалительным процессом или механическим повреждением, при котором происходит чрезмерное разрастание соединительной ткани в органах [1, 2]. У около 20 % пациентов, получающих торакальную лучевую терапию, развивается

фиброз легких [3]. В настоящее время не существует лекарственных средств-протекторов радиационного фиброза, а существующие методы терапии имеют ограниченную эффективность. Углубление понимания механизмов патогенеза фиброза, включая и радиационно-индуцированный фиброз, является приоритетным направлением для разработки новых методов терапии и предотвращения развития фиброза.

Радиационное воздействие вызывает острое повреждение в тканях как локально в месте облучения, так и в других тканях организма, например, крови, интегрально связывающей все ткани и органы организма в единое целое. Стадии развития фиброза зависят как от времени после

облучения, так и от полученной дозы и возраста организма. В течение нескольких первых дней после облучения макрофаги и нейтрофилы, клетки иммунной системы, рекрутируются в место облучения, активируются или разрушаются, вызывая воспалительную реакцию. Нейтрофилы продуцируют воспалительные цитокины, в том числе различные интерлейкины, фактор некроза опухоли  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) и др. Макрофаги являются основным источником тромбоцитарного фактора роста и трансформирующего фактора роста  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), которые стимулируют пролиферацию фибробластов и дифференцировку фибробластов в миофибробласты [4, 5]. В течение недель и месяцев в результате изменения функций фибробластов нарушается гомеостаз внеклеточного матрикса, и коллаген и протеогликаны начинают накапливаться, приводя к обширному разрастанию соединительной ткани. На поздней стадии фиброза, через несколько месяцев или лет после лучевой терапии, обширные накопления внеклеточного матрикса и повреждение микроциркуляторного русла приводят к возникновению гипоксической среды, которая может способствовать атрофии паренхиматозных клеток или некрозу тканей [4].

Локальное облучение, вызывающее изменения свойств и функций клеток и матрикса в месте облучения, именно в основном через кровь оказывает влияние на функционирование удаленных от места облучения тканей и органов. В патогенезе радиационно-индуцированного фиброза важную роль играют клетки иммунной системы, которые также являются и одними из компонентов крови. Помимо форменных элементов крови и плазмы как раствору биологически важных молекул и ионов в последнее время большое внимание уделяется еще одному компоненту крови — наноразмерным частицам крови, таким как экзосомы [6]. Именно экзосомы являются важными участниками механизмов непрямого действия ионизирующего излучения на здоровые ткани, пространственно удаленные от места радиационного воздействия. Ионизирующее излучение индуцирует повышенный экзоцитоз клеток в месте облучения, включая фибробласты и клетки иммунной системы. Благодаря малым размерам экзосомы легко проникают через тканевые барьеры в кровь. Связь этих наноразмерных частиц крови с развитием постлучевых реакций организма на сегодняшний момент до конца не прояснена.

### Цель исследования

Установить гистологические изменения легкого и взаимосвязь этих изменений со свойствами наноразмерных частиц крови у лабораторных животных, вызванные локальным облучением верхней части туловища рентгеновским излучением.

### Материалы и методы

До начала эксперимента было получено одобрение комитета по этике УО «Гомельский государственный медицинский университет» на проведение исследования (протокол № 2 от 24.03.2021). Все экспериментальные работы с лабораторными животными выполнялись в соответствии с общепринятыми нормами обращения с животными и правилами Директивы 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях, от 22 сентября 2010 г. Животные содержались в стационарных условиях вивария Института радиобиологии НАН Беларуси на полноценном стандартном пищевом рационе и свободным доступом к воде, 12/12-часовом режиме освещения и темноты, согласно установленным нормам. Опыты проведены с участием крыс-самцов линии Wistar возраста 14 месяцев ( $n = 22$ ) на момент начала опыта.

Однократное локальное облучение 14-месячных крыс линии Wistar проводили с использованием рентгеновского аппарата биологического назначения X-RAD 320 Precision X-ray Inc (США) в дозах 0,1 Гр (4 особи), 1 Гр (4 особи), 15 Гр (8 особей) (напряжение на трубке — 50 кВ, сила тока — 12,5 мА, средняя мощность дозы — 2,57 сГр/мин, фильтр № 1 (2 мм Al), расстояние до объекта — 50 см). Животные предварительно седатировались и фиксировались на столике для облучения. Облучению подвергали верхнюю половину туловища животных. Контрольная группа была сформирована из 6 крыс, которые находились в тех же условиях, что и экспериментальная группа, но без воздействия рентгеновского излучения. Выведение животных из эксперимента осуществлялось через 21 день после воздействия рентгеновским излучением.

Кровь отбирали из воротной вены печени крысы на фоне глубокого эфирного наркоза. Отобранную кровь помещали в пробирку с раствором 3,2 % 2-замещенного цитрата натрия в соотношении 9:1. Плазму получали центрифугированием (3000 об/мин, 20 мин при 4 °С). Полученная плазма крови помещалась в микропробирки типа Eppendorf и хранилась при  $-80$  °С вплоть до проведения анализов. Размораживание образцов плазмы крови осуществлялось непосредственно перед проведением анализов.

Активность супероксиддисмутазы определяли спектрофотометрически с использованием реакции автоокисления адреналина в щелочной среде в присутствии нитросинего тетразолия. Активность каталазы (cat) исследовали с помощью метода, основанного на измерении концентрации неразложившегося  $H_2O_2$  после инкубации его с каталазой и спектрофотометрической регистра-

ции окрашенного продукта реакции  $H_2O_2$  с молибдатом аммония при длине волны 410 нм [7]. Значения параметров выражены в относительных единицах относительно средних (медианных) значений параметра контрольных образцов.

На фоне глубокого эфирного наркоза проводили реперфузию легкого физиологическим раствором. После удаления из организма легкое промывали дважды сбалансированным солевым раствором Хэнкса, помещали в 10%-ный забуференный формалин и оставляли при комнатных условиях. Далее образцы фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина и проводили по батарее спиртов с возрастающей концентрацией. Затем материал заливали в парафин и изготавливали серийные срезы толщиной 4-6 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином. Цифровой видеокамерой на базе микроскопа NumaScore Premium при увеличении окуляра  $\times 10$  и объектива на  $\times 10$  проводили микрофотосъемку случайных полей зрения гистологических препаратов.

Для оценки фиброза использовали модифицированную шкалу Ashcroft: 0 — нормальное легкое; 1 — утолщение отдельных легочных септ с увеличением толщины септ менее чем в 3 раза; 2 — утолщение септ в 3 раза и более в отдельных участках (не во всех полях зрения); 3 — утолщение септ в 3 раза и более по всему полю, но без явных фиброзных масс в легком; 4 — фиброзные массы до 10 % от микропрепарата легкого; 5 — фиброзные массы 10–50 % от микропрепарата легкого; 6 — фиброзные массы 50 % и более от микропрепарата легочной ткани, но в целом структура легких сохранена; 7 — структура легких отсутствует, альвеолярные сеп-

ты отсутствуют, но можно найти пузыри воздуха; 8 — тотальный фиброз легочной ткани [8].

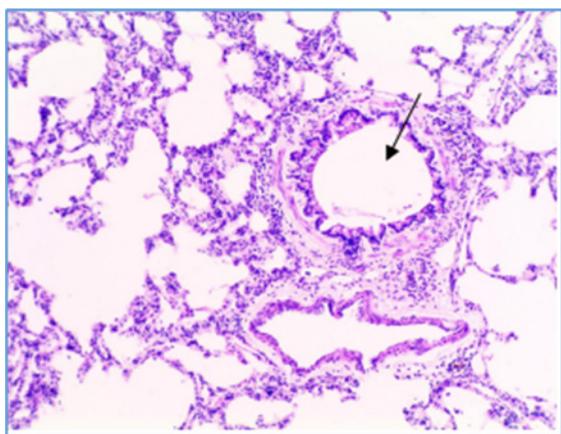
С использованием BeNano 180 Zeta Pro (Bettersize Instruments Ltd., КНР) оценивали размеры частиц плазмы крови при измерении параметров динамического рассеяния света, а зета-потенциал этих частиц — при измерении их электрофоретической подвижности.

Статистический анализ опытных данных проводили с помощью online статического калькулятора Statistical Kingdom и программы Origin Pro. Нормальность распределения признака оценивали методами Колмогорова – Смирнова и Шапиро – Вилка. Результаты анализа представлены в виде медианы и границ межквартильного диапазона (Me (LQ; UQ)) или среднего выборочного и границ 95% ДИ. Сравнение средних двух выборок проводили с использованием критерия Манна – Уитни или t-критерия. Факторный анализ проведен с использованием инструментов пакета статистических программ Statistica, 10 (метод главных компонент).

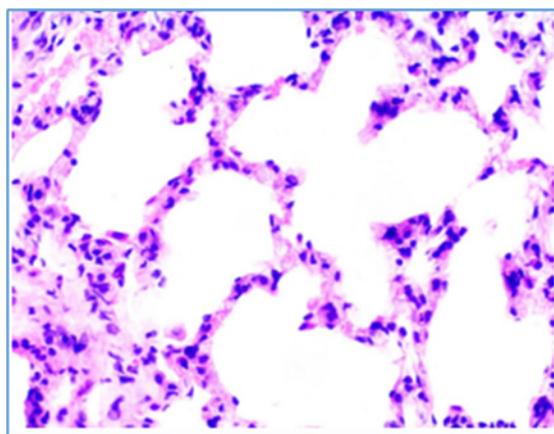
## Результаты

### Гистологическое строение легкого в норме

Гистологическое строение легкого 14-месячных крыс в норме представлено на рисунке 1. Слизистая оболочка средних бронхов имела складчатый вид и была выстлана однослойным многоядным мерцательным эпителием и лежащей ниже тонкой собственной пластинкой слизистой оболочки.



А



Б

Рисунок 1. Гистологическое строение легкого крыс контрольной группы:

А — воздухоподводящие пути и респираторные отделы (малый бронх – указан стрелкой);

Б — альвеолярные ходы и альвеолярные мешочки.

Окраска: гематоксилин и эозин. Увеличение:  $\times 100$  (А),  $\times 400$  (Б)

Figure 1. Histological structure of the rats' lungs in the control group:

А — Air supply tracts and respiratory sections (small bronchus is indicated by an arrow).

Б — Alveolar ducts and alveolar sacs

Hematoxylin-eosin staining, magnification is  $\times 100$  (A),  $\times 400$  (B)

В расположенной под мышечной пластинкой подслизистой оболочке находились секреторные отделы желез и лимфоидные узелки разного размера. За изогнутыми пластинками и островками гиалинового хряща дифференцировалась адвентициальная оболочка, содержащая скопления адипоцитов. Стенка малых бронхов и бронхиол состояла из двух оболочек — слизистой и адвентициальной. В эпителиальной выстилке респираторных отделов обнаруживались макрофаги с бобовидным или округлым ядром. В некоторых альвеолах выявлялись участки разрушения эпителиальной выстилки и обнажения базальной мембраны.

### Радиационно-индуцированные гистологические изменения легкого

На 21-е сутки эксперимента легкие лабораторных крыс после облучения поглощенной дозой в 15 Гр сохраняли обычные черты органотипического строения, вместе с этим наблюдались патологические изменения, вызванные воздействием радиационного облучения. В периферических отделах легких определялась диффузная панацинарная эмфизема (рисунок 2А). Выявлялись истончения и разрывы стенок респираторных бронхиол, альвеолярных ходов и альвеол. В альвеолах определялись гиперплазия альвеолоцитов второго типа, десквамация альвеолоцитов первого типа и отек в межальвеолярных перегородках.

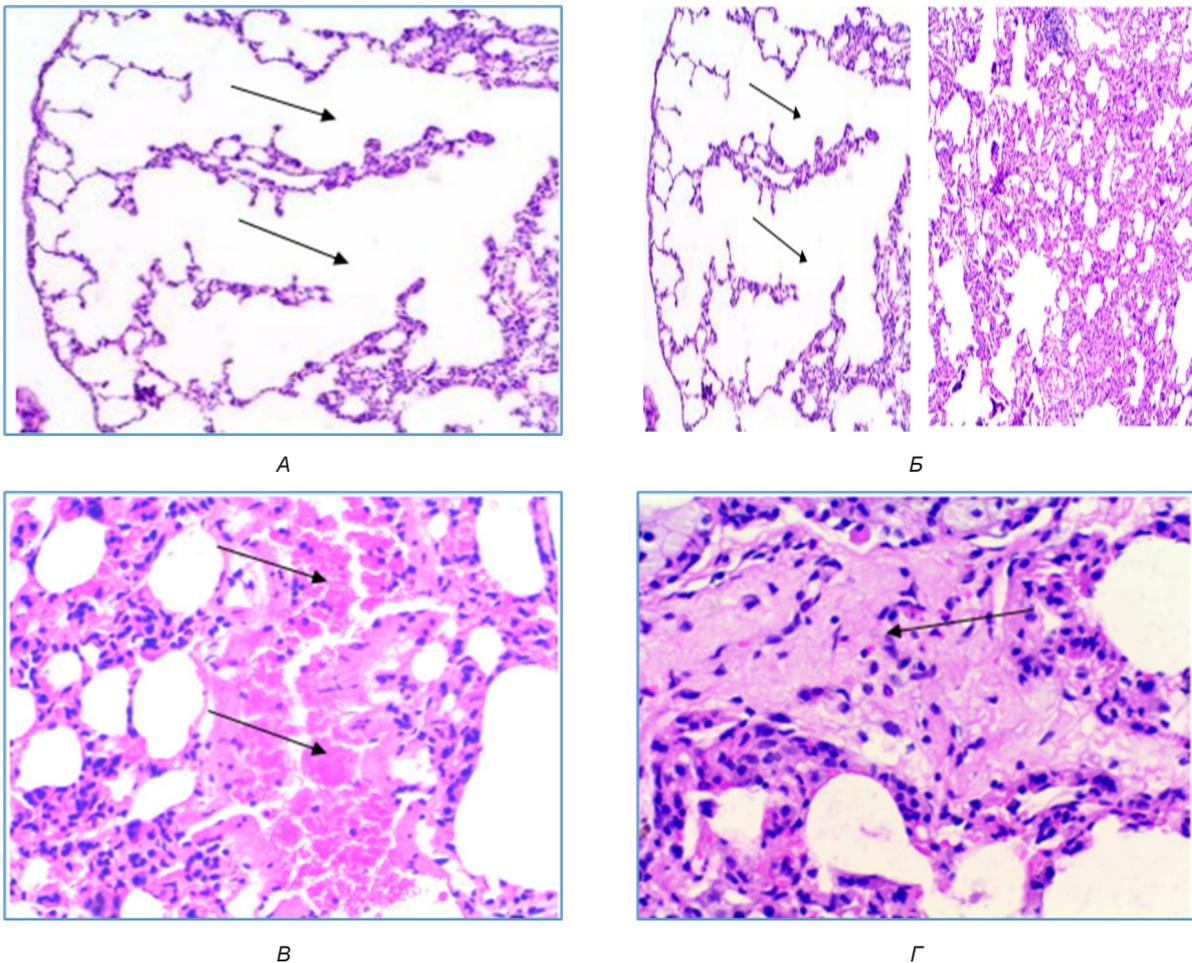


Рисунок 2. Гистологическое строение легкого крыс, облученных рентгеновским излучением в дозе 15 Гр:  
А — панацинарная эмфизема, истончения и разрывы стенок альвеол и альвеолярных ходов (указано стрелкой);  
Б — интерстициальная пневмония с формированием межальвеолярного периваскулярного и перибронхиального фиброза;  
В — очаги ателектазов с участками геморрагического пропитывания (указано стрелкой) и полнокровия в капиллярах;  
Г — очаг пневмофиброза (указано стрелкой).

Окраска: гематоксилин и эозин. Увеличение:  $\times 100$  (А, Б);  $\times 400$  (В, Г)

Figure 2. Histological structure of the lung of rats, irradiated at a dose of 15 Gy.

- А — Panacinar emphysema, thinning and ruptures of the walls of the alveoli and alveolar ducts (indicated by arrow).  
Б — Interstitial pneumonia with the formation of interalveolar perivascular and peribronchial fibrosis.  
В — Foci of atelectasis with areas of hemorrhagic impregnation (indicated by an arrow) and congestion in the capillaries.  
Г — Focus of pneumofibrosis (indicated by the arrow)  
Hematoxylin-eosin staining, magnification is  $\times 100$  (А),  $\times 400$  (В)

В целом морфологическая картина легких соответствовала интерстициальной пневмонии с формированиями межальвеолярного периваскулярного и перибронхиального фиброза (рисунок 2Б). На фоне пневмонии в паренхиме легкого были выявлены множественные очаги ателектазов с участками геморрагического пропитывания и полнокровия в кровеносных сосудах (рисунок 2В).

Отдельные альвеолы и альвеолярные ходы включали большое количество пенистых макрофагов. В просвете мелких бронхов определялись десквамация реснитчатого эпителия и формирующиеся гиалиновые мембраны.

В некоторых участках наблюдались очаги массивного разрастания жировой ткани (липоматоз). Следует отметить, что на фоне интер-

стициальной пневмонии формировались очаги пневмофиброза. У двух лабораторных животных выявлена сливная полисегментарная бронхопневмония с абсцедированием, которая захватывала до 30 % доли легкого (рисунок 2Г).

При облучении в дозе 1 Гр у лабораторных животных на 21-е сутки эксперимента также сохранялись органотипические черты строения. Также, как и при облучении дозой 15 Гр, субплеврально определялись очаги панацинарной эмфиземы, однако их площадь и степень выраженности была визуально меньше в сравнении с дозой облучения в 15 Гр (рисунок 3А). Определялись слабо выраженная очаговая интерстициальная пневмония, мелкие очаги ателектазов и кровоизлияния (рисунок 3Б).

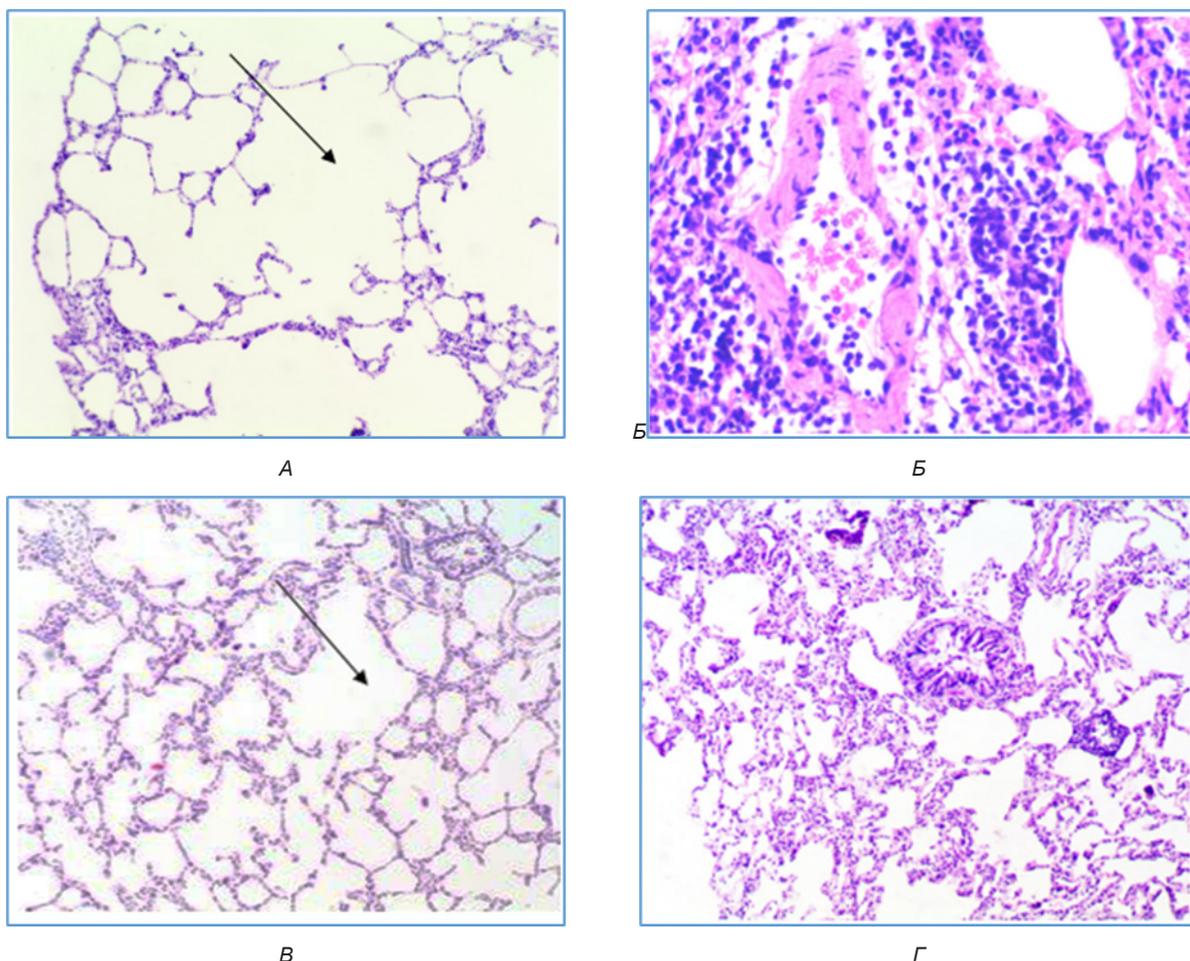


Рисунок 3. Гистологическое строение легкого крыс, облученных рентгеновским излучением в дозе 1 Гр (А, Б) и 0,1 Гр (В, Г):

- А — панацинарная эмфизема (указано стрелкой) (1 Гр);  
 Б — очаговая интерстициальная пневмония с мелкими очагами ателектазов (1 Гр);  
 В — очаговая центроацинарная эмфизема (указано стрелкой) (0,1 Гр);  
 Г — интерстициальный альвеолит (0,1 Гр).

Окраска: гематоксилин и эозин. Увеличение:  $\times 100$  (А, В),  $\times 400$  (Б, Г)

Figure 3. Histological structure of the lung of rats irradiated at doses of 1 Gy (A, B) and 0.1 Gy (C, D).

- А — Panacinar emphysema (indicated by an arrow) (1 Gy).  
 В — Focal interstitial pneumonia with small foci of atelectasis (1 Gy).  
 С — Focal centroacinar emphysema (indicated by an arrow) (0.1 Gy).  
 D — Interstitial alveolitis (0.1 Gy)

Hematoxylin-eosin staining, magnification is  $\times 100$  (A),  $\times 400$  (B)

Отдельные мелкие бронхи имели морфологические признаки хронического панбронхита, при этом просвет бронхов содержал десквамированный эпителий и единичные лимфоциты. Кроме того, в просвете мелких бронхов формировались слизистые пробки, включающие эпителий, слизь и нити фибрина. Морфологические проявления интерстициальной или сливной полисегментарной пневмонии отсутствовали.

При облучении лабораторных животных дозой 0,1 Гр в легких определялись патологические изменения с минимальной выраженностью: выявлялась слабо выраженная очаговая центроацинарная эмфизема, в некоторых участках по периферии легких были обнаружены полнокровные сосуды. Морфологические изменения практически отсутствовали, однако выявлялись мелкие ателектазы и в отдельных участках наблюдалась картина, морфологически сходная с очаговым интерстициальным альвеолитом (рисунок 3Г). В альвеолах и альвеолярных ходах обнаруживался десквамированный эпителий, слабо выраженная очаговая инфильтрация межальвеолярных перегородок лимфоцитами и единичными нейтрофилами.

Качественно-количественная оценка степени фиброза в легких показала рост степени фиброза в легких в зависимости от дозы облучения ( $r_s = 0,5531$ ,  $p < 0,0001$ ). Максимальный показатель степени фиброза наблюдался при облучении в дозе 15 Гр и составил 4,0 [3,0; 5,0] усл. ед. и был статистически значимо выше в сравнении с дозой облучения 1,0 Гр — 3,0 [2,0; 4,0] усл. ед. ( $p < 0,0006$ ) и 0,1 Гр — 2,0 [2,0; 3,0] усл. ед. ( $p < 0,0001$ ). Степень фиброза при облучении в дозе 1,0 Гр была статистически значимо выше в сравнении с дозой 0,1 Гр ( $p < 0,0006$ ).

### Радиационно-индуцированные изменения свойств наноразмерных частиц крови и активности ферментов антиокислительной системы крови

Размеры наночастиц плазмы крови крыс, оцененные методом динамического светорассеяния, для контрольных животных составили 38,4 (34,2; 50,0) нм, что соответствует размерам экзосом [6, 9]. В крови облученных животных размеры этих наноразмерных частиц существенно увеличивались после облучения крыс с дозой 0,1 Гр и трехнедельного постлучевого периода (рисунок 4А).

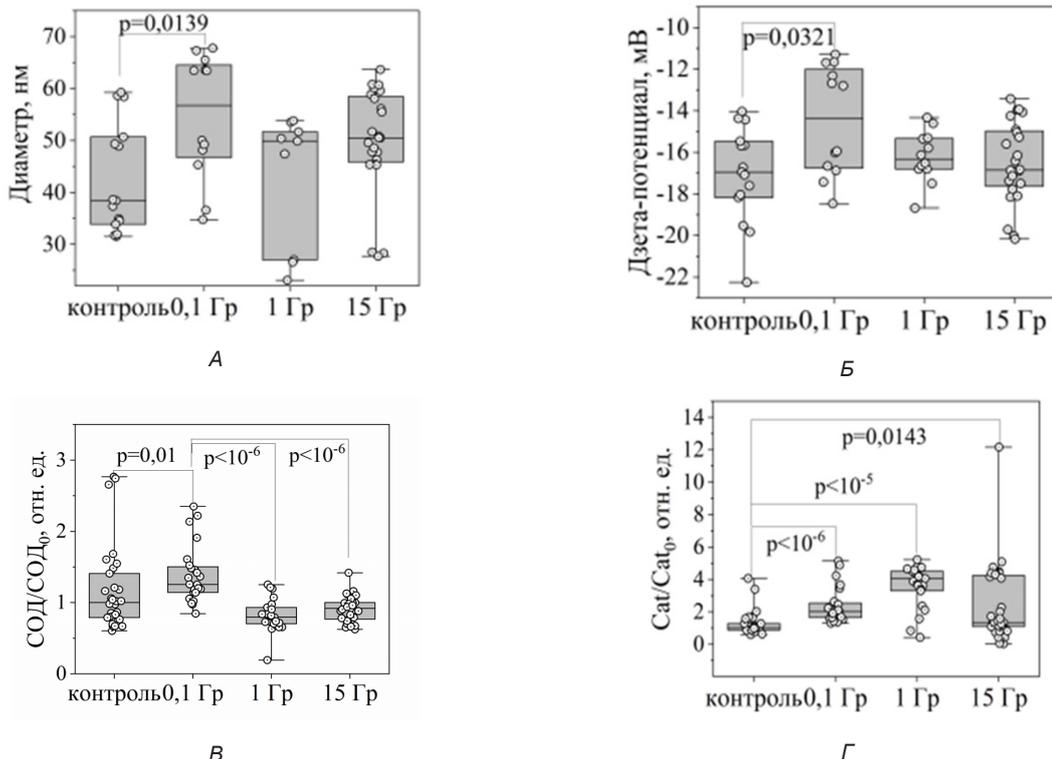


Рисунок 4. Радиационно-индуцированные изменения параметров наноразмерных частиц крови (А — диаметра; Б — дзета-потенциала) и активности системы антиокислительной защиты (В — супероксиддисмутазы; Г — каталазы).

Данные представлены как медиана, границы интерквартильного интервала, максимальное и минимальное значения, критерий Манна — Уитни

Figure 4. Radiation-induced changes in the parameters of nanoscale blood particles (A — diameter; B — zeta potential) and activity of the antioxidant defense system (C — superoxide dismutase; D — catalase)

Data are presented as median, interquartile range limits, maximum and minimum values, Mann-Whitney test

Наноразмерные частицы крови крыс контрольной группы характеризовались отрицательным потенциалом  $-16,95(-18,11; -15,57)$  мВ. После облучения животных дзета-потенциал наночастиц крови увеличивался при дозе 0,1 Гр (рисунок 4Б).

Антиокислительная система крови претерпевала также существенные изменения после облучения крыс рентгеновским излучением. Так, активность супероксиддисмутазы увеличивалась при дозе 0,1 Гр и затем существенно снижалась при большей дозе (1 и 15 Гр) (рисунок 4В). Активность каталазы крови увеличивалась после облучения животных в зависимости от дозы облучения (рисунок 4Г).

### *Общие взаимосвязи параметров разной степени иерархии организма при облучении верхней части туловища крыс*

В работе проведен факторный анализ (метод главных компонент) данных для каждого из 22 животных по параметрам разной степени иерархии: организм (вес), ткань (степень фиброза, активность супероксиддисмутазы и каталазы крови), постклеточные элементы крови — наноразмерные частицы (диаметр и дзета-потенциал) для выявления факторов, оказывающих наиболее существенное влияние на изменчивость наборов параметров для каждого животного. По результатам факторного анализа первичных результатов было выделено 3 обобщенных фактора. В состав первого фактора с положительными и значимыми факторными весами вошли следующие показатели: доза облучения ( $r = 0,95$ ), вес животного ( $r = -0,79$ ) и степень фиброза в легком ( $r = 0,84$ ). Этот фактор определяет соотношение дозы облучения организма с общими последствиями облучения для организма: влиянием на вес и степень фиброза соединительной ткани организма. В состав второго фактора вошли: размеры наноразмерных частиц крови ( $r = 0,92$ ) и активность супероксиддисмутазы ( $r = 0,66$ ). В состав третьего фактора вошли: дзета-потенциал наноразмерных частиц крови ( $r = -0,87$ ) и активность каталазы ( $r = -0,71$ ). Два последних фактора описывают взаимосвязь параметров наноразмерных частиц крови (экзосом) и антиокислительной способности крови. При этом выделяется связь размеров частиц с активностью супероксиддисмутазы и электрических свойств частиц с активностью каталазы крови.

### **Обсуждение**

Среди радиационно-индуцированных патологий наиболее часто и подробно в литературных источниках описано радиационное поражение легких. В течение первых шести месяцев

после облучения у пациентов обычно диагностируют лучевой пневмонит, требующий специфического лечения. При прогрессировании острого пневмонита в дальнейшем развивается радиационно-индуцированный фиброз легких [4]. На настоящий момент радиационно-индуцированный фиброз описывают с помощью трехэтапной модели, включающей начальную воспалительную стадию, последующий генерализованный фиброз и фиброатрофическую стадию. Ионизирующее излучение изменяет функции и жизнеспособность клеток, что способствует развитию воспалительного процесса. Повышенное выделение радиационно-поврежденными клетками различных хемоаттрактантов облегчает хемотаксис иммунных клеток и рекрутирование нейтрофилов и макрофагов. Продуцируемые этими клетками факторы роста, такие как PDGF и TGF- $\beta$ , способствуют миграции и пролиферации фибробластов в поврежденной облучением области и их дифференцировке в атипичные миофибробласты, что ведет к повышению синтеза фибробластами белков внеклеточного матрикса. Таким образом, радиационно-индуцированный фиброз является результатом совместной работы фибробластов и клеток иммунной системы не только в месте облучения, но и в отдаленных от места облучения областях организма. Кровь с современной точки зрения можно моделировать как сложную систему с разными уровнями иерархии: макросистему клеток крови и постклеточных элементов (эритроцитов и тромбоцитов), дисперсную систему наночастиц крови (экзосомы, немембранные внеклеточные наночастицы в виде экзомов, супермеров и липопротеинов) и плазму (водный раствор ионов неорганических веществ, низкомолекулярных и высокомолекулярных соединений). Дисперсная система наночастиц крови участвует в каждом ответе организма на различные внутренние и внешние раздражители, а также в формировании основных свойств крови. В нашей работе показано, что доза облучения коррелирует с параметрами, определяемыми на уровне целого организма (вес) и органа (фиброз легкого). Согласно результатам факторного анализа доза облучения совместно с весом и степенью фиброза составляет первый главный фактор, определяющий различие состояний крыс. Два других фактора не включают непосредственно дозу облучения в качестве главного параметра, а определяются взаимосвязями редокс-свойств крови и параметрами наночастиц крови. Редокс-система крови и система наночастиц крови являются динамическими системами. Ионизирующее излучение в зависимости от дозы изменяет состояние этих систем в самые ранние периоды после облучения (минуты — дни). В работе проведено

изучение параметров, измеренных после трехнедельного постлучевого периода. Зависимость от дозы этих параметров является не монотонно меняющейся, и данные, вероятно, не могут быть достаточно корректно интерпретированы линейными взаимосвязями, на которых основан факторный анализ. Немонотонный характер зависимости параметров наночастиц крови коррелирует с параметрами редокс-свойств крови и согласуется с трехстадийной моделью развития радиационно-индуцированного фиброза. После трехнедельного постлучевого периода наблюдается различие в степени развития стадий фиброза в зависимости от дозы облучения. Для каждой дозы пик нарастания измеряемых параметров приходится на разное время, и, вероятно, только для малой дозы (0,1 Гр) он еще не пройден полностью в изучаемый период времени.

Доза 0,1 Гр является верхним пределом области малых доз в медицине. С учетом того, что полулетальная доза для крыс превышает по величине полулетальную дозу для человека, доза 0,1 Гр является малой. В нашей работе установлено, что при этой малой дозе локального облучения после трехнедельного постлучевого периода сохраняются значительные изменения состояния организма на разных иерархических уровнях. В большей степени изменения проявляются в антиокислительной системе крови и системе наночастиц крови, в меньшей — на уровне состава и строения органа, например легкого. Увеличение размеров экзосом и снижение их отрицательного заряда способствуют более эффективному взаимодействию с отрицательно заряженной поверхностью клеток организма. Дальнейшее изучение влияния радиационно-модифицированных наночастиц крови целесообразно для углубления понимания механизмов развития постлучевых патологических состояний, таких как радиационно-индуцированный фиброз.

В настоящее время радиационно-индуцированное поражение легких после лучевой терапии злокачественных новообразований легких, молочной железы, пищевода, лимфомы Ходжкина с поражением лимфатических узлов средостения хорошо изучено в экспериментальных моделях и в клинических исследованиях. Однако остаются нерешенными вопросы профилактики и лечения пациентов с радиационно-индуцированными поражениями легких, которые требуют проведения дальнейших исследований.

## Заключение

Проведенное исследование показало, что максимальные патогистологические изменения отмечаются после облучения поглощенной дозой в 15 Гр. На 21-е сутки эксперимента в легких у лабораторных животных формировалась интерстициальная пневмония с явлениями фиброза. Степень тяжести патогистологических изменений снижалась с уменьшением дозы облучения и была минимальной при дозе облучения в 0,1 Гр. При этом степень фиброза увеличивалась с ростом дозы облучения. Для малой дозы (0,1 Гр) при наличии минимальных патологических изменений в легких сохраняются значительные изменения состояния организма на разных иерархических уровнях. В большей степени изменения проявляются в антиокислительной системе крови и системе наночастиц крови. В этой связи дальнейшее изучение радиационно-модифицированных изменений наночастиц крови целесообразно не только для углубления понимания механизмов развития постлучевых патологических состояний, таких как радиационно-индуцированный фиброз, но и для оценки эффективности в эксперименте новых радиопротекторных лекарственных средств с целью их последующего внедрения в клиническую практику.

## Список литературы / References

1. Ashokkumar M, Ajayan PM. Materials science perspective of multifunctional materials derived from collagen. *International Materials Reviews*. 2021;66(3):160-187. DOI: <https://doi.org/10.1080/09506608.2020.1750807>
2. Straub JM, New J, Hamilton CD, Lominska C, Shnayder Y, Thomas SM. Radiation-induced fibrosis: mechanisms and implications for therapy. *Journal of cancer research and clinical oncology*. 2015;141:1985-1994. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00432-015-1974-6>
3. Purkayastha A, Sharma N, Sarin A, Bhatnagar S, Chakravarty N, Mukundan H, Suhag V, Singh S. Radiation Fibrosis Syndrome: the Evergreen Menace of Radiation Therapy. *Asia Pac J Oncol Nurs*. 2019;6(3):238-245. DOI: [https://doi.org/10.4103/apjon.apjon\\_71\\_18](https://doi.org/10.4103/apjon.apjon_71_18)
4. Fijardo M, Kwan JYY, Bissey PA, Citrin DE, Yip KW, Liu FF. The clinical manifestations and molecular pathogenesis of radiation fibrosis. *EBioMedicine*. 2024;103:105089. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2024.105089>
5. Матвеевкова ТД, Назаренко ИВ, Юрковский АМ, Стародубцева МН. Радиационно-индуцированные изменения свойств и функций фибробластов. *Проблемы здоровья и экологии*. 2023;20(4):7-17. DOI: <https://doi.org/10.51523/2708-6011.2023-20-4-01>
6. Matveyenkova TD, Nazarenko IV, Yurkovskiy AM, Starodubtseva MN. Radiation-induced changes in the properties and functions of fibroblasts. *Health and Ecology Issues*. 2023;20(4):7-17. DOI: <https://doi.org/10.51523/2708-6011.2023-20-4-01>
7. Chelnokova IA, Nikitina IA, Starodubtseva MN. Mechanical properties of blood exosomes and lipoproteins after the rat whole blood irradiation with X-rays in vitro explored by atomic force microscopy. *Micron*. 2024;184:103662. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micron.2024.103662>
7. Goth LA. Simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clin Chim Acta*. 1991;196:143-152.

DOI: [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(91\)90067-M](https://doi.org/10.1016/0009-8981(91)90067-M)

8. Hübner RH, Gitter W, Eddine N, Mokhtari E, Mathiak M, Both M, Bolte H, Freitag-Wolf S, Bewig B. Standardized Quantification of Pulmonary Fibrosis in Histological Samples. *BioTechniques*. 2008;44(4):507-517.

DOI: <https://doi.org/10.2144/000112729>

9. Bairamukov VY, Bukatin AS, Kamyshinsky RA, Burdakov VS, Pichkur EB, Shtam TA, Starodubtseva MN. Nanomechanical characterization of exosomes and concomitant nanoparticles from blood plasma by PeakForce AFM in liquid. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*. 2022;1866(7):130-139.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2022.130139>

## Информация об авторах / Information about the authors

**Надыров Эльдар Аркадьевич**, к.м.н., доцент, доцент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии, УО «Гомельский государственный медицинский университет», Гомель, Беларусь

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0896-5611>e-mail: [nadyrov2006@rambler.ru](mailto:nadyrov2006@rambler.ru)

**Кравцова Ирина Леонидовна**, к.м.н., доцент, заведующий кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии, УО «Гомельский государственный медицинский университет», Гомель, Беларусь

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5038-9670>e-mail: [iuri\\_shpakovski@mail.ru](mailto:iuri_shpakovski@mail.ru)

**Шклярова Анастасия Николаевна**, младший научный сотрудник лаборатории устойчивости биологических систем, ГНУ «Институт радиобиологии Национальной академии наук Беларуси», Гомель, Беларусь

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-6365-3856>e-mail: [anshklarava@gmail.com](mailto:anshklarava@gmail.com)

**Стародубцева Мария Николаевна**, д.б.н., доцент, профессор кафедры медицинской и биологической физики, УО «Гомельский государственный медицинский университет»; главный научный сотрудник лаборатории устойчивости биологических систем, ГНУ «Институт радиобиологии Национальной академии наук Беларуси», Гомель, Беларусь

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8516-0884>e-mail: [marysta@mail.ru](mailto:marysta@mail.ru)

**Eldar A. Nadyrov**, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Associate Professor at the Department of Histology, Cytology and Embryology, Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0896-5611>e-mail: [nadyrov2006@rambler.ru](mailto:nadyrov2006@rambler.ru)

**Irina L. Kravtsova**, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Histology, Cytology and Embryology, Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5038-9670>e-mail: [iuri\\_shpakovski@mail.ru](mailto:iuri_shpakovski@mail.ru)

**Nastassia M. Shklarava**, Junior Researcher at the Laboratory of Biological Systems Stability, Institute of Radiobiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Gomel, Belarus

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-6365-3856>e-mail: [anshklarava@gmail.com](mailto:anshklarava@gmail.com)

**Maria N. Starodubtseva**, Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, Professor at the Department of Medical and Biological Physics, Gomel State Medical University; Chief Researcher at the Laboratory of Stability of Biological Systems, Institute of Radiobiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Gomel, Belarus

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8516-0884>e-mail: [marysta@mail.ru](mailto:marysta@mail.ru)

## Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

**Надыров Эльдар Аркадьевич**

e-mail: [nadyrov2006@rambler.ru](mailto:nadyrov2006@rambler.ru)

**Eldar A. Nadyrov**

e-mail: [nadyrov2006@rambler.ru](mailto:nadyrov2006@rambler.ru)

Поступила в редакцию / Received 16.09.2024

Поступила после рецензирования / Accepted 09.10.2024

Принята к публикации / Revised 22.11.2024