

О.Е. МИРГОРОДСКАЯ

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ТОНКОЙ КИШКИ МЫШИ ПОСЛЕ ОДНОКРАТНОГО ОБЛУЧЕНИЯ С РАЗЛИЧНЫМИ ПОГЛОЩЕННЫМИ ДОЗАМИ

Ключевые слова: облучение, слизистая оболочка, тонкая кишка, ворсинка, крипта, энтероциты, клетки Панета.

Радиационно-индуцированное повреждение кишечника – типичное осложнение при облучении, может быть вызвано различными источниками излучения. Клиническое лечение на сегодняшний день заключается в симптоматической поддерживающей терапии, так как специфические стратегии лечения отсутствуют. Основной мишенью лучевого поражения являются эпителиальные клетки слизистой оболочки тонкой кишки. Изучение морфологических изменений и механизмов повреждения эпителиоцитов необходимо при разработке модели радиационного повреждения кишечника для дальнейшей оценки степени выраженности фармакологической коррекции. **Цель работы** – дать морфологическую оценку состояния эпителиальной ткани слизистой оболочки тонкой кишки мыши на 9-е сутки после однократного воздействия рентгеновского облучения при различных поглощенных дозах (6,5, 7 и 7,8 Гр).

Материалы и методы. Исследование проводили на половозрелых беспородных белых мышках-самцах массой тела 18–22 г ($n = 50$). Острую лучевую болезнь моделировали при помощи рентгенотерапевтической установки РУМ-17. Животные трех опытных групп ($n = 15$ каждая) получали одноразовое рентгеновское облучение с различными поглощенными дозами 6,5, 7 и 7,8 Гр соответственно. На 9-е сутки после облучения материал фиксировали по рутинной методике для трансмиссионной электронной микроскопии. Анализ поперечных срезов проводили с помощью светового микроскопа Score A1c камерой AxioCam ERc 5s и использованием морфометрической программы ZEN 2.3 с дальнейшей обработкой с помощью Microsoft Office Excel 2013.

Результаты. При воздействии облучения с различными поглощенными дозами на слизистую оболочку тонкой кишки мышей выявлены общие морфологические черты: снижение высоты и деформация ворсинок слизистой оболочки; снижение высоты энтероцитов от $32,03 \pm 2,21 \mu\text{m}$ у интактных животных до $22,86 \pm 0,51 \mu\text{m}$ (при 7 Гр); в криптах высота эпителиоцитов была без значимых изменений; единичные делящиеся клетки были расположены по всей глубине крипт; выявлено увеличение длины микроворсинок щеточной каемки на апикальной поверхности энтероцитов от $0,89 \pm 0,01 \mu\text{m}$ до $1,46 \pm 0,03 \mu\text{m}$ (при 7,8 Гр). Для сублетальной и летальной доз характерно незначительное расширение базальных частей крипт с профилями активно синтезирующих бокаловидных клеток, при поглощенной дозе 6,5 Гр аналогичные изменения более выражены. У всех животных опытных групп рыхлая соединительная ткань собственной пластинки слизистой оболочки обильно инфильтрирована лейкоцитами. На апикальных поверхностях ворсинок зоны экстррузии эпителиоцитов слабо выражены. Выявлено резкое снижение количества клеток Панета.

Выводы. На 9-е сутки после однократного воздействия рентгеновского облучения при поглощенных дозах 6,5, 7 и 7,8 Гр реактивные изменения эпителиальной ткани слизистой оболочки тонкой кишки носят неспецифический характер. Наиболее выраженные из них отмечены при поглощенной дозе 6,5 Гр. Снижение площади всасывающей поверхности слизистой оболочки приводит к нарушениям ее основной функции.

Лучевая терапия остается одним из эффективных способов лечения злокачественных опухолей, но нельзя игнорировать ее побочные эффекты на окружающие ткани. У 50% пациентов, прошедших лучевую терапию брюшной/тазовой области, наблюдается лучевой энтерит, при котором происходит хроническая дисфункция кишечника различной степени тяжести, что приводит к потере веса, обезвоживанию, диарее и инфекции [11]. Похожие симптомы наблюдали

у экспериментальных животных, которые являются моделями для изучения радиорезистентности тканей и апробации возможных радиопротекторов для клинической медицины и обеспечения безопасности военного труда [2, 5].

Эпителий тонкой кишки особенно чувствителен к радиации, так как содержит большое количество делящихся клеток и относится к обновляющимся клеточным популяциям [3]. Поэтому морфологические изменения слизистой оболочки тонкой кишки необходимо учитывать при экспериментальной оценке действия различных препаратов и при создании и детализации программ расчета эквивалентных доз при лучевой диагностике и терапии.

Структурно-функциональной единицей слизистой оболочки является комплекс крипта–ворсинка [3]. Стволовые клетки, расположенные в криптах, считаются источником всех типов клеток однослойного кишечного эпителия. Они дифференцируются в различные клеточные диффероны во время миграции по оси ворсинок. Стволовые клетки делятся и производят транзиторные амплифицирующие клетки, которые затем дифференцируются в клетки Панета, бокаловидные экзокриноциты, эндокринные клетки и каемчатые эпителиоциты кишечника [3, 16]. Каемчатые эпителиоциты поглощают питательные вещества, контактируют с микроорганизмами, функционируют как барьер и помогают координировать иммунные реакции, взаимодействуя с эндотелиоцитами сосудов. Плотные контакты эпителиальных клеток слизистой оболочки защищают ткани внутренней среды от потенциальных кишечных патогенов. Облучение нарушает целостность эпителия и других тканей слизистой оболочки, способствуя высвобождению воды, белков и электролитов в полость кишечника, а также увеличивает вероятность контакта с патогенными микроорганизмами. В слизистой оболочке тонкой кишки после облучения наблюдали гибель эпителиальных клеток, снижение количества крипт, укорочение ворсинок [4, 17, 18], большее количество бактериальных колоний в мезентериальных лимфатических узлах и более высокие концентрации FITC-декстрана в сыворотке крови и бактериального белка 16S в печени, что указывает на нарушение тканевого барьера и дисфункцию органа [10, 15, 19]. Все эти признаки также указывают на «старение» кишечника [19].

На дне крипт тощей и подвздошной кишки расположены клетки Панета. Их гранулы нейтрализуют соляную кислоту, расщепляют дипептиды до аминокислот и осуществляют антимикробную функцию [3, 9]. Обнаружено, что дифференцированные клетки Панета могут повторно войти в клеточный цикл после радиационного повреждения и стать источником регенерации энтероцитов, увеличив количество меченных клеток в течение 3-5 дней [6].

Степень воздействия проникающей радиации находится в прямой зависимости от количества поглощенной дозы и индивидуальных особенностей организма [1]. Поэтому важно ориентироваться в картине морфологических изменений, которые происходят в органе при различных поглощенных дозах.

Цель исследования – дать морфологическую оценку состояния эпителиальной ткани слизистой оболочки тонкой кишки мыши на 9-е сутки после однократного воздействия рентгеновского облучения при различных поглощенных дозах (6,5, 7 и 7,8 Гр).

Материалы и методы исследования. Половозрелые беспородные белые мыши-самцы массой тела 18–22 г ($n = 50$) из питомника лабораторных животных «Рапполово» (Ленинградская область) в течение двухнедельного карантина и на всем протяжении экспериментов содержались в стандартных условиях вивария со свободным доступом к воде и пище. Все необходимые манипуляции с животными проводили с соблюдением принципов гуманного

обращения с животными в соответствии с международными стандартами по охране животных, используемых в научных целях. Исследование одобрено Этическим комитетом при Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова, протокол № 267 от 19.07.2022 г. Животные были распределены на интактную ($n = 5$) и три опытные группы ($n = 15$ каждая), которые получили одноразовое рентгеновское облучение с различными поглощенными дозами 6,5, 7 и 7,8 Гр с помощью рентгенотерапевтической установки РУМ-17. Параметры облучения: направление – спина – грудь; облучение равномерное – благодаря вращению контейнеров, закрепленных на кимографе, с помещенными в них мышцами со скоростью 2 об./мин; кожно-фокусное расстояние – 50 см, напряжение – 180 кВ, сила тока – 14 мА, фильтр – 0,5 мм Cu + 1 мм Al, мощность дозы – 0,328 Гр/мин. Дозиметрический контроль осуществляли с помощью индивидуального дозиметра ИД-11. Животных облучали в первой половине дня.

Для морфологического анализа фрагменты тощей кишки фиксировали в 2,5%-м растворе глutarового альдегида на 1%-м фосфатном буфере с постфиксацией в 4%-м растворе тетраоксида осмия на 10%-м параформальдегиде на 9-е сутки после рентгеновского облучения с последующей заливкой в смесь эпоксидных смол Эпон-Аралдит по рутинной методике для трансмиссионной электронной микроскопии. Полутонкие срезы толщиной 1 μm изготовлены на приборе Ultramicrotome РТ-РС (RMC Boeckeler, США) и окрашены 1%-м толудиновым синим. Фотографирование срезов и морфометрический анализ осуществляли с помощью светового микроскопа Score A1c камерой AxioCam ERc 5s и использованием морфометрической лицензионной программы ZEN 2.3. Для подсчета средних значений использовали пакет программ Microsoft Office Excel 2013. Определение статистической значимости различий средних величин проверяли с помощью t -критерия Стьюдента.

Результаты исследования. У интактных животных складчатость слизистой оболочки тонкой кишки представлена равномерным чередованием крипт и ворсинок. Высота ворсинок в тощей кишке мышей находится в пределах 200–300 μm , глубина крипт составляет около 150 μm . Однослойный столбчатый эпителий, покрывающий поверхность ворсинок, состоит из каемчатых энтероцитов и бокаловидных экзокриноцитов. Соотношение этих клеток составляет 6:1. Высота эпителиоцитов ворсинок составляет в среднем $32,03 \pm 2,21 \mu\text{m}$. Длина микроворсинок щеточной каемки – $0,89 \pm 0,01 \mu\text{m}$ (таблица).

Цитометрические показатели эпителиоцитов тонкой кишки, μm

Показатели	Группа мышей			
	интактная	первая опытная (доза облучения 6,5 Гр)	вторая опытная (доза облучения 7 Гр)	третья опытная (доза облучения 7,8 Гр)
Высота эпителиоцитов ворсинки	$32,03 \pm 2,21$	$23,15 \pm 1,12$	$22,86 \pm 0,51$	$31,91 \pm 0,52$
Высота эпителиоцитов крипт	$21,39 \pm 0,26$	$17,55 \pm 0,52$	$21,01 \pm 0,61$	$23,71 \pm 0,37$
Длина микроворсинок щеточной каемки	$0,89 \pm 0,01$	$1,29 \pm 0,01$	$1,25 \pm 0,03$	$1,46 \pm 0,03$

Эпителий крипт представлен столбчатыми эпителиоцитами высотой $21,39 \pm 0,26 \mu\text{m}$, бокаловидными экзокриноцитами и малодифференцированными клетками, находящимися на разных стадиях митотического цикла и этапов дифференцировки. Многочисленные митотически делящиеся клетки отмечены

в средней части крипт (рис. 1). Из высокодифференцированных клеток в криптах четко диагностируются клетки Панета – экзокриноциты с гранулами в апикальной части клетки и эндокриноциты с секреторными гранулами, расположенными в базальной части клетки. Количество клеток Панета в каждой крипте у интактных мышей составляет по 3–5 клеток.

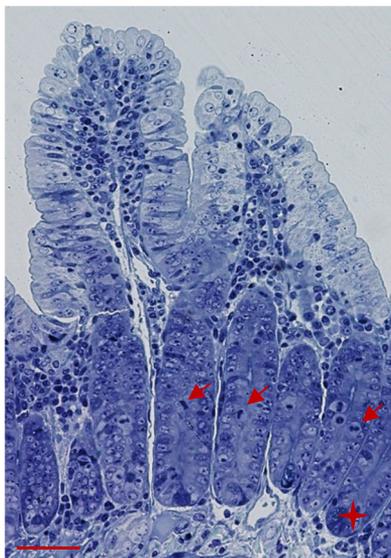


Рис. 1. Строение слизистой оболочки тонкой кишки интактной мыши. Стрелками показаны митозы. Клетка Панета на дне крипты (★). Полутонкий срез. Окр. 1%-м толуидиновым синим. Масштаб: 50 μ m

Животные первой опытной группы получили самую низкую в эксперименте дозу облучения – 6,5 Гр. На 9-е сутки после облучения на поперечном срезе стенки тощей кишки видны извитые профили складок слизистой оболочки. Почти в два раза снизилась высота ворсинок, значения глубины крипт близки к показателям нормы (рис. 2, а). Высота энтероцитов ворсинки составила $23,15 \pm 1,12 \mu\text{m}$, длина микроворсинок на апикальной поверхности – $1,29 \pm 0,01 \mu\text{m}$. В криптах высота эпителиоцитов составила $17,55 \pm 0,52 \mu\text{m}$, они широкие в основании. Базальные части крипт расширены, в них диагностируются профили активно секретирующих бокаловидных экзокриноцитов (рис. 2, б). В базальных частях крипт также можно наблюдать делящиеся клетки на разных стадиях митоза. В доньшках крипт клетки Панета не обнаружены.

При облучении с поглощенной дозой 7 Гр на 9-е сутки наблюдали снижение высоты ворсинок и деформацию их формы. Базальные части крипт местами умеренно расширены (рис. 3, а). На ворсинках и в криптах клетки расположены плотно друг к другу и имеют столбчатую форму, даже на дне крипт (рис. 3, б). Высота эпителиоцитов ворсинок $22,86 \pm 0,51 \mu\text{m}$. Длина микроворсинок щеточной каемки – $1,25 \pm 0,03 \mu\text{m}$. В криптах высота эпителиоцитов составила $21,01 \pm 0,61 \mu\text{m}$. Активно синтезирующих крупных бокаловидных экзокриноцитов визуально меньше по сравнению с предыдущей группой. Фигуры митозов преобладают на боковых поверхностях крипт. Клетки Панета не диагностируются.

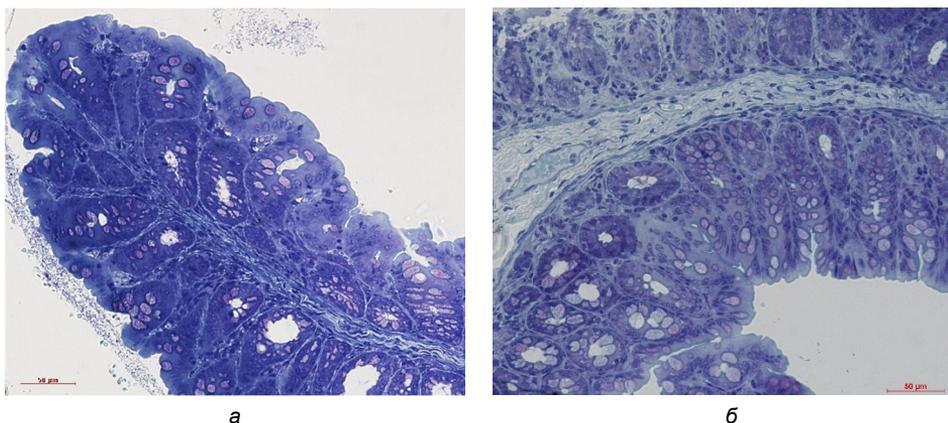


Рис. 2. Строение слизистой оболочки тонкой кишки мыши на 9-е сутки после воздействия однократным рентгеновским облучением с поглощенной дозой 6,5 Гр: а – складчатость слизистой оболочки; б – поперечные срезы крипт слизистой оболочки. Полутонкие срезы. Окр. 1%-м толуидиновым синим. Масштаб: 50 µм

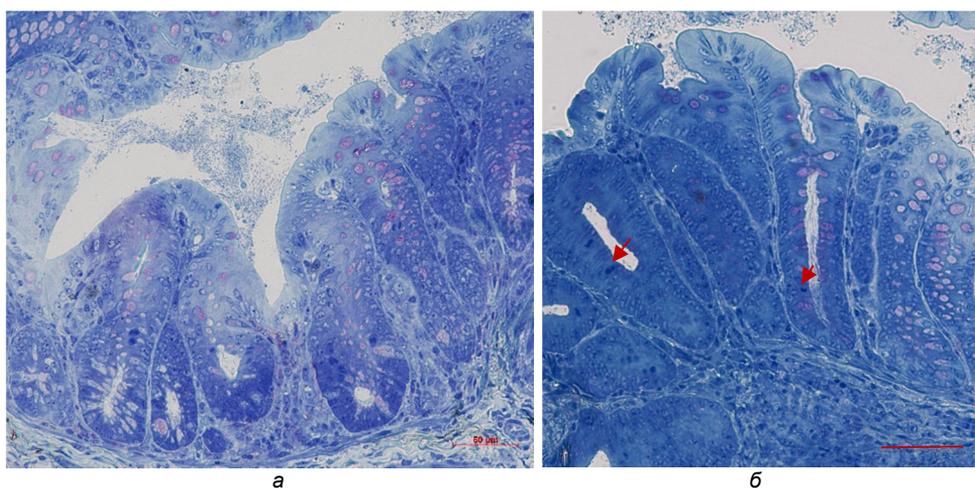


Рис. 3. Строение слизистой оболочки тонкой кишки мыши на 9-е сутки после воздействия однократным рентгеновским облучением с поглощенной дозой 7 Гр: а – деформация ворсинок, расширения крипт; б – локализация делящихся клеток. Полутонкий срез. Окр. 1%-м толуидиновым синим. Масштаб: 50 µм

Летальная поглощенная доза в эксперименте составила 7,8 Гр. На 9-е сутки после облучения морфологическая картина слизистой оболочки сохраняла свой характер: ворсинки соразмерны глубине крипт ($\approx 120 \mu\text{m}$) (рис. 4, а). Высота энтероцитов близка к показателям нормы (таблица). В нижних отделах крипт можно наблюдать единичные делящиеся клетки (рис. 4, б). В эпителиоцитах крипт в ядрах конденсация хроматина более выражена, чем при других дозах. В донюшках крипт клетки Панета не обнаружены. Лимфатические капилляры, которые расположены в подслизистой основе, расширены и заполнены светлым гомогенным содержимым, что не наблюдали у мышей других опытных групп.

У всех животных опытных групп рыхлая соединительная ткань собственной пластинки слизистой оболочки обильно инфильтрирована лейкоцитами.

Между эпителиоцитами часто встречаются лимфоциты. У интактных животных межэпителиальные лимфоциты чаще расположены в зоне экструзии энтероцитов на апикальной поверхности ворсинки, но на 9-е сутки после облучения активного слушивания клеток не наблюдали.

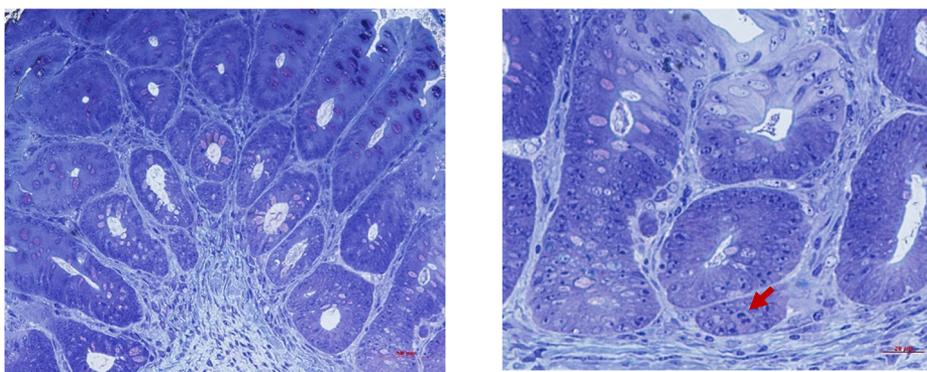


Рис. 4. Строение слизистой оболочки тонкой кишки мыши на 9-е сутки после воздействия однократным рентгеновским облучением с поглощенной дозой 7,8 Гр: а – деформация ворсинок; б – единичные митозы в базальной части крипты. Полутонкие срезы. Окр. 1%-м толуидиновым синим. Масштаб: А – 50 μ м, Б – 20 μ м

Обсуждение. Радиация вызывает окислительный стресс, повреждение ДНК и воспалительную реакцию в органах и тканях, также является одним из триггеров старения [19]. После облучения экспериментальных групп животных исследователи наблюдали истончение слоя слизистой оболочки, разрушение эпителиального барьера кишечника, дисбиоз, активацию иммунных клеток и разрушение эндотелия сосудов [15]. На 9-е сутки незначительно изменялся баланс между каемчатыми энтероцитами, обеспечивающими всасывание продуктов расщепления, и бокаловидными экзокриноцитами, которые синтезируют муцины – углеводно-протеиновые комплексы для пристеночного пищеварения. Больше крупных бокаловидных клеток в криптах отмечено при дозе 6,5 Гр. Апикальная часть таких экзокриноцитов значительно расширена и наполнена секретом. На ворсинках бокаловидные клетки выглядят более уплощенными, сжатыми по бокам каемчатыми эпителиоцитами, что согласуется с данными других исследователей [7]. Фазы секреции бокаловидных экзокриноцитов тесно функционально связаны с состоянием микроворсинок на апикальной поверхности энтероцитов. Наши результаты показали увеличение длины микроворсинок щеточной каемки в опытных группах животных пропорционально полученной поглощенной дозе. Современные разработки моделей культуры 2D-монослойных органоидов тонкой кишки, полученных непосредственно из клеток пациентов, позволят достоверно оценить процессы кишечного транспорта, таких как секреция факторов роста, гормонов и ионов, абсорбцию натрия и глюкозы на апикальных поверхностях энтероцитов человека и являются идеальной моделью *in vitro* для исследования регуляции функции апикального транспорта в энтероцитах человека [12].

Все авторы отмечают снижение высоты ворсинок и их деформацию. Мы также обнаружили сглаживание поверхности слизистой оболочки у животных всех опытных групп. Благодаря разработанной стохастической модели было доказано, что пальцеобразная форма ворсинок более жестко регулирует

возраст сдвигаются эпителиоциты по сравнению с плоскими и более короткими проекциями [13]. Значит, атрофия ворсинок нарушает регулируемый клеточный обмен, поддерживаемый ворсинками, и позволяет неэффективным старым клеткам дольше оставаться в эпителии кишечника, что усугубляет воспаление. По сравнению с другими органами пищеварения, тонкая кишка имеет чрезвычайно низкий риск онкогенеза и метастазирования рака от других злокачественных новообразований. Ученые высказали предположение, что жесткая регуляция сдвигания клеток ворсинками снижает эти риски за счет редукции старых, мутировавших клеток и избавления от них до их колонизации кишечного эпителия [13].

Кишечные стволовые клетки в криптах считаются источником всех клеток кишечника. Они дифференцируются в различные клеточные диффероны во время миграции вдоль оси ворсинок. Также был отмечен репаративный потенциал для клеток Панета на ранних сроках после облучения [6, 9]. На 9-е сутки после облучения, когда отмечена некоторая стабилизация реактивных изменений в органах кроветворения и иммунной защиты (красном костном мозге и селезенке), клетки Панета в криптах не идентифицировались, но единичные митотически делящиеся клетки были обнаружены. Наименьшее их количество отмечено у животных, получивших летальную дозу облучения.

В перспективе работа может быть продолжена на ультраструктурном уровне, который позволит оценить проницаемость эпителиального барьера, морфологию микроворсинок щеточной каемки, эпителиально-эндотелиальных отношений и состояние митохондрий, активность которых определяет направление дифференцировки стволовых клеток в энтероциты или экзокриноциты. Каемчатые эпителиоциты нуждаются в митохондриальном дыхании, а клетки Панета в основном гликолитические, поэтому переключение между гликолизом и окислительным фосфорилированием отражается на морфологии митохондрий и имеет решающее значение для перепрограммирования индуцированных плюрипотентных стволовых клеток [8]. Вместе такие результаты представляют собой комплексную модель, в которой основные сигнальные системы клетки сочетаются с метаболизмом и представляют митохондрии в качестве важного регулятора поддержания и дифференцировки стволовых клеток [16].

Значительный прогресс в снижении токсичности лучевой терапии был достигнут благодаря внедрению так называемых методов лечения с дозозависимым регулированием, которые позволяют точно доставлять луч излучения к органу-мишени. Знания морфологии и патофизиологии привели к улучшению понимания механизмов токсичности кишечника, вызванной радиацией, и к разработке новых диагностических стратегий и возможностей лечения [11].

Механизмы регенерации эпителиоцитов до сих пор окончательно не изучены, но было установлено, что, например, инактивация гена *Bach2* (белок-регулятор транскрипции) способствует регенерации кишечника, ускоряя восстановление ДНК в стволовых клетках после облучения и стимулируя пролиферацию эпителиоцитов [14].

Сочетание традиционных морфологических методов исследования на светооптическом и ультраструктурном уровнях с новейшими геномными данными может обеспечить разработку необходимой терапевтической стратегии для лечения радиационно-индуцированного повреждения кишечника.

Выводы. При воздействии различных доз радиации на слизистую оболочку тощей кишки мышей в эксперименте выявлены общие морфологические черты, характерные для всех поглощенных доз эксперимента:

- снижение высоты и деформация ворсинок слизистой оболочки;
- снижение высоты энтероцитов на ворсинках слизистой оболочки по сравнению с показателями у интактных животных;
- увеличение длины микроворсинок щеточной каемки на апикальной поверхности энтероцитов пропорционально поглощенной дозе;
- в криптах высота эпителиоцитов была без значительных изменений;
- единичные делящиеся клетки были расположены по всей глубине крипт;
- в криптах клетки Панета не идентифицируются.

Таким образом, реактивные изменения эпителиоцитов слизистой оболочки тонкой кишки выражены при всех поглощенных дозах в эксперименте и носят неспецифический характер. Но наиболее выраженные из них свойственны слизистой оболочке тонкой кишки мышей, получивших дозу 6,5 Гр. Вероятно, такая поглощенная доза достаточна для негативных проявлений облучения, и в то же время летальность в данной опытной группе не так высока, как при дозе 7,8 Гр.

Литература

1. Галченко Л.И., Маточкин В.В. Лучевые осложнения при лучевой терапии. Иркутск: ИГМУ, 2015. 30 с.
2. Золотарева С.Н., Воронцова З.А., Жилыева О.Д. Оценка морфологических изменений слизистой оболочки тощей кишки в условиях модификации ионизирующего облучения // Вестник новых медицинских технологий. 2020. № 5. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2020-5/3-8.pdf> (дата обращения: 29.10.2020).
3. Зуфаров К.А., Юлдашев А.Ю. Тонкая кишка // Руководство по гистологии. СПб.: СпецЛит, 2011. Т. 2. С. 121–145.
4. Миргородская О.Е. Динамика морфологических изменений в органах с различной радиорезистентностью на ранних сроках после облучения // Морфологические ведомости. 2024. Т. 32(1). ID-843. DOI: 10.20340/mv-mn.2024.32(1).843.
5. Экспериментальная оценка влияния бета-D-глюкана на выживаемость мышей при радиационном воздействии / Е.В. Мурзина, Г.А. Софронов, А.С. Симбирцев и др. // Медицинский академический журнал. 2020. Т. 20(2). С. 59–68. DOI 10.17816/MAJ34161.
6. Bankaitis E.D., Ha A., Kuo C.J., Magness S.T. Reserve stem cells in intestinal homeostasis and injury. *Gastroenterology*. 2018, vol. 155(5), pp. 1348–1361. DOI: 10.1053/j.gastro.2018.08.016.
7. Becciolini A., Balzi M., Fabbrica D., Potten C.S. The effects of irradiation at different times of the day on rat intestinal goblet cells. *Cell Prolif.*, 1997, vol. 30, pp. 161–170. DOI: 10.1046/j.1365-2184.1997.00075.x.
8. Choi H.W., Kim J.H., Chung M.K. et al. Mitochondrial and metabolic remodeling during reprogramming and differentiation of the reprogrammed cells. *Stem Cells Dev.*, 2015, vol. 24, pp. 1366–1373. DOI: 10.1089/scd.2014.0561.
9. Cui C., Li L., Wu L. et al. Paneth cells in farm animals: current status and future direction. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 2023, vol. 14, p. 118. DOI: 10.1186/s40104-023-00905-5.
10. Du B., Yuan J., Ren Z.Q. et al. Effect of different doses of radiation on intestinal injury in NOD/SCID mice. *Journal of Chinese Academy of Medical Sciences*, 2018, vol. 40(1), pp. 7–12. DOI: 10.3881/j.issn.1000-503X.2018.01.002.
11. Hauer-Jensen M., Denham J.W., Andreyev, H.J.N. Radiation enteropathy-pathogenesis, treatment and prevention. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, 2014, vol. 11(8), pp. 470–479. DOI: 10.1038/nrgastro.2014.46.
12. Haynes J., Palaniappan B., Crutchley J.M., Sundaram U. Regulation of enterocyte brush border membrane primary Na-absorptive transporters in human intestinal organoid-derived monolayers. *Cells*, 2024, vol. 13, p. 1623. DOI: 10.3390/cells13191623.
13. Kai Y. Intestinal villus structure contributes to even shedding of epithelial cells. *Biophys. J.*, 2021, vol. 120, pp. 699–710. DOI: 10.1016/j.bpj.2021.01.003.

14. Li M., Rao X., Tang P. et al. Bach2 deficiency promotes intestinal epithelial regeneration by accelerating DNA repair in intestinal stem cells. *Stem Cell Reports*, 2021, vol. 16. pp. 120–133. DOI: 10.1016/j.stemcr.2020.12.005.
15. Lu Q., Liang Y., Tian S. et al. Radiation induced intestinal injury: injury mechanism and potential treatment strategies. *Toxics*, 2023, vol. 11, p. 1011. DOI: 10.3390/toxics11121011.
16. Ludikhuize M.M., Gallego M.P., Xanthakis D. et al. Mitochondria Define intestinal stem cell differentiation downstream of a FOXO/Notch axis. *Cell Metabolism*, 2020, vol. 32, pp. 889–900. DOI: 10.1016/j.cmet.2020.10.005.
17. Somozy Z., Horváth G., Telbisz Á. et al. Morphological aspects of ionizing radiation response of small intestine. *Micron*, 2002, vol. 33(2), pp. 167–178. DOI: 10.1016/s0968-4328(01)00013-0.
18. Venkateswaran K., Shrivastava A., Agrawala P.K. Mitigation of radiation-induced gastro-intestinal injury by the polyphenolic acetate 7,8-diacetoxy-4-methylthiocoumarin in mice. *Sci. Rep.* 2019, vol. 9, p. 14134. DOI: 10.1038/s41598-019-50785-x.
19. Zhao Yu, Zhang J., Han X., et al. Total body irradiation induced mouse small intestine senescence as a late effect. *J Radiat Res.*, 2019, vol. 60(4), pp. 442–450. DOI: 10.1093/jrr/rrz026.

МИРГОРОДСКАЯ ОЛЬГА ЕВГЕНЬЕВНА – кандидат биологических наук, доцент кафедры гистологии с курсом эмбриологии, Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, Россия, Санкт-Петербург (mirgolga@yandex.ru).

Olga E. MIRGORODSKAYA

MORPHOFUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF THE MOUSE SMALL INTESTINE MUCOSA AFTER A SINGLE IRRADIATION WITH VARIOUS ABSORBED DOSES

Key words: irradiation, mucous membrane, small intestine, villus, crypt, enterocytes, Paneth cells.

Radiation-induced intestinal damage is a typical complication of radiation exposure, it can be caused by various sources of radiation. Clinical treatment today consists of symptomatic supportive therapy, as there are no specific treatment strategies. The main target of radiation damage is the epithelial cells of the mucous membrane of the small intestine. The study of morphological changes and mechanisms of damage to epithelial cells is necessary when developing the model of radiation damage to the intestine for further assessment of the severity of pharmacological correction.

The purpose of the work is to provide a morphological assessment to the state of the epithelial tissue in the mouse small intestine mucosa on the 9th day after a single exposure to X-ray radiation at various absorbed doses (6.5, 7 and 7.8 Gy).

Materials and methods. The study was performed on sexually mature white outbred male mice weighing 18–22 g (n = 50). Acute radiation sickness was simulated using the RUM-17 X-ray therapy unit. The animals of the three experimental groups (n = 15 each) received a single X-ray irradiation with different absorbed doses of 6.5, 7 and 7.8 Gy, respectively. On the 9th day after irradiation, the material was fixed according to a routine technique for transmission electron microscopy. The analysis of semifine sections was carried out using a Scope A1c light microscope with an AxioCam ERc 5s camera and using the ZEN 2.3 morphometric program with further processing using Microsoft Office Excel 2013.

Results. When exposed to radiation with different absorbed doses on the mucous membrane of the jejunum in mice, common morphological features were revealed: a decrease in the height and deformation of the mucous membrane villi; a decrease in the height of enterocytes from 32.03±2.21 μm in intact animals to 22.86±0.51 μm (at 7 Gy); in crypts, the height of epithelial cells had no significant changes; single dividing cells were located along the entire depth of the crypts; an increase in the length of the microvilli in the brush border on the apical surface of enterocytes from 0.89±0.01 μm to 1.46±0.03 μm (at 7.8 Gy) was revealed. Sublethal and lethal doses are characterized by a slight expansion of the basal parts of crypts with profiles of actively synthesizing goblet cells, in the absorbed dose of 6.5 Gy, similar changes are more pronounced. In all animals of the experimental groups, the loose connective tissue of the proper mucous plate is abundantly infiltrated by leukocytes. Epithelial cell extrusion zones are weakly expressed on the apical surfaces of the villi. A sharp decrease in the number of Paneth cells was revealed.

Conclusions. On the 9th day after a single exposure to X-ray radiation at absorbed doses of 6.5, 7 and 7.8 Gy, reactive changes in the epithelial tissue of the mucous membrane of the small intestine have a non-specific character. The most pronounced of them were noted at an absorbed dose of 6.5 Gy. A decrease in the absorbing surface of the mucous membrane results in disturbances of its basic function.

References

1. Galchenko L.I., Matochkin V.V. *Lucevye oslozhneniya pri luchevoi terapii* [Radiation complications during radiation therapy]. Irkutsk, 2015, 30 p.
2. Zolotareva S.N., Vorontsova Z.A., Zhilyaeva O.D. *Otsenka morfologicheskikh izmenenii slizistoi obolochki toshchei kishki v usloviyakh modifikatsii ioniziruyushchego oblucheniya* [Evaluation of morphological changes in the jejunal mucosa under conditions of modified ionizing radiation]. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologii*, 2020, no. 5. Available at: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2020-5/3-8.pdf>. DOI: 10.24411/2075-4094-2020-16755.
3. Zufarov K.A., Yuldashev A.Yu. *Tonkaya kishka* [Small intestine]. In: *Rukovodstvo po gistologii* [Histology Guide]. St. Petersburg, SpetsLit Publ., 2011, vol. 2, pp. 121–145.
4. Mirgorodskaya O.E. *Dinamika morfologicheskikh izmenenii v organakh s razlichnoi radiorezistentnost'yu na rannikh srokakh posle oblucheniya* [Dynamics of morphological changes in organs with different radioresistance in the early stages after irradiation]. *Morfologicheskie vedomosti*, 2024, vol. 32(1), ID-843. DOI: 10.20340/mv-mn.2024.32(1).843.
5. Murzina E.V., Sofronov G.A., Simbirtsev A.S. et al. *Ekspperimental'naya otsenka vliyaniya beta-D-glyukana na vyzhivaemost' myshei pri radiatsionnom vozdeistvii* [Experimental evaluation of the effect of beta-D-glucan on the survival of mice exposed to radiation]. *Meditsinskii akademicheskii zhurnal*, 2020, vol. 20(2), pp. 59–68. DOI 10.17816/MAJ34161.
6. Bankaitis E.D., Ha A., Kuo C.J., Magness S.T. Reserve stem cells in intestinal homeostasis and injury. *Gastroenterology*. 2018, vol. 155(5), pp. 1348–1361. DOI: 10.1053/j.gastro.2018.08.016.
7. Becciolini A., Balzi M., Fabbria D., Potten C.S. The effects of irradiation at different times of the day on rat intestinal goblet cells. *Cell Prolif.*, 1997, vol. 30, pp. 161–170. DOI: 10.1046/j.1365-2184.1997.00075.x.
8. Choi H.W., Kim J.H., Chung M.K. et al. Mitochondrial and metabolic remodeling during reprogramming and differentiation of the reprogrammed cells. *Stem Cells Dev.*, 2015, vol. 24, pp. 1366–1373. DOI: 10.1089/scd.2014.0561.
9. Cui C., Li L., Wu L. et al. Paneth cells in farm animals: current status and future direction. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 2023, vol. 14, p. 118. DOI: 10.1186/s40104-023-00905-5.
10. Du B., Yuan J., Ren Z.Q. et al. *Effect of different doses of radiation on intestinal injury in NOD/SCID mice*. *Journal of Chinese Academy of Medical Sciences*, 2018, vol. 40(1), pp. 7–12. DOI: 10.3881/j.issn.1000-503X.2018.01.002.
11. Hauer-Jensen M., Denham J.W., Andreyev H.J.N. Radiation enteropathy-pathogenesis, treatment and prevention. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, 2014, vol. 11(8), pp. 470–479. DOI: 10.1038/nrgastro.2014.46.
12. Haynes J., Palaniappan B., Crutchley J.M., Sundaram U. Regulation of enterocyte brush border membrane primary Na-absorptive transporters in human intestinal organoid-derived monolayers. *Cells*, 2024, vol. 13, p. 1623. DOI: 10.3390/cells13191623.
13. Kai Y. Intestinal villus structure contributes to even shedding of epithelial cells. *Biophys. J.*, 2021, vol. 120, pp. 699–710. DOI: 10.1016/j.bpj.2021.01.003.
14. Li M., Rao X., Tang P. et al. Bach2 deficiency promotes intestinal epithelial regeneration by accelerating DNA repair in intestinal stem cells. *Stem Cell Reports*, 2021, vol. 16, pp. 120–133. DOI: 10.1016/j.stemcr.2020.12.005.
15. Lu Q., Liang Y., Tian S. et al. Radiation induced intestinal injury: injury mechanism and potential treatment strategies. *Toxics*, 2023, vol. 11, p. 1011. DOI: 10.3390/toxics11121011.
16. Ludikhuize M.M., Gallego M.P., Xanthakis D. et al. Mitochondria Define intestinal stem cell differentiation downstream of a FOXO/Notch axis. *Cell Metabolism*, 2020, vol. 32, pp. 889–900. DOI: 10.1016/j.cmet.2020.10.005.
17. Somozy Z., Horváth G., Telbisz Á. et al. Morphological aspects of ionizing radiation response of small intestine. *Micron*, 2002, vol. 33(2), pp. 167–178. DOI: 10.1016/s0968-4328(01)00013-0.
18. Venkateswaran K., Shrivastava A., Agrawala P.K. Mitigation of radiation-induced gastrointestinal injury by the polyphenolic acetate 7,8-diacetoxy-4-methylthiocoumarin in mice. *Sci. Rep.* 2019, vol. 9, p. 14134. DOI: 10.1038/s41598-019-50785-x.
19. Zhao Yu, Zhang J., Han X. et al. Total body irradiation induced mouse small intestine senescence as a late effect. *J Radiat Res.*, 2019, vol. 60(4), pp. 442–450. DOI: 10.1093/jrr/rrz026.

OLGA E. MIRGORODSKAYA – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Department of the Histology with the Course of Embryology, Kirov Military Medical Academy, Russia, St. Petersburg (mirgolga@yandex.ru).

Формат цитирования: *Миргородская О.Е.* Морфофункциональная характеристика слизистой оболочки тонкой кишки мыши после однократного облучения с различными поглощенными дозами [Электронный ресурс] // *Acta medica Eurasica*. 2024. № 4. С. 36–45. URL: <http://acta-medica-eurasica.ru/single/2024/4/4>. DOI: 10.47026/2413-4864-2024-4-36-45.