Влияние электронного излучения на эритроциты крови в патологии

© Т.Е. Гоголева [1], С.Н. Мамаева [1], М.М. Рычков [2], Г.В. Максимов [3]

[1] Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова, Якутск, Россия
[2] Национальный исследовательский Томский политехнический университет, Томск, Россия
[3] Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия
E-mail: gogoltakuo98@mail.ru

Поступило в Редакцию 29 апреля 2025 г.
В окончательной редакции 11 июня 2025 г.
Принято к публикации 11 июня 2025 г.

Исследованы эритроциты венозной крови пациентов с диагнозом рак молочной железы с помощью сканирующего электронного микроскопа (СЭМ). Образцы — сухие мазки на предметных стеклах, предварительно облученные электронным излучением (50, 100, 150 Gy) на бетатроне КМБ-8. Получены СЭМ-изображения, проанализированы размеры и формы клеток, определено процентное соотношение морфологических типов, построены гистограммы распределения по размерам, обнаружены наноразмерные структуры на поверхности. Установлены значительные изменения морфологии. Наноразмерные структуры сохраняются после облучения, что может указывать на их вирусную природу.

Ключевые слова: эритроциты, ионизирующее излучение, электронное излучение, бетатрон, интраоперационная лучевая терапия, рак молочной железы, наноразмерные структуры.

DOI: 10.61011/PJTF.2025.18.61079.7917

Несмотря на интенсивное развитие методов диагностики и терапии, во всем мире продолжает расти число онкологических заболеваний, в том числе рака молочной железы (РМЖ), который остается наиболее распространенным злокачественным новообразованием. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения, РМЖ занимает ведущее место в структуре опухолей женской репродуктивной системы [1]. В России в структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями женского населения рак молочной железы занимает первое место (22.5 %), как и в структуре смертности (15.9 %) [2]. Изучение факторов риска развития РМЖ требует мультидисциплинарного подхода для понимания причин заболевания, совершенствования профилактики и методов терапии [3]. Несмотря на это, в настоящее время отсутствуют достоверные данные о механизмах развития рецидивов и явления метастазирования раковых опухолей. Для разработки более эффективных методик терапии и ее мониторинга необходимо проводить исследования, которые могут способствовать появлению новых представлений о развитии патологии и реакции организма на проведение терапии. Одним из современных методов терапии РМЖ является интраоперационная лучевая терапия (ИОЛТ), проводимая с использованием пучков высокоэнергетических электронов [4]. Электронное излучение при соответствующем подборе энергии благодаря ограниченному пробегу в облучаемой среде не подвергает облучению здоровые ткани, расположенные за опухолью [5]. Известно, что в области локализации опухоли образуется большое количество микрососудов [6], что увеличивает вероятность воздействия ионизирующего излучения (ИОИ) на эритроциты. Детальное исследование изменений морфологии эритроцитов под влиянием ИОИ может позволить установить возможные последствия и определить пути их коррекции.

Воздействие ионизирующего излучения на кроветворную функцию костного мозга приводит к развитию анемии. Однако изменения кислородтранспортной функции эритроцитов, вызванные воздействием ИОИ на молекулярном уровне, остаются недостаточно изученными [7–10]. ИОИ вызывает образование свободных радикалов в клетках крови, что может привести к повреждению клеточных мембран, белков и ДНК (в частности, ретикулоцитов). В эритроцитах это приводит к повреждениям мембранных структур, что нарушает нормальный обмен веществ и вызывает осмотическую нестабильность клетки, что может привести к ее лизису [9].

Целью настоящей работы является исследование морфологических изменений эритроцитов крови пациенток с РМЖ под воздействием электронного излучения в модельных условиях с использованием сканирующей электронной микроскопии (СЭМ).

Объектами исследования являются образцы венозной крови (в объеме 1 ml в пробирках) семи пациенток Якутского республиканского онкологического диспансера с диагнозом РМЖ в возрасте от 37 до 78 лет. Образцы, помещенные в пробирки, облучались электронным пучком с помощью малогабаритного бетатрона КМБ-8 (Томский политехнический университет, Россия). Суммарная доза составила 150 Gy, данная доза была доставлена тремя фракциями по 50 Gy. Мазки готовились сразу после каждого этапа облучения, т. е. было подготовлено по четыре мазка для каждого образца крови в пробирках до и после облучения. Пробирки фиксировались на специальном столе и помещались в тубус (сменный аппликатор) бетатрона. После облучения из образцов

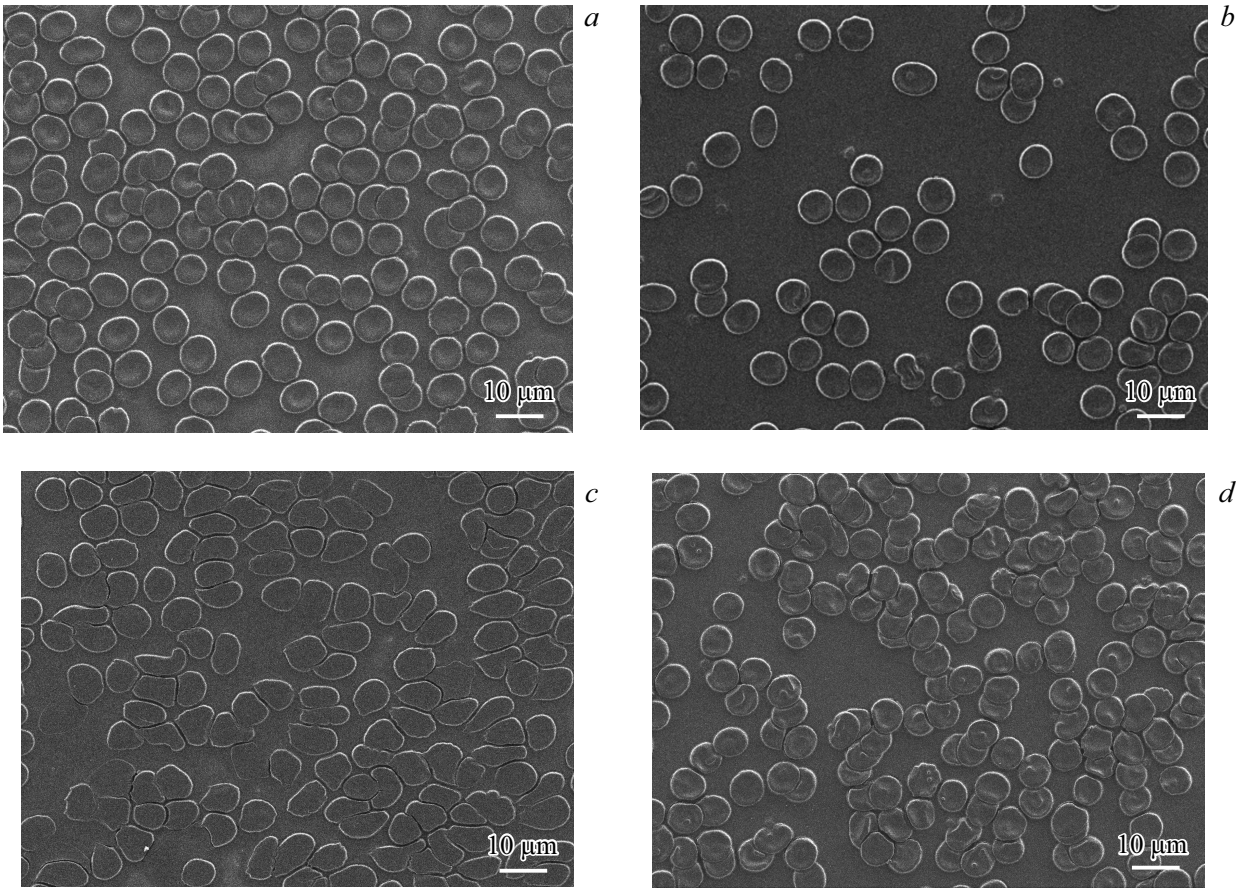

Рис. 1. Примеры СЭМ-изображений эритроцитов крови пациентов с диагнозом РМЖ. *a* — до облучения, *b* — первый этап облучения электронами (50 Gy), *c* — второй этап облучения электронами (100 Gy), *d* — третий этап облучения электронами (150 Gy).

Процентное соотношение количества эритроцитов по формам

Доза, Gy	Дискоцит, %	Овалоцит, %	Сфероцит, %	Шизоцит, %	Пластицит, %	Акантоцит, %	Стомацит, %	Эхиноцит, %
0 (до облучения)	29.9	28.6	4.2	11	16.7	9.6	–	–
50	26.6	19.4	6.5	4.8	20	10.6	3.2	8.9
100	–	17.3	11.5	28.8	–	42.3	–	–
150	–	5.4	19.8	14.4	26.2	18.9	11.7	3.6

подготовлены мазки, которые наносились на предметное стекло и высушивались на воздухе при комнатной температуре (23 °C). Мазки были исследованы на электронном микроскопе (JSM-7800F JEOL, Япония) при низкокиловольтных ускоряющих напряжениях 1 и 2 kV с подачей напряжения 8–10 V на исследуемый объект. С помощью программного обеспечения JMicroVision v1.2.7 определены количество и линейные размеры эритроцитов в поле зрения на СЭМ-изображениях при увеличении в 1000×. На основе полученных данных в программе Origin pro были построены гистограммы линейных размеров эритроцитов до и после облучения.

В результате проведенных экспериментов были получены СЭМ-изображения эритроцитов, на основе которых выявлено, что после облучения в крови содержится большое количество дисморфных клеток (рис. 1).

Дисморфные эритроциты увеличиваются с каждым этапом облучения. Если до облучения и на первом этапе облучения (50 Gy) преобладают дискоциты и овалоциты, которые относятся к нормальным эритроцитам, то с каждым последующим этапом облучения количество видов дисморфных эритроцитов (шизоцит, сфероцит, пластицит, акантоцит, стомацит, эхиноцит) и их процентное соотношение увеличиваются (см. таблицу).

На рис. 2 представлено распределение линейных размеров эритроцитов до облучения и после первого, второго и третьего этапов облучения.

Сравнение размеров эритроцитов в ходе облучения показывает, что средние линейные размеры эритроцитов после первых двух этапов облучения (50 и 100 Gy) уменьшаются, а после третьего этапа (150 Gy) увеличиваются (рис. 3). Это может быть связано с увеличением количества сфероцитов с линейными размерами, превосходящими линейные размеры эритроцитов в норме, а также эхиноцитов. Эритроциты приобретают такие необратимые формы (сфероциты) перед гемолизом. Увеличение средних размеров эритроцитов в ходе данного эксперимента согласуется с результатами работы исследования влияния ИОИ на кровь млекопитающих, показывающих увеличение гематокрита [11].

Кроме того, по результатам СЭМ-исследования на поверхности эритроцитов крови пациентов с диагнозом РМЖ обнаруживаются наноразмерные структуры (НРС) (рис. 4), которые могут быть вирусными частицами или экзосомами.

СЭМ-изображения эритроцитов показывают, что эти частицы не исчезают после воздействия ИОИ. Это может свидетельствовать о том, что облучение дозой 150 Gy недостаточно для того, чтобы уничтожить их. В работах Близнюка [12], Sadraeian [13] указывается, что для инактивации вирусов *in vitro* для радиационной стерилизации биологических материалов применяются дозы в диапазоне от 10 до 50 kGy. Таким образом, это явление может свидетельствовать о том, что наблюдаемые НРС могут являться вирусными частицами, характеризуемыми как микроорганизмы с высокой радиорезистентностью.

Устойчивость НРС к облучению подтверждается и результатами других исследований, в которых их количество оставалось неизменным даже после лучевой терапии [14,15]. Это указывает на то, что НРС могут представлять собой вирусные частицы.

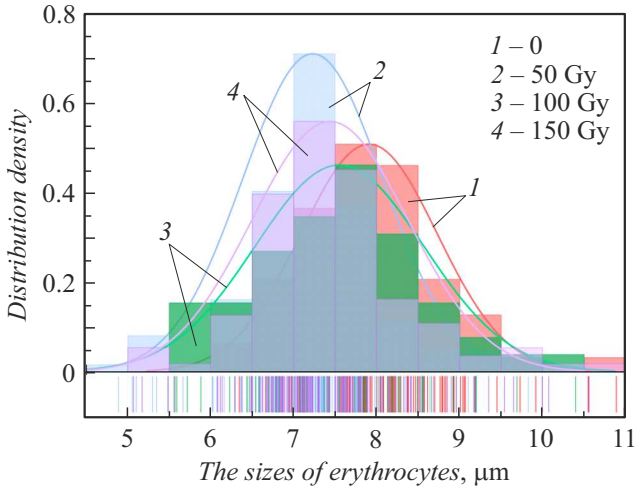

Рис. 2. Распределения размеров эритроцитов крови пациентов с диагнозом РМЖ до облучения и после первого, второго и третьего этапов облучения. Цветной вариант рисунка представлен в электронной версии статьи.

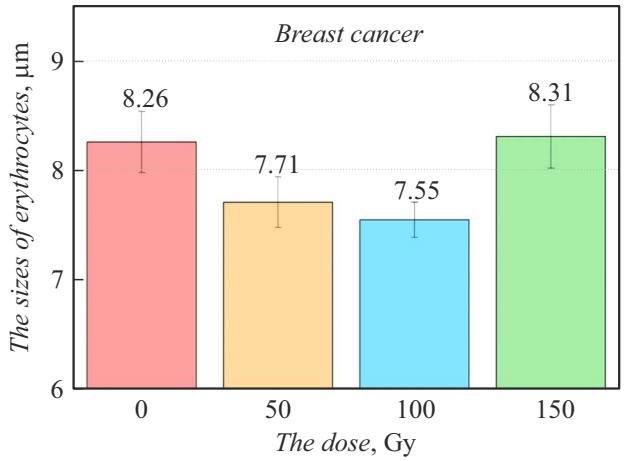

Рис. 3. Средние размеры эритроцитов крови до облучения и после первого, второго и третьего этапов облучения электронами образцов крови пациентов с диагнозом РМЖ.

В результате исследования было показано, что НРС на поверхности эритроцитов не разрушаются при высоких дозах и их количество не меняется. Это свидетельствует о том, что указанные частицы являются вирусными частицами [14]. НРС, которые возникают в плазме крови во время лучевой терапии, могут рассматриваться как экзосомы, возникающие вследствие воздействия ИОИ на опухоль [14], т. е. можем предположить, что увеличение количества НРС на поверхности эритроцитов и в плазме крови после проведения ИОЛТ может свидетельствовать о выделении раковыми клетками приповерхностного слоя „ложе“ опухоли экзосом, что может в дальнейшем являться причиной возникновения рецидива, явления метастазирования, а также указывать на то, что после резекции новообразования в окружающих опухоль тканях остаются в большом количестве раковые клетки. Таким образом, изученные изменения формы и размеров эритроцитов в большом количестве, а также наличие на их поверхности НРС и неизменность их количества во время воздействия ИОИ могут рассматриваться как данные, характерные для воздействия излучения при ИОЛТ. Кроме того, подобные эксперименты могут в дальнейшем способствовать изучению дозовой гомогенности HI распределения дозы в пределах объема мишени во время проведения ИОЛТ, т. е. увеличение однородности распределения дозы может быть связано с отсутствием экзосом в крови. Увеличение количества НРС в образцах крови может свидетельствовать о возможном неблагоприятном прогнозе после ИОЛТ, который может быть связан с тем, что не было достигнуто необходимое значение дозовой гомогенности излучения. Неоднородное облучение обусловливает доставку дозы в недостаточном количестве в некоторые части мишени,

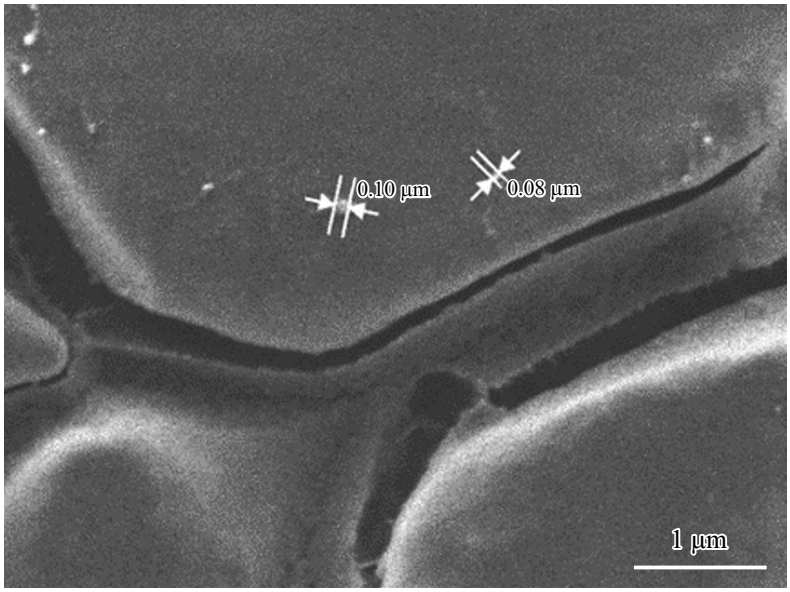

Рис. 4. Наноразмерные структуры на поверхности эритроцитов крови пациентов с диагнозом РМЖ.

что в свою очередь может способствовать рецидиву опухолевого образования. Изучение наличия НРС в крови под воздействием излучения может способствовать развитию технологий достижения эффективности ИОЛТ для получения значения дозовой гомогенности, например связанной с разработками различных аппликаторов бетатронов и тканеэквивалентных болюсов для них.

Таким образом, подобное изучение воздействия электронного ИОИ на эритроциты имеет важное значение для разработки новых методов защиты от ИОИ и для улучшения метода радиотерапии — эффективности ИОЛТ.

Финансирование работы

Работа выполнена в рамках государственного задания № FSRG-2024-0002 и при финансовой поддержке Эндаумент-фонда Северо-Восточного федерального университета им. М.К. Аммосова.

Соблюдение этических стандартов

Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствуют этическим стандартам институционального и/или национального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики. От каждого из включенных в исследование участников было получено информированное добровольное согласие.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Список литературы

[1] *International agency for research on cancer* [Электронный ресурс]. https://gco.iarc.who.int/today/en/dataviz/pie?mode=cancer&types=0&sexes=2&populations=643

[2] *Злокачественные новообразования в России в 2023 году (заболеваемость и смертность)*, под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой (МНИОИ им. П.А. Герцена, М., 2024). https://oncology-association.ru/wp-content/uploads/2024/08/zis-2023-elektronnaya-versiya.pdf

[3] И.А. Акулова, *Клиническое значение высокодозной брахитерапии при проведении дополнительного облучения ложа удаленной опухоли при раке молочной железы*, автореф. канд. дис. (Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова, СПб., 2023).

[4] F.A. Calvo, R.M. Meirino, R. Orecchia, Crit. Rev. Oncol. Hematol., **59** (2), 106 (2006). DOI: 10.1016/j.critrevonc.2005.11.004

[5] В.Б. Сорокин, Изв. Томск. политехн. ун-та, **312** (S2), 361 (2008). https://cyberleninka.ru/article/n/formirovanie-elektronnogo-terapevticheskogo-puchka-meditsinskogo-betatrona-kmb-10-1

[6] А.Н. Ремизов, *Медицинская и биологическая физика* (Высш. шк., М., 1999).

[7] Ю.Б. Кудряшов, Б.С. Беренфельд, *Основы радиационной биофизики* (Изд-во МГУ, 1982).

[8] O.G. Luneva, S.V. Sidorenko, G.V. Maksimov, R. Grygorczyk, S.N. Orlov, Biochem. Moscow Suppl. A, **9** (3), 161 (2015). DOI: 10.1134/S1990747815040078

[9] Ф.Д. Шиффман, *Патофизиология крови* (Бином–Невский диалект, М.–СПб., 2000). https://studfile.net/preview/21491608/

[10] Б.И. Поливода, В.В. Конев, Г.А. Попов, *Биофизические аспекты радиационного поражения биомембран* (Энергоатомиздат, М., 1990).

[11] С.Н. Мамаева, С.М. Иванова, В.В. Шутова, Г.В. Максимов, Вестн. МГТУ им. Н.Э. Баумана. Сер. Естеств. науки, № 5 (104), 86 (2022). https://cyberleninka.ru/article/n/issledovanie-izmeneniy-sostoyaniya-eritrotsitov-i-plazmy-krovi-obezyan-pri-vozdeystvii-ioniziruyuschego-izlucheniya
[12] У.А. Близнюк, *Новые подходы к развитию методов радиационной обработки биологических объектов*, автореф. док. дис. (МГУ, М., 2024).
[13] M. Sadraeian, L. Zhang, F. Aavani, E. Biazar, D. Jin, eLight, **2**, 18 (2022). DOI: 10.1186/s43593-022-00029-9
[14] S.N. Mamaeva, I.V. Kononova, V.A. Alekseev, N.A. Nikolaeva, A.N. Pavlov, M.N. Semenova, G.V. Maksimov, Int. J. Biomed., **11** (1), 32 (2021). DOI: 10.21103/Article11(1)_OA6
[15] S.N. Mamaeva, V.A. Alekseev, N.A. Nikolaeva, T.A. Krylova, A.A. Gabysheva, A.N. Pavlov, I.V. Kononova, G.V. Maksimov, Int. J. Biomed., **13** (1), 69 (2023). DOI: 10.21103/Article13(1)_OA8