

А.В. ПАВЛОВ, Н.А. ТЮМИНА, О.В. ЕРМАКОВА

**ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ ЭПИТЕЛИЯ БРОНХОВ КРЫС ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ХРОНИЧЕСКОГО НИЗКОИНТЕНСИВНОГО  $\gamma$ -ИЗЛУЧЕНИЯ\***

**Ключевые слова:** мерцательный эпителий, бронхи, мукоцилиарный транспорт, хроническое низкоинтенсивное  $\gamma$ -излучение.

Выявление реакций клеток и тканей на хроническое радиационное воздействие низкой интенсивности играет важную роль для оценки возможных биологических эффектов техногенных лучевых воздействий на организм.

**Цель исследования** – количественное изучение микроскопической структуры и двигательной активности эпителия бронхов крыс в условиях экспериментального воздействия хронического низкоинтенсивного  $\gamma$ -излучения.

**Материалы и методы.** С помощью цифровой технологии прижизненной регистрации показателей двигательной активности цилиарного аппарата в сочетании с методами световой и трансмиссионной электронной микроскопии изучены главные, долевые и сегментарные бронхи 18 крыс-самцов Вистар, подвергнутых экспериментальному хроническому  $\gamma$ -облучению на протяжении 21 суток (суммарные поглощенные дозы – 5 сГр и 50 сГр) и 9 контрольных животных, находившихся в условиях естественного радиационного фона. Определяли частоту в пласте основных типов эпителиоцитов и клеток с экспрессией Ki-67, размерные характеристики реснитчатых клеток.

**Результаты исследования.** Хроническое  $\gamma$ -облучение в малых дозах вызывает уменьшение частоты биения ресничек на 17–26% за счет удлинения фазы восстановительного удара, рост на 23–29% содержания в эпителии дифференцированных клеточных форм и снижение частоты базальных (камбиальных) клеток в 2–2,5 раза. При электронной микроскопии в опыте обнаружено появление клеток с нарушенной ультраструктурой, участков межклеточного отека, экстрезии из пласта эпителиоцитов или их фрагментов.

Облучение в дозе 50 сГр вызывает снижение частоты экспрессирующих Ki-67 эпителиоцитов в 3–3,8 раза во всех типах бронхов. В субпопуляции базальных клеток обнаружено выраженное дозозависимое угнетение их пролиферации в главных и долевых бронхах и полную блокаду клеточного размножения в сегментарных бронхах.

**Выводы.** Хроническое низкоинтенсивное  $\gamma$ -облучение является потенциальным фактором риска, способным вызвать нарушение структуры и функции эпителиальной выстилки воздухоносных путей.

Прижизненная оценка частоты биения ресничек в сочетании с определением содержания Ki-67-позитивных эпителиоцитов может служить информативным методом биоиндикации эффектов малых доз ионизирующего излучения на организм.

**Введение.** Выявление реакций клеточных и тканевых систем на хроническое радиационное воздействие низкой интенсивности (диапазон поглощенных доз до 0,5 Гр) является актуальной задачей современной радиобиологии и экологической морфологии с позиций поиска адекватных моделей индикации эффектов малых доз ионизирующего излучения и прогнозирования на их основе возможных биологических эффектов техногенных лучевых воздействий на организм [2, 14]. Полученные экспериментальные данные о чувствительности цилиарного аппарата популяций реснитчатых эпителиоцитов трахеи и маточных труб

\* Исследования выполнены в рамках госзадания по теме «Действие ионизирующего излучения и факторов нерадиационной природы на биологические объекты и биогенная миграция тяжелых естественных радионуклидов» ИБ ФИЦ Коми НЦ УрО РАН (№ 122040600024-5).

к хроническому лучевому воздействию низкой интенсивности (поглощенные дозы 5 и 50 сГр) свидетельствуют о целесообразности проведения дальнейших углубленных гистофизиологических исследований данных клеточных систем на основе сочетания высокоскоростной прижизненной микровидео съемки с современными методами световой и электронной микроскопии [5, 7].

В рамках разработки этого направления эпителиальная выстилка бронхов мелких лабораторных животных является перспективной и до настоящего времени неизученной тканевой системой регистрации биологических эффектов малых доз ионизирующего излучения. Наряду с оценкой двигательной активности цилиарного аппарата реснитчатых клеток, потенциальными индикаторами низкоинтенсивного лучевого воздействия могут также являться параметры клеточного обновления и дифференцировки эпителиального пласта, включая характеристики субпопуляций бокаловидных клеток (единственного источника слизи в бронхах), камбиальных и промежуточных элементов.

**Цель исследования** – количественное изучение микроскопической структуры и двигательной активности эпителия бронхов половозрелых крыс в условиях экспериментального воздействия на организм хронического низкоинтенсивного  $\gamma$ -излучения.

**Материалы и методы.** Опыты выполнены на 27 крысах-самцах линии Вистар массой 200–250 г, разделенных на три равные группы: контрольную и две опытных (№ 1 и № 2). Моделирование хронического облучения проводилось по стандартной методике в условиях специализированного вивария Института биологии Коми НЦ Уральского отделения РАН. Радиационное воздействие осуществляли с помощью установки хронического облучения «Фотон-1» от источника  $^{137}\text{Cs}$ . Животные помещались в зону облучения круглосуточно с перерывами на кормление и уборку помещения. Дозовая нагрузка на организм определялась мощностью экспозиционной дозы и сроками содержания в условиях облучения; измерения проводили радиометром ДКГ-02У «Арбитр» (Россия, НПО «Доза»). В опытных группах № 1 и № 2 при мощности дозы 0,1 и 0,9 мГр/ч и длительности экспозиции 21 сут поглощенные дозы составили соответственно 0,05 и 0,5 Гр. Контрольные крысы содержались при естественном радиационном фоне в условиях, строго идентичных с подопытными.

Взятие материала для прижизненного и гистологического исследования проводили через 12–14 сут после окончания облучения у наркотизированных животных (уретановый наркоз, 1000 мг/кг, внутривенно). Правое легкое использовалось для прижизненного исследования, фрагменты левого легкого помещались в соответствующий фиксатор для гистологической обработки. После завершения взятия материала для исследования животные подвергались эвтаназии (декапитация). Все этапы экспериментов проведены в соответствии с отечественными нормативами и современными международными биоэтическими стандартами по работе с лабораторными животными (закключение этического комитета ФГБОУ ВО ЯГМУ Минздрава России, протокол № 4 от 18.10.2016).

**Прижизненные наблюдения.** Двигательную активность цилиарного аппарата (ДАЦА) реснитчатого эпителия в главных, долевыми и сегментарных бронхах определяли *ex vivo* на тонких (до 1 мм) фрагментах легкого. Использована методика прямой видеорегистрации на программно-аппаратном комплексе НПО «Азимут» (Россия), включающем микроскоп Биомед-2 с термостойником, высокочастотную цифровую видеокамеру Sony XCD-U100 и персональный компьютер с установленным специализированным программным обеспечением

MOSFRO (v. 3). Электронный блок термостатирования обеспечивает в процессе микроскопии поддержание стабильной температуры  $32 \pm 0,5$  °С биоптата, помещаемого в питательную среду «Игла MEM для культур клеток», высокочастотная камера позволяет проводить черно-белую запись изображения до 120 кадров в секунду при различных увеличениях (объективы 40 и 100).

Компьютерный анализ видеофайлов проводили с помощью прикладной программы MOSFRO (v. 3), обеспечивающей автоматический расчет следующих показателей ДАЦА: частота биения ресничек (ЧБР), Гц; длительность фаз эффективного и восстановительного удара ресничек, мс.

**Световая микроскопия.** Для гистологического исследования легкие фиксировали в 10%-м нейтральном формалине и заливали в парафин, срезы толщиной 4–5 мкм окрашивали гематоксилином с эозином и реактивом Шиффа с доокраской гематоксилином. Иммуногистохимическое выявление маркера клеточной пролиферации Ki-67 выполняли в парафиновых срезах с использованием моноклональных антител кролика CONFIRM ANTI-Ki-67 (Ventana Medical Systems, USA).

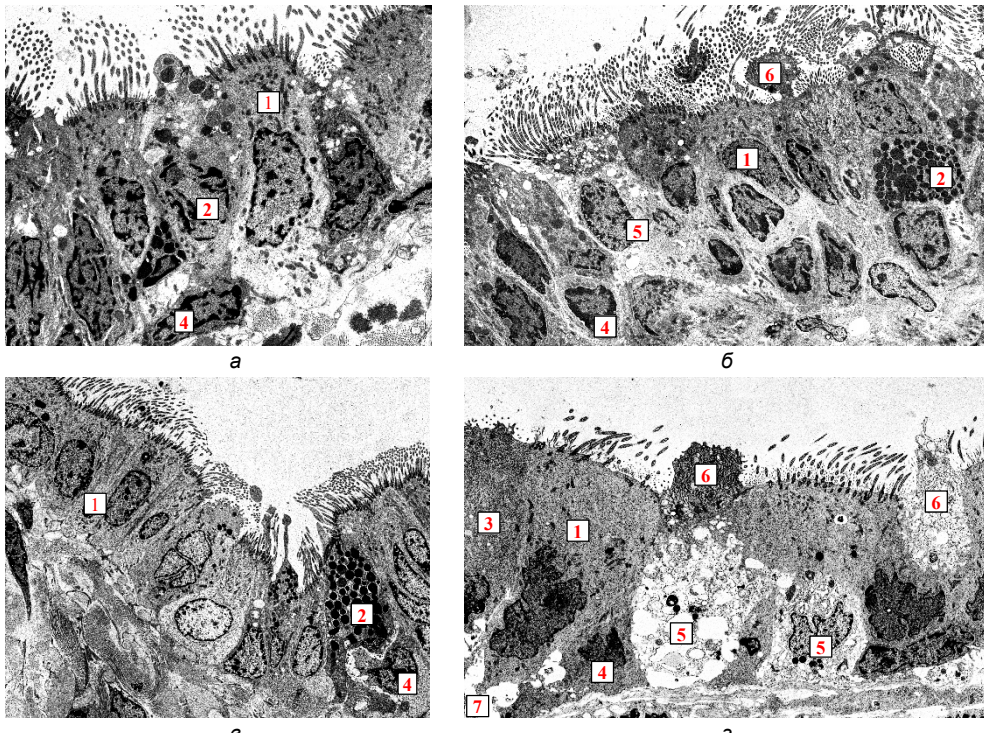
**Трансмиссионная электронная микроскопия** проводилась в Центре коллективного пользования электронной микроскопии Института биологии внутренних вод имени И.Д. Папанина РАН. Образцы фиксировали в 2,5%-м растворе глутарового альдегида, после постфиксации в 1%-м растворе четырехоксида осмия обезвоживали ацетоном, заливали в эпон и готовили ультратонкие срезы на ультратоме Leica-EMU6C. Ультратонкие срезы контрастировали уранилацетатом, просматривали и получали цифровые изображения на трансмиссионном электронном микроскопе JEM-1011, из отдельных кадров производили компьютерную реконструкцию участков эпителиального пласта.

**Морфометрия.** Количественные показатели определяли отдельно для главных (крупного калибра), долевых (среднего калибра) и сегментарных (малого калибра) бронхов. Частоту реснитчатых, бокаловидных, вставочных и базальных клеток в пласте рассчитывали на основании подсчета 1000 клеток у животного; индекс пролиферирующих клеток, меченых Ki-67, определяли на основании подсчета 500–1000 клеток у животного. При расчете частотных показателей использована прикладная программа «Универсальный гистологический счетчик» [4]. С гистологических препаратов делали цифровые фотографии (суммарное увеличение  $\times 1000$ ), на которых с помощью морфометрической программы ImageJ производили вычисление площадей сечения клеток и определение длины ресничек (100 реснитчатых клеток у животного).

Статистическую обработку проводили с помощью пакетов прикладных программ Microsoft Office Excel и Statistica 8.0. Количественные данные представляли в виде средней арифметической величины ( $X$ ) и ее средней ошибки ( $S_x$ ). Статистическую значимость отличий оценивали с помощью  $t$ -критерия Стьюдента для независимых выборок, различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты исследования.** На уровне световой микроскопии отчетливых визуальных отличий между строением бронхиальной выстилки главных (крупного калибра), долевых (среднего калибра) и сегментарных (малого калибра) бронхов в контроле и опыте не выявлено. У облученных животных при трансмиссионной электронной микроскопии в эпителии всех отделов бронхиального дерева, наряду с морфологически неизмененными реснитчатыми

эпителиоцитами, обнаруживаются клетки с морфологическими признаками повреждения (расширение цистерн эндоплазматической сети, деструкция оргanelл, вакуолизация цитоплазмы), появляются участки межклеточного отека, регулярно встречаются картины экстрюзии из пласта фрагментов эпителиоцитов и целых клеток (рисунок). Данные изменения наиболее выражены в опытной группе № 2 (поглощенная доза 50 сГр).



Фрагменты реконструкции эпителиальной выстилки главных (а, б) и сегментарных (в, г) бронхов в контроле (а, в)

и в опытной группе № 2 – поглощенная доза 50 сГр (б, г):

1 – реснитчатые; 2 – бокаловидные; 3 – щеточные (безреснитчатые); 4 – базальные клетки;

5 – эпителиоциты с морфологическими признаками повреждения;

6 – экстрюзия клеток (фрагментов клеток) из пласта; 7 – участки межклеточного отека.

Трансмиссионная электронная микроскопия, ув.  $\times 5000$

Количественные показатели структуры и функции эпителия бронхов разного калибра в контроле и после воздействия хронического низкоинтенсивного  $\gamma$ -излучения представлены в табл. 1.

**Реснитчатые клетки.** По сравнению с интактными животными содержание данного клеточного типа в пласте в обеих опытных группах достоверно возрастает в долевых (на 12–23%) и сегментарных (на 23–29%) бронхах ( $p < 0,05$ ). Средняя площадь сечения клеток у крыс опытных и контрольной групп значимо не изменена ( $p > 0,05$ ), однако в главных бронхах облученных крыс зарегистрировано снижение длины ресничек на 18–23% по сравнению с таковыми у животных контрольной группы ( $p < 0,05$ ). Изучение двигательной

активности цилиарного аппарата продемонстрировало отчетливо выраженное уменьшение частоты биения ресничек (ЧБР) эпителия главных и долевого бронхов облученных крыс на 17–26%, выраженность эффекта не зависит от дозы ( $p > 0,05$ ). Фазовый анализ цикла биения ресничек показал, что наблюдаемое снижение ДАЦА обусловлено преимущественно увеличением продолжительности фазы возврата ресничек, наиболее значимо этот параметр возрастает при поглощенной дозе 5 сГр (на 40–47%) и в меньшей степени (+25%) – при дозе 50 сГр ( $p < 0,05$ ). Достоверное увеличение продолжительности фазы удара ресничек зарегистрировано только в главных бронхах при дозовой нагрузке 50 сГр (+32%,  $p < 0,05$ ).

Таблица 1  
Количественные показатели строения и функции эпителия бронхов крыс в контрольной и опытных группах ( $\bar{X} \pm s_x$ )

Показатель	Тип бронха	Значение показателя у крыс		
		контроль-ной группы	опытной группы № 1 (5 сГр)	опытной группы № 2 (50 сГр)
Содержание в пласте реснитчатых клеток, %	главный (крупный)	56,9±3,0	61,7±1,3	61,5±1,3
	долевой (средний)	63,4±2,4	71,0±1,3 <sup>1</sup>	78,1±1,8 <sup>1,2</sup>
	сегментарный (мелкий)	69,1±0,9	89,2±1,9 <sup>1</sup>	85,3±1,3 <sup>1</sup>
Средняя площадь сечения реснитчатых клеток, мкм <sup>2</sup>	главный (крупный)	69,2±2,9	69,9±4,9	68,9±3,3
	долевой (средний)	51,8±3,1	57,2±4,3	56,3±2,9
	сегментарный (мелкий)	44,4±3,2	52,4±3,5	47,6±1,4
Длина ресничек, мкм	главный (крупный)	3,8 ± 0,2	2,9 ± 0,1 <sup>1</sup>	3,1 ± 0,1 <sup>1</sup>
	долевой (средний)	3,1 ± 0,1	2,6 ± 0,1 <sup>1</sup>	3,2 ± 0,2
	сегментарный (мелкий)	2,6 ± 0,1	2,5 ± 0,2	2,8 ± 0,1
Частота биения ресничек, Гц	главный (крупный)	15,1±0,9	11,7±1,7 <sup>1</sup>	11,6±0,8 <sup>1</sup>
	долевой (средний)	13,8±0,7	10,1±0,2 <sup>1</sup>	11,5±0,6 <sup>1</sup>
	сегментарный (мелкий)	14,6±0,6	12,4±1,1	13,7±0,8
Длительность фазы эффективного удара ресничек, мс	главный (крупный)	27,3±1,6	30,0±1,0	36,1±1,8 <sup>1</sup>
	долевой (средний)	30,8±1,8	33,0±3,0	34,6±1,6
	сегментарный (мелкий)	27,8±1,3	25,8±1,0	24,3±1,5
Длительность фазы восстановительного удара ресничек, мс	главный (крупный)	41,5±2,6	57,9±3,5 <sup>1</sup>	51,4±0,4 <sup>1</sup>
	долевой (средний)	44,9±2,7	66,1±3,5 <sup>1</sup>	56,2±2,8 <sup>1</sup>
	сегментарный (мелкий)	43,3±1,9	55,8±6,5	50,3±6,9
Содержание в пласте бокаловидных клеток, %	главный (крупный)	16,8±2,0	22,1±0,9 <sup>1</sup>	24,7±0,6 <sup>1</sup>
	долевой (средний)	17,2±1,7	14,2±1,5	11,3±1,3 <sup>1</sup>
	сегментарный (мелкий)	6,1±1,4	4,7±0,5	4,5±0,9
Содержание в пласте базальных клеток, %	главный (крупный)	19,6±0,2	9,4±0,9 <sup>1</sup>	9,1±0,6 <sup>1</sup>
	долевой (средний)	11,7±0,9	8,3±1,0 <sup>1</sup>	5,9±1,0 <sup>1</sup>
	сегментарный (мелкий)	13,2±0,7	2,6±0,4 <sup>1</sup>	5,3±0,4 <sup>1</sup>
Содержание в пласте промежуточных (вставочных) базальных клеток, %	главный (крупный)	6,7±0,9	6,8±1,0	4,7±0,5 <sup>1</sup>
	долевой (средний)	7,7±1,1	6,5±1,0	4,7±0,7 <sup>1</sup>
	сегментарный (мелкий)	6,8±1,4	3,2±0,7 <sup>1</sup>	4,9±0,8

Примечания. <sup>1</sup> –  $p < 0,05$  по сравнению с контрольной группой; <sup>2</sup> –  $p < 0,05$  по сравнению с опытной группой № 1 (5 сГр).

**Другие типы клеток.** Динамика содержания бокаловидных клеток в эпителии у облученных животных показала разнонаправленные тенденции: рост на 32–47% в главных бронхах и снижение на 17–34% в долевого бронхах ( $p < 0,05$ ). Наиболее отчетливые радиоиндуцированные изменения клеточного состава пласта выявлены в субпопуляции базальных эпителиоцитов всех типов бронхов: по сравнению с контролем у облученных животных их частота снижена в среднем в 2–2,5 раза ( $p < 0,05$ ), выраженность эффекта не зависит

от дозы. Концентрация промежуточных (вставочных) эпителиоцитов значительно снижена на 30–38% ( $p < 0,05$ ) в главных и долевых бронхах только при максимальной лучевой нагрузке (50 сГр).

**Пролиферация клеток.** Результаты определения процентного содержания клеток с экспрессией Ki-67 представлены в табл. 2. Низкоинтенсивное  $\gamma$ -излучение в дозе 50 сГр вызывает отчетливое снижение частоты пролиферирующих эпителиоцитов в 3–3,8 раза во всех типах бронхов ( $p < 0,05$ ). Отдельно проведенный расчет индекса меченых клеток применительно к субпопуляции базальных (камбиальных) элементов показал выраженное дозозависимое угнетение их пролиферации в главных и долевых бронхах ( $p < 0,05$ ) и полную блокаду клеточного размножения в сегментарных бронхах.

Таблица 2

Содержание эпителиоцитов с экспрессией Ki-67  
в контрольной и опытных группах ( $X \pm s_x$ )

Тип бронхов	Содержание эпителиоцитов с экспрессией Ki-67					
	в расчете на эпителиальный пласт, %			в расчете на субпопуляцию базальных клеток, %		
	в контрольной группе	в опытной группе № 1 (5 сГр)	в опытной группе № 2 (50 сГр)	в контрольной группе	в опытной группе № 1 (5 сГр)	в опытной группе № 2 (50 сГр)
Главный (крупный)	3,9±0,6	3,1±0,8	1,3±0,4 <sup>1</sup>	9,7±2,1	3,1±0,8 <sup>1</sup>	1,3±0,4 <sup>1</sup>
Долевой (средний)	2,7±0,5	1,5±0,3	0,8±0,2 <sup>1</sup>	5,9±1,9	2,4±0,9 <sup>1</sup>	1,5±0,6 <sup>1</sup>
Сегментарный (мелкий)	1,9±0,5	1,5±0,4	0,5±0,1 <sup>1,2</sup>	3,3±1,8	0	0

Примечания. <sup>1</sup> –  $p < 0,05$  по сравнению с контрольной группой, <sup>2</sup> –  $p < 0,05$  по сравнению с опытной группой №1 (5 сГр).

**Обсуждение.** Результаты изучения ДАЦА эпителия бронхов согласуются с нашими более ранними данными об угнетающем эффекте хронического низкоинтенсивного  $\gamma$ -излучения в поглощенных дозах 5 и 50 сГр на частоту биения ресничек в других органах (трахея, маточные трубы, эпендима желудочков головного мозга) лабораторных крыс<sup>1</sup>. Радиоиндуцированное снижение ДАЦА в эпителиальной выстилке бронхов носит равномерный характер, мозаичных выпадений синхронизации биений ресничек (вплоть до полной остановки) в настоящем исследовании не зарегистрировано.

Об универсальном характере ответа цилиарного аппарата мерцательных клеток разных тканей на лучевое воздействие свидетельствуют и сходные результаты, полученные при изучении эффектов кратковременного низкоинтенсивного  $\gamma$ -излучения на эпителиоциты жабр мидии и обонятельный эпителий лягушки [9], а также облучении в умеренных дозах (1 Гр, 5 циклов,) органотипической культуры эпителиоцитов слизистой носа человека [16].

Влияние ионизирующего излучения на цилиарный аппарат может быть объяснено как активацией универсальных механизмов, приводящих к снижению двигательной активности ресничек при воздействии повреждающих факторов

<sup>1</sup> См. напр.: Двигательная активность цилиарного аппарата реснитчатого эпителия трахеи и маточных труб при воздействии хронического низкоинтенсивного  $\gamma$ -излучения / О.В. Ермакова, А.В. Павлов, Л.И. Есеев, Т.В. Кораблева // Морфология. 2014. Т. 146, № 6. С. 77–79; Двигательная активность цилиарного аппарата эпендимы желудочков головного мозга крыс в условиях хронического низкоинтенсивного гамма-облучения / А.В. Павлов, О.А. Фоканова, О.В. Ермакова, Т.В. Кораблева // Современные проблемы нейробиологии: сб. материалов IV Междунар. науч. конф. Ярославль: ФГБОУ ВО ЯГМУ Минздрава России, 2023. С. 79–80.

другой этиологии и старении (нарушение активности протеинкиназ PKC $\alpha$ , $\epsilon$  аксономы), так и прямым воздействием  $\gamma$ -излучения на моторные белки ресничек через другие регуляторные механизмы [8, 13, 15]. Одним из эффектов накопления радиоиндуцированных нарушений ДНК в эпителиоцитах человека является снижение экспрессии генов внешнего плеча динеина, что может приводить к развитию генетически обусловленных дефектов подвижности всех или части ресничек [16]. С учетом важной роли динеинов в формировании траектории движения ресничек и цикла их биения [10] вышеуказанные изменения могут лежать в основе обнаруженного в нашем исследовании увеличения длительности фазы восстановительного удара у опытных животных (характерно для хронических повреждений респираторного эпителия [6]).

Одним из наиболее ярких проявлений накопления эффектов низкоинтенсивного  $\gamma$ -излучения явилось отчетливое снижение пролиферации в эпителии бронхов, в первую очередь это касается системы базальных (камбиальных) эпителиоцитов. Количество экспрессирующих Ki-67 базальных клеток в главных и долегах бронхах в опыте снижено по сравнению с контролем в 3–7 раз, а в сегментарных бронхах меченые клетки не выявляются. Сходные изменения можно наблюдать в культурах эпителиоцитов слизистой носа и бронхов человека при их повторном облучении в среднем диапазоне доз (1 Гр) [11, 16]. При этом, несмотря на существенное повреждение ДНК, целостность развивающихся эпителиальных структур бронхов и степень их дифференцировки не были нарушены ионизирующим облучением [11]. Наблюдаемое в наших опытах увеличение концентрации зрелых элементов в пласте (бокаловидных клеток в главных бронхах и реснитчатых клеток в долегах и сегментарных бронхах) отражает, очевидно, замедление темпов клеточного обновления в эпителии. В условиях уменьшения количества дифференцирующихся элементов (вставочных клеток) нагрузка на существующие реснитчатые клетки повышается, что может приводить к истощению их функциональных резервов. Морфологически это проявляется развитием ультраструктурных признаков повреждения части эпителиоцитов и усилению процессов экстрезии их из пласта, сходных по характеру с наблюдаемыми у старых животных [1]. Очевидно, в обоих случаях развивающиеся нарушения пролиферации стволовых клеток инициируют запуск механизмов неэффективного замещения изношенных клеток зрелых тканей, что наиболее отчетливо проявляется при старении [12].

**Выводы.** 1. Хроническое низкоинтенсивное  $\gamma$ -облучение организма лабораторных крыс на протяжении 21 сут в дозах 5 и 50 сГр:

- вызывает дисфункцию реснитчатого эпителия главных и долегах бронхов, дозозависимое угнетение пролиферативной активности эпителиоцитов и развитие ультраструктурных признаков повреждения клеток во всех отделах бронхиального дерева;
- может рассматриваться как потенциальный фактор риска, способный вызвать нарушение структуры и функции эпителиальной выстилки воздухоносных путей.

2. Прижизненная оценка частоты биения ресничек в сочетании с определением содержания Ki-67-позитивных эпителиоцитов может являться информативным методом биоиндикации эффектов малых доз ионизирующего излучения на организм.

## Литература

1. Есеев Л.И. Функциональная морфология мукоцилиарной транспортной системы трахеи крыс в постнатальном онтогенезе: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2016. 24 с.
2. Журавская А.Н. Биологические эффекты малых доз ионизирующих излучений (обзор) // Наука и образование. 2016. № 2. С. 94–102.
3. Карпенко А.А., Ивановский Ю.А. Мерцательный эпителий трахеи крыс чувствителен к  $\gamma$ -облучению в сверхмалых дозах // Радиобиология. 1992. Т. 32, № 5. С. 701–705.
4. Кемоклидзе К.Г. Универсальный гистологический счетчик. Версия 2.0: свидетельство о государственной регистрации программ для ЭВМ № 2012617618 Российская Федерация / Заявка № 2012615714; дата заявки 09.07.2012; дата регистрации 23.08.2012.
5. Павлов А.В., Ермакова О.В., Кораблева Т.В., Фоканова О.А. Функциональная морфология эпителия маточных труб крыс при воздействии хронического низкоинтенсивного  $\gamma$ -излучения // Журнал анатомии и гистопатологии. 2022. Т. 11, № 4. С. 27–32. DOI: 10.18499/2225-7357-2022-11-4-27-32.
6. Шабалин В.В. Двигательная активность ресничек мерцательного эпителия при нарушении мукоцилиарного транспорта у человека: автореф. дис. ... канд. биол. наук. СПб., 2002. 20 с.
7. Шабалин В.В., Захарова Г.П., Иванов Н.И. Современные подходы к оценке двигательной активности ресничек эпителия верхних дыхательных путей // Российская оториноларингология. 2022. Т. 21, № 6. С. 103–109. DOI: 10.18692/1810-4800-2022-6-103-109.
8. Bailey K.L., Bonasera S.J., Wilderdyke M. et al. Aging causes a slowing in ciliary beat frequency, mediated by PKC $\epsilon$ . *Am. J. Lung. Cell Mol. Physiol.*, 2014, vol. 306(6), pp. 584–589. DOI: 10.1152/ajplung.00175.2013.
9. Karpenko A.A., Ivanovsky Yu.A. Effect of very low doses of gamma radiation on motility of gill ciliated epithelia of *Mytilus edulis*. *Radiat Res.*, 1993, vol. 133(1), pp. 108–110. DOI: 10.2307/3578264.
10. Mitchison T.J., Mitchison H.M. Cell biology: How cilia beat. *Nature*, 2010, vol. 463(7279), pp. 308–309. DOI: 10.1038/463308a.
11. O'Sullivan M.J., Mitchel J.A., Das A. et al. Irradiation Induces Epithelial Cell Unjamming. *Front Cell Dev Biol.*, 2020, vol. 8, p. 21. DOI: 10.3389/fcell.2020.00021.
12. Pan L., Chen S., Weng C. et al. Stem cell aging is controlled both intrinsically and extrinsically in the *Drosophila* ovary. *Cell Stem Cell*, 2007, vol. 1(4), pp. 458–469. DOI: 10.1016/j.stem.2007.09.010.
13. Salathe M. Regulation of mammalian ciliary beating. *Annu. Rev. Physiol.*, 2007, vol. 69, pp. 401–422. DOI: 10.1146/annurev.physiol.69.040705.141253.
14. Shin E., Lee S., Kang H. et al. Organ-Specific Effects of Low Dose Radiation Exposure: A Comprehensive Review. *Front. Genet.*, 2020, vol. 11, 566244. DOI: 10.3389/fgene.2020.566244.
15. Wyatt T.A., Sisson J.H., Allen-Gipson D.S. et al. Co-exposure to cigarette smoke and alcohol decreases airway epithelial cell cilia beating in a protein kinase C $\epsilon$ -dependent manner. *Amer. J. Pathol.*, 2012, vol. 181(2), pp. 431–440. DOI: 10.1016/j.ajpath.2012.04.022.
16. Yang Y.Y., Liu J., Liu Y.T. et al. Moderate Dose Irradiation Induces DNA Damage and Impairments of Barrier and Host Defense in Nasal Epithelial Cells in vitro. *J Inflamm Res.*, 2022, vol. 15, pp. 3661–3675. DOI: 10.2147/JIR.S369385.

---

**ПАВЛОВ АЛЕКСЕЙ ВЛАДИМИРОВИЧ** – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии, Ярославский государственный медицинский университет, Россия, Ярославль (pavlov@ysmu.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8227-9997>).

**ТЮМИНА НАТАЛЬЯ АНДРЕЕВНА** – старший преподаватель кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии, Ярославский государственный медицинский университет, Россия, Ярославль (Natellamai@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7001-0851>).

**ЕРМАКОВА ОЛЬГА ВЛАДИМИРОВНА** – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела радиозоологии, Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, Россия, Сыктывкар (ermakova@ib.komisc.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0186-0569>).

---

Alexey V. PAVLOV, Natalia A. TYUMINA, Olga V. ERMAKOVA

**FUNCTIONAL MORPHOLOGY OF THE BRONCHIAL EPITHELIUM OF RATS AFTER EXPOSURE TO CHRONIC LOW-INTENSITY  $\gamma$  RADIATION**

**Key words:** atrial fibrillation, bronchi, mucociliary transport, chronic low-intensity gamma radiation.

Revealing the reactions of cells and tissues to chronic low-intensity radiation exposure plays an important role in assessing the possible biological effects of man-made radiation effects on the body.



**The purpose of the study** was to quantitatively study the microscopic structure and motor activity of the bronchial epithelium in rats under experimental exposure to chronic low-intensity  $\gamma$ -radiation.

**Materials and methods.** Using the digital technology for intravital registration of motor activity indicators of the ciliary apparatus in combination with the methods of light and transmission electron microscopy, the main, lobular and segmental bronchi of 18 male Wistar rats subjected to experimental chronic gamma irradiation for 21 days (total absorbed doses – 5 cGy and 50 cGy) and 9 control animals were studied. In conditions of natural radiation background. The frequency was measured in the layer of the main types of epithelial cells and cells with Ki-67 expression, and the size characteristics of ciliated cells were determined as well.

**Research results.** Chronic  $\gamma$ -irradiation in small doses causes a decrease in the frequency of cilia beating by 17–26% due to elongation of the recovery shock phase, an increase by 23–29% in the content of differentiated cell forms in the epithelium and a decrease in the frequency of basal (cambial) cells by 2–2.5 times. Electron microscopy revealed the emergence of cells with impaired ultrastructure, areas of intercellular edema, extrusion from the epithelial cell layer or their fragments.

Irradiation at a dose of 50 cGy causes a decrease in the frequency of Ki-67 expressing epithelial cells by 3–3.8 times in all types of bronchi. In the subpopulation of basal cells, a pronounced dose-dependent inhibition of their proliferation in the main and lobar bronchi and complete blockage of cellular reproduction in segmental bronchi were found.

**Conclusions.** Chronic low-intensity  $\gamma$ -radiation is a potential risk factor that can cause disturbance in the structure and function of the epithelial lining in the airways.

Intravital assessing the frequency of cilia beating in combination with determining the content of Ki-67-positive epithelial cells can serve as an informative method for bioindicating the effects of low-dosed ionizing radiation on the body.

#### References

1. Esev L.I. *Funktsional'naya morfologiya mukotsiliarnoi transportnoi sistemy trakhei krysa v postnatal'nom ontogeneze: avtoref. dis. ... kand. med. nauk* [Functional morphology of the mucociliary transport system of the rat trachea in postnatal ontogenesis. Abstract of Cand. Diss.]. Moscow, 2016, 24 p.
2. Zhuravskaya A.N. *Biologicheskie efekty malykh doz ioniziruyushchikh izlucheni (obzor)* [Biological effects of low doses of ionising radiation (review)]. *Nauka i obrazovanie*, 2016, no. 2, pp. 94–102.
3. Karpenko A.A., Ivanovskii Yu.A. *Mertsatel'nyi epiteliu trakhei krysa chuvstviten k  $\gamma$ -oblucheniyu v sverkhmalykh dozakh* [The ciliated epithelium of the trachea of rats is sensitive to  $\gamma$ -irradiation in ultra-low doses]. *Radiobiologiya*, 1992, vol. 32, no. 5, pp. 701–705.
4. Kemoklidze K.G. Universal histological counter. Version 2.0. Certificate of State Registration of Computer Programs No. 2012617618 Russian Federation. Application No. 2012615714; date of application 09.07.2012; date of registration 23.08.2012.
5. Pavlov A.V., Ermakova O.V., Korableva T.V., Fokanova O.A. *Funktsional'naya morfologiya epiteliya matochnykh trub krysa pri vozdeystvii khronicheskogo nizkointensivnogo  $\gamma$ -izlucheniya* [Morphology of the epithelium of the fallopian tubes of rats under the influence of chronic low-intensity  $\gamma$ -radiation]. *Zhurnal anatomii i gistopatologii*, 2022, vol. 11, no. 4, pp. 27–32. DOI: 10.18499/2225-7357-2022-11-4-27-32.
6. Shabalin V.V. *Dvigatel'naya aktivnost' resnichek mertsatel'nogo epiteliya pri narushenii mukosiliarnogo transporta u cheloveka: avtoref. dis. ... kand. biol. nauk* [Motor activity of cilia of the ciliary epithelium in disorders of mucociliary transport in humans. Abstract of Cand. Diss.]. St. Petersburg, 2002, 20 p.
7. Shabalin V.V., Zakharova G.P., Ivanov N.I. *Sovremennye podkhody k otsenke dvigatel'noi aktivnosti resnichek epiteliya verkhnykh dykhatel'nykh putei* [Modern approaches to assessing the motor activity of cilia of the epithelium of the upper respiratory tract]. *Rossiiskaya otorinolaringologiya*, 2022, vol. 21, no. 6, pp. 103–109. DOI: 10.18692/1810-4800-2022-6-103-109.
8. Bailey K.L., Bonasera S.J., Wilderdyke M. et al. Aging causes a slowing in ciliary beat frequency, mediated by PKC $\epsilon$ . *Am. J. Lung. Cell Mol. Physiol.*, 2014, vol. 306(6), pp. 584–589. DOI: 10.1152/ajplung.00175.2013.
9. Karpenko A.A., Ivanovsky Yu.A. Effect of very low doses of gamma radiation on motility of gill ciliated epithelia of *Mytilus edulis*. *Radiat Res.*, 1993, vol. 133(1), pp. 108–110. DOI: 10.2307/3578264.
10. Mitchison T.J., Mitchison H.M. Cell biology: How cilia beat. *Nature*, 2010, vol. 463(7279), pp. 308–309. DOI: 10.1038/463308a.
11. O'Sullivan M.J., Mitchel J.A., Das A. et al. Irradiation Induces Epithelial Cell Unjamming. *Front Cell Dev Biol.*, 2020; vol. 8, 21 p. DOI: 10.3389/fcell.2020.00021.
12. Pan L., Chen S., Weng C. et al. Stem cell aging is controlled both intrinsically and extrinsically in the *Drosophila* ovary. *Cell Stem Cell*, 2007, vol. 1(4), pp. 458–469. DOI: 10.1016/j.stem.2007.09.010.

13. Salathe M. Regulation of mammalian ciliary beating. *Annu. Rev. Physiol.*, 2007, vol. 69, pp. 401–422. DOI: 10.1146/annurev.physiol.69.040705.141253.
14. Shin E., Lee S., Kang H. et al. Organ-Specific Effects of Low Dose Radiation Exposure: A Comprehensive Review. *Front. Genet.*, 2020, vol. 11, 566244. DOI: 10.3389/fgene.2020.566244.
15. Wyatt T.A., Sisson J.H., Allen-Gipson D.S. et al. Co-exposure to cigarette smoke and alcohol decreases airway epithelial cell cilia beating in a protein kinase C $\epsilon$ -dependent manner. *Amer. J. Pathol.*, 2012, vol. 181(2), pp. 431–440. DOI: 10.1016/j.ajpath.2012.04.022.
16. Yang Y.Y., Liu J., Liu Y.T. et al. Moderate Dose Irradiation Induces DNA Damage and Impairments of Barrier and Host Defense in Nasal Epithelial Cells in vitro. *J Inflamm Res.*, 2022, vol. 15, pp. 3661–3675. DOI: 10.2147/JIR.S369385.

---

**ALEXEY V. PAVLOV** – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Histology, Cytology and Embryology, Yaroslavl State Medical University, Russia, Yaroslavl (pavlov@ysmu.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8227-9997>).

**NATALIA A. TYUMINA** – Senior Lecturer, Department of Histology, Cytology and Embryology, Yaroslavl State Medical University, Russia, Yaroslavl (Natellamail@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7001-0851>).

**OLGA V. ERMAKOVA** – Doctor of Biological Sciences, Leading Researcher, Department of Radioecology, Institute of Biology of Komi Scientific Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Russia, Syktyvkar (ermakova@ib.komisc.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0186-0569>).

---

**Формат цитирования:** Павлов А.В., Тюмина Н.А., Ермакова О.В. Функциональная морфология эпителия бронхов крыс после воздействия хронического низкоинтенсивного  $\gamma$ -излучения [Электронный ресурс] // Acta medica Eurasica. 2024. № 4. С. 46–55. URL: <http://acta-medica-eurasica.ru/single/2024/4/5>. DOI: 10.47026/2413-4864-2024-4-46-55.