

ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ЭРИТРОЦИТЫ: ИЗУЧЕНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЭЛЕКТРОННОГО ПУЧКА НА КЛЕТКИ КРОВИ В МОДЕЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ

Т.Е. Гоголева¹, С.Н. Мамаева¹, М.М. Рычков², С.Р. Антонов¹, Г.В. Максимов³

¹ Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова, Якутск

² Национальный исследовательский Томский политехнический университет,
Томск

³ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва

THE EFFECT OF IONIZING RADIATION ON ERYTHROCYTES: THE STUDY OF THE EFFECT OF AN ELECTRON BEAM ON BLOOD CELLS UNDER MODEL CONDITIONS

T.E. Gogoleva¹, S.N. Mamaeva¹, M.M. Rychkov², S.R. Antonov¹, G.V. Maksimov³

¹ M.K. Ammosov North-Eastern Federal University, Yakutsk, Russia

² National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russia

³ M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Реферат

Цель: Изучение влияния электронного излучения на эритроциты венозной крови пациентов с диагнозом рака молочной железы (РМЖ) и рака шейки матки (РШМ) методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ).

Материал и методы: Объектами исследования являются образцы венозной крови (в объеме 1 мл в пробирках) 12 пациентов Якутского республиканского онкологического диспансера с диагнозом РМЖ (7 пациентов) и РШМ (5 пациентов), которые были облучены поэтапно (дозы в мониторинговых единицах – 50, 100, 150 Гр) электронным излучением на основе малогабаритного бетатрона КМБ-8 Томского политехнического университета, Россия. После каждого этапа из облученных образцов были подготовлены мазки крови на предметном стекле, которые исследованы методом СЭМ высокого разрешения JSM-7800F JEOL (Япония) при ускоряющих напряжениях 1 и 2 кВ.

Результаты: Установлено, что под воздействием электронного излучения (ЭИ) происходит изменение морфологии эритроцитов, а заметные изменения количества наноразмерных структур (НРС), которые были определены как вирусные частицы (вирусы и везикулы) [1], на поверхности эритроцитов и в плазме крови не выявлены.

Заключение: Изменение форм и размеров эритроцитов в большом количестве, сохранение на их поверхности НРС во время воздействия ионизирующего излучения (ИОИ) могут рассматриваться как данные, объективизирующие воздействие ЭИ при интраоперационной лучевой терапии (ИОЛТ). Это может способствовать в дальнейшем развитию ИОЛТ на основе разработок новых модификаций аппаратов и подходов в планировании, а также методов оценки эффективности ИОЛТ и прогнозов состояния пациентов.

Ключевые слова: эритроциты, электронные пучки, интраоперационная лучевая терапия (ИОЛТ), рак молочной железы (РМЖ), рак шейки матки (РШМ)

Abstract

Purpose: To study the effect of electron radiation on erythrocytes of venous blood of patients diagnosed with breast cancer (BC) and cervical cancer (CC) by scanning electron microscopy (SEM).

Material and methods: The objects of the study are venous blood samples (in a volume of 1 ml in test tubes) from 12 patients of the Yakutsk Republican Oncological Dispensary diagnosed with cervical cancer (7 patients) and breast cancer (5 patients), who were irradiated in stages (doses in monitoring units – 50, 100, 150 Gy) with electronic radiation based on a small-sized betatron KMB-8 Tomsk Polytechnic University, Russia. After each stage, blood smears were prepared from the irradiated samples on a slide, which were examined by the JSM-7800F JEOL (Japan) high-resolution SEM method at accelerating voltages of 1 and 2 kV.

Results: As a result of the study, it was revealed that under the influence of electron radiation (ER), the morphology of erythrocytes changes, and no noticeable changes in the number of nanoscale structures (NSS), which were identified as viral particles (viruses and vesicles) [1], are found on the surface of erythrocytes and in blood plasma.

Conclusion: Changes in the shapes and sizes of red blood cells in large numbers, and the preservation of NSS on their surface during exposure to ionizing radiation (IR) can be considered as data objectifying the effects of ER during intraoperative radiation therapy (IORT). This can contribute to the further development of IORT based on the development of new modifications of devices and approaches in planning, as well as methods for evaluating the effectiveness of IORT and predicting the condition of patients.

Key words: erythrocytes, electron beam, intraoperative radiation therapy (IORT), breast cancer (BC), cervical cancer (CC)

E-mail: gogoltakuo98@mail.ru

<https://doi.org/10.52775/1810-200X-2025-105-1-46-52>

Введение

Рак молочной железы (РМЖ) и рак шейки матки (РШМ) являются наиболее распространёнными злокачественными новообразованиями (ЗНО) и одной из главных причин смертности среди женщин по всему миру. По сведениям Всемирной организации здравоохранения, РМЖ занимает ведущее место в структуре опухолей женской репродуктивной системы, а РШМ занимает 4 место. В Российской Федерации в 2023 г. впервые было выявлено 674 587 случаев ЗНО, из них РМЖ составляет 22,5 %, а РШМ – 4,5 % [2, 3]. Многолетние исследования в области радиобиологии опухолей способствовали внедрению новых методов лучевой терапии для лечения пациентов с онкологическими заболеваниями [4]. В последние годы наблюдается значительный рост интереса к методам адъювантной лучевой терапии, которые применяются для лечения пациенток с ранними стадиями рака, после выполнения органосохраняющих операций.

Одним из наиболее перспективных методов лечения является интраоперационная лучевая терапия (ИОЛТ). ИОЛТ осуществляется преимущественно пучком быстрых электронов различной энергии на ускорителях или бетатронах, генерирующих электронное излучение.

Цель ИОЛТ заключается в предотвращении возникновения местных и регионарных рецидивов путем уничтожения тех жизнеспособных опухолевых элементов, которые могут остаться неудалёнными или попасть в рану из поврежденной при мобилизации первичной опухоли, пересеченных кровеносных сосудов и путей лимфооттока [5].

Известно, что в области локализации опухоли образуется большое количество микрососудов [6], что может обуславливать воздействие ионизирующего излучения (ИОИ) на большое количество эритроцитов. Эритроцит является универсальной моделью для изучения процессов, происходящих на клеточной мембране под действием самых различных агентов. Детальное исследование изменений морфофункцио-

нальных показателей эритроцитов под влиянием различных раздражителей позволяет наиболее полно установить возможные последствия и определить наиболее эффективные пути их коррекции.

Действие ИОИ на кроветворную функцию костного мозга приводит к развитию анемии. В то же время, изменение кислород-транспортной функции эритроцитов, связанное с изменениями, которые происходят на молекулярном уровне при действии ИОИ, недостаточно изучено [6–9]. Воздействие ИОИ на клетки крови вызывает образование свободных радикалов, которые могут повредить клеточные мембраны, белки и ДНК (ретикулоциты). В эритроцитах это приводит к повреждениям мембранных структур, который нарушает нормальный обмен веществ и может вызвать осмотическую нестабильность клетки, вследствие которого приводит к лизису клетки [9, 10].

Изучение воздействия ионизирующего излучения, в частности электронного пучка, на эритроциты имеет важное значение для понимания механизмов, приводящих к повреждению клеток крови. Поэтому, целью данной работы является изучение влияния электронного излучения на эритроциты венозной крови пациентов с диагнозом рака молочной железы (РМЖ) и рака шейки матки (РШМ) методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ).

Полученные данные могут быть полезны для разработки новых методов защиты от ионизирующего излучения и для улучшения методов лучевой терапии. В дальнейшем планируется углубленное исследование механизмов, лежащих в основе наблюдаемых изменений, а также разработка стратегий для минимизации негативного воздействия на клетки крови.

Материал и методы

Объектами исследования являются образцы венозной крови (в объеме 1 мл в пробирках) 12 пациентов Якутского республиканского онкологического диспансера с диагнозом РМЖ (7 пациентов) и РШМ (5 пациентов), которые были облучены поэтапно (дозы в monitorных единицах (МЕ) – 50, 100, 150 Гр) пучком электронов (с временным интервалом между облучениями 5–7 мин) на малогабаритном бетатроне КМБ-8 Томского политехнического университета (Россия).

Подготовленные к облучению пробирки фиксировались на специальном столе и помещались в тубус (сменный аппликатор) бетатрона. Образцы крови облучались в три этапа так, чтобы каждый раз полученная суммарная доза увеличивалась на 50 monitorных единиц (в Гр). После каждого этапа облучения были подготовлены образцы крови в виде сухих мазков на предметном стекле для дальнейшего исследования методом СЭМ высокого разрешения JSM-7800F JEOL (Япония) при ускоряющих напряжениях 1 и 2 кВ с подачей напряжения на исследуемый объект 8–10 В.

С помощью программного обеспечения JMicroVision v1.2.7 определены количество и линейные размеры эритроцитов в видимой области на СЭМ изображениях при увеличении в 1000×. На основе полученных данных с помощью программы Origin pro были построены гистограммы линейных размеров эритроцитов до и после облучения пучком электронов.

Результаты исследования

В результате проведенных экспериментов были получены СЭМ-изображения эритроцитов при каждом этапе облучения (рис. 1), был проведен анализ размеров и форм эритроцитов крови, составлены процентные соотношения эритроцитов по формам и построены гистограммы распределения эритроцитов по размерам.

На основе СЭМ-изображений эритроцитов крови пациентов с диагнозом РМЖ и РШМ выявлено, что после облучения в крови содержится преобладающее количество дисморфных клеток. Если до облучения и после 1 этапа облучения (50 Гр) преобладают дискоциты и овалоциты, которые относятся к нормальным эритроцитам, то с последующим каждым этапом облучения количество видов дисморфных эритроцитов (шизоцит, сфероцит, пластицит, акантоцит, стомацит, дрепаноцит, эхиноцит) и их процентные соотношения увеличиваются (табл. 1).

На рис. 2 представлено распределение линейных размеров эритроцитов до облучения и после 1, 2, 3 этапов облучения пучком электронов.

Сравнение средних размеров эритроцитов по ходу облучения показывает, что средние линейные размеры эритроцитов после 1-го этапа облучения (50 Гр) и 2-го этапа (100 Гр)

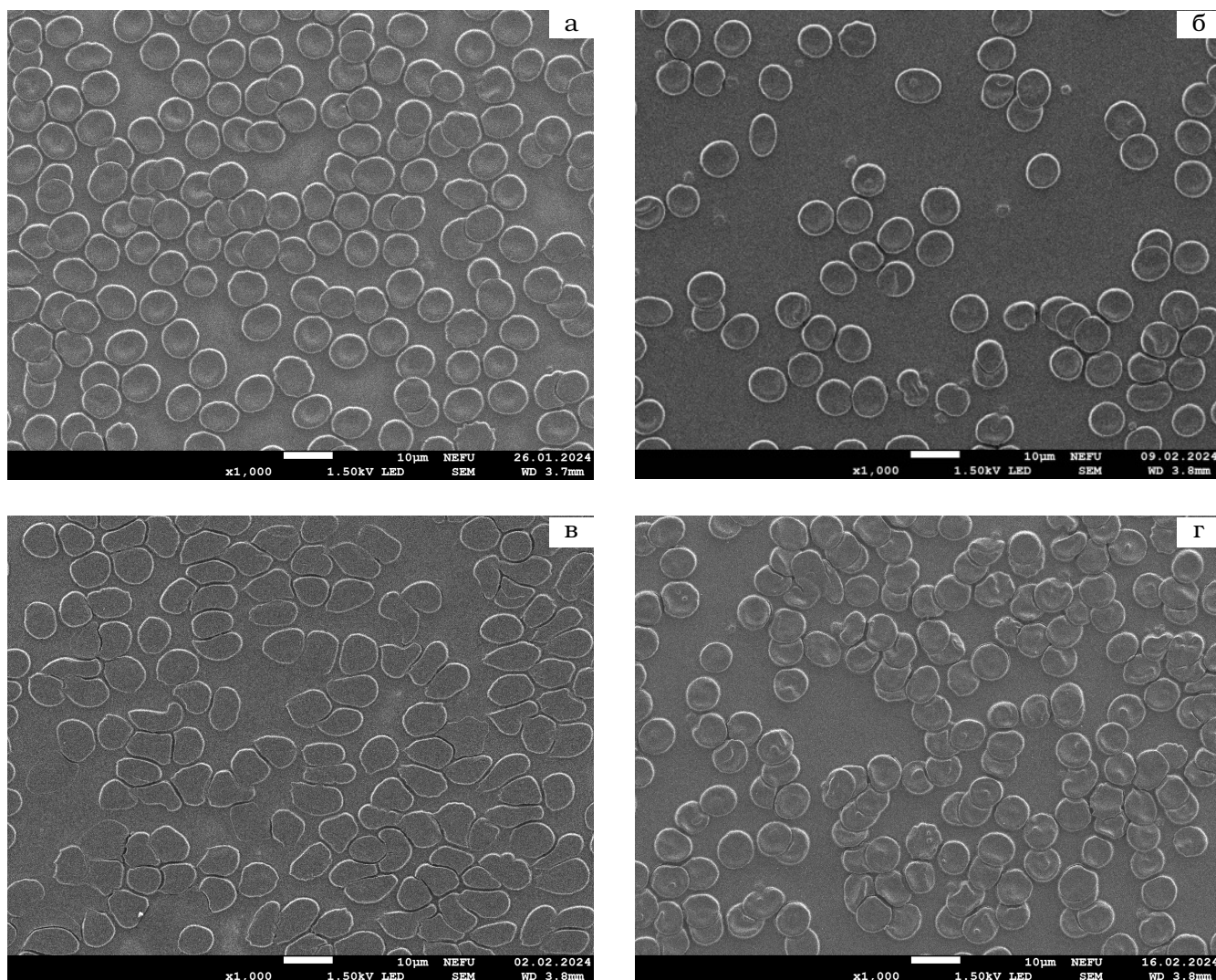


Рис. 1. Примеры СЭМ-изображений эритроцитов крови пациентов с диагнозом РМЖ (1000×): а – до облучения; б – 1 этап облучения электронами (50 Гр); в – 2 этап облучения электронами (100 Гр); г – 3 этап облучения электронами (150 Гр)

Таблица 1

Процентное соотношение количества эритроцитов по формам

Доза	Диско-цит (%)	Овали-цит (%)	Сферо-цит (%)	Шизо-цит (%)	Пласти-цит (%)	Аканто-цит (%)	Стома-цит (%)	Дрепано-цит (%)	Эхино-цит (%)
До облучения	29,9 (±0,25)	28,6 (±0,72)	4,2 (±0,06)	11 (±0,2)	16,7 (±0,37)	9,6 (±0,36)	–	–	–
50 Гр	26,6 (±0,12)	19,4 (±0,3)	6,5 (±0,12)	4,8 (±0,24)	20 (±0,17)	10,6 (±0,16)	3,2 (±0,1)	–	8,9 (±0,35)
100 Гр	–	17,3 (±1,1)	11,5 (±0,38)	28,8 (±0,33)	–	42,3 (±0,25)	–	–	–
150 Гр	–	5,4 (±0,14)	19,8 (±0,06)	14,4 (±0,69)	26,2 (±0,52)	18,9 (±0,32)	11,7 (±0,53)	–	3,6 (±0,35)

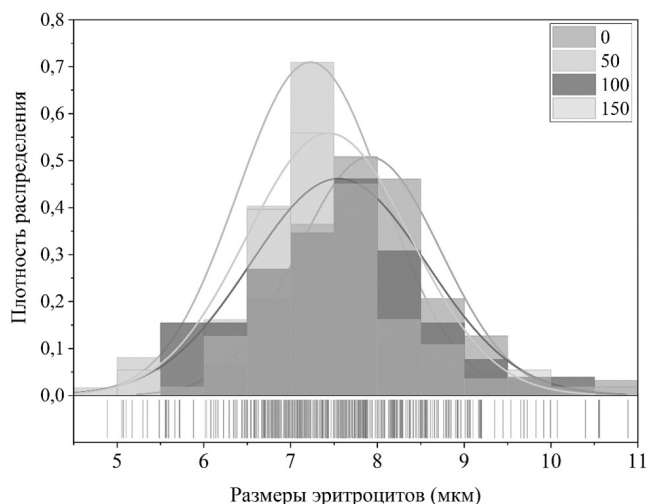


Рис. 2. Гистограмма распределения размеров эритроцитов крови пациентов с диагнозом РМЖ до и после 1, 2, 3 этапов облучения

уменьшаются, а после 3-го этапа облучения электронами (150 Гр) увеличиваются (рис. 3).

Вероятно, что уменьшение средних размеров эритроцитов после первого и второго этапов связано с увеличением количества эхиноцитов и стоматоцитов. Заметное увеличение размеров эритроцитов после 3-го этапа свидетельствует о том, что при таком воздействии ИОИ увеличивается количество сфероцитов с линейными размерами, превосходящими линейные размеры эритроцитов в норме, а также эхиноцитов. Эритроциты приобретают такие формы перед их гемолизом. Увеличение средних размеров эритроцитов в ходе данного экс-

перимента согласуется с результатами работы исследования влияния ИОИ на кровь млекопитающих, показывающих увеличение гематокрита [11]. Облучение альфа-частицами крови крыс в кюветах вызывает переход части нормальных дискоидных клеток в форму стоматоцитов, которые представляют собой чашеобразные клетки с единственной инвагинацией [12]. Часть этих клеток набухает и превращается в сферические клетки, являющиеся предлитической стадией трансформации. Наблюдалась зависимость этого эффекта как от величины поглощенной дозы, так и от ее мощности. При увеличении мощности “набухание” эритроцитов, вероятно, свидетельствует о повреждении их мембраны после прохождения пучка альфа-частиц через образец. Не исключено, что изменения морфологии связаны с нарушением липидной асимметрии в мембране [12].

На рис. 4 представлены СЭМ-изображения наноразмерных структур (НРС) на поверхностях эритроцитов. По результатам СЭМ исследования на поверхности эритроцитов крови пациентов с диагнозом РМЖ и РШМ были обнаружены НРС, которые могут быть вирусными частицами. СЭМ изображения эритроцитов при увеличении 20000 $\times$ показывают, что эти частицы не исчезают после 3 этапов облучения, что может свидетельствовать о том, что облучение с дозой 150 Гр недостаточно для того, чтобы уничтожить их. Это явление свидетельствует о том, что у НРС высокая радиорезистентность. Известно, что вне организма человека, например, при облучении вируса гриппа в дозе 30 кГр наблюдается полное разрушение

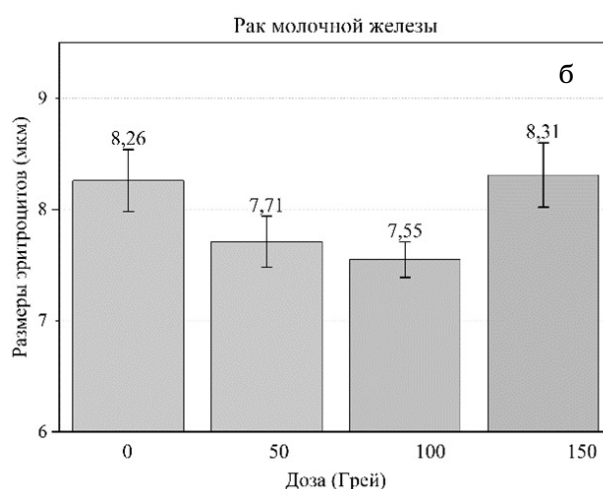
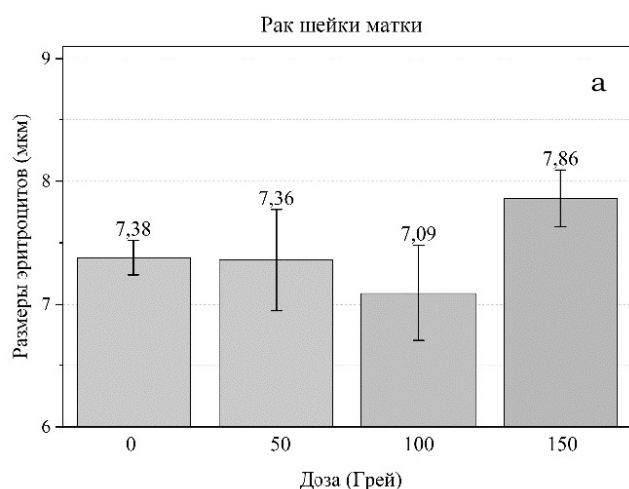


Рис. 3. Гистограммы средних размеров эритроцитов крови до облучения и после 1, 2, 3 этапов облучения электронами пациентов с диагнозом: а – РШМ; б – РМЖ

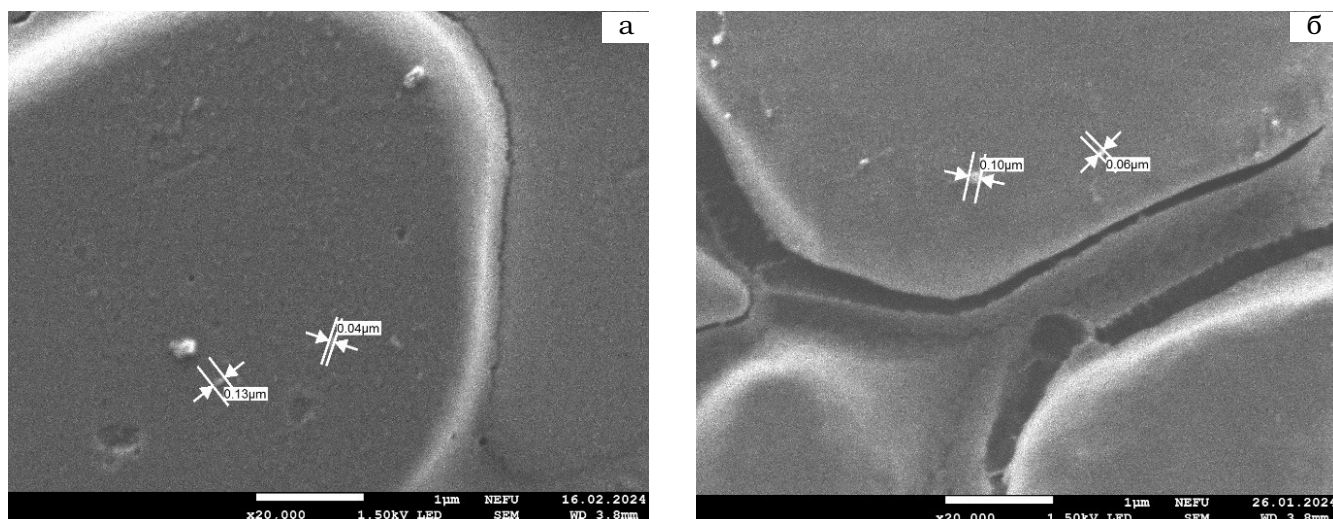


Рис. 4. Наноразмерные структуры на поверхности эритроцитов крови пациентов с диагнозом: а – РМЖ; б – РШМ

инфекционности. Для обеззараживания вирусов в замороженной плазме донорской крови требуются дозы излучения в диапазоне 30–50 кГр. В работе [13] выявленные методом СЭМ на поверхности эритроцитов образцов крови пациентов с диагнозом РШМ НРС содержат ДНК вируса папилломы человека типов 16 и 18. Таким образом, подтверждается, что наблюдаемые НРС могут являться вирусными частицами (вирусы и везикулы).

Заключение

По результатам исследования НРС на поверхности эритроцитов не исчезают и их количество не меняется при достаточно высоких дозах облучения, что подтверждает результаты исследования НРС и эритроцитов при воздействии ИОИ в ходе проведения лучевой терапии [1, 13]: НРС могут являться вирусными частицами. Увеличение количества НРС на поверхности эритроцитов и в плазме крови после проведения ИОЛТ может свидетельствовать о выделении раковыми клетками приповерхностного слоя ложа опухоли экзосом, что может в дальнейшем являться причиной возникновения рецидива или 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, с помощью которых можно разработать методику прогнозирования зависимости эффективности ИОЛТ. Это может способствовать в дальнейшем развитию ИОЛТ на основе разработок новых модификаций аппаратов и подходов в планировании, а также методов оценки эффективности ИОЛТ и прогнозов состояния пациентов.

Список литературы

1. Mamaeva SN, Kononova IV, Alekseev VA, et al. Determination of Blood Parameters using Scanning Electron Microscope as a Prototype Model for Evaluating the Effectiveness of Radiation Therapy for Cervical Cancer. *Int J Biomed.* 2021; 11 (1): 32-8. [https://doi.org/10.21103/Article11\(1\)_OA6](https://doi.org/10.21103/Article11(1)_OA6).
2. Sung H et.al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer J for Clin.* 2021; 71 (3): 209-49.
3. International Agency for Research on Cancer. – URL: <https://gco.iarc.who.int/today/en/dataviz/pie?mode=cancer&types=0&sexes=2&populations=643>.
4. Брянцева ЖВ, Новиков СН, Канаев СВ и др. Внутритканевая брахитерапия источниками высокой мощности дозы в лечении больных раком молочной железы. *Медицинская физика.* 2017; (3): 34-40.
5. Calvo FA, Meirino RM, Orecchia R. Интраоперационная лучевая терапия: обоснование

- метода технические аспекты, результаты клинического применения. Онкохирургия. 2010; 2 (3): 73-84.
6. Ремизов АН, Медицинская и биологическая физика. М., Высш. шк.; 1999.
 7. Кудряшов ЮБ, Беренфельд БС. Радиационная биофизика. М., Изд-во МГУ; 1979.
 8. Luneva OG, Sidorenko SV, Maksimov GV, et al. Erythrocytes as regulators of blood vessel tone. Biochem. Moscow Suppl. Ser. A, 2015; A9 (3): 161–71. <https://doi.org/10.1134/S1990747815040078>.
 9. Шиффман ФД. Патология физиологии крови. М., СПб., Бином, Невский Диалект, 2000.
 10. Поливода БИ, Конев ВВ, Попов ГА. Биофизические аспекты радиационного поражения биомембран. М.: Энергоатомиздат, 1990.
 11. Мамаева СН, Иванова СМ, Шутова ВВ, Максимов ГВ. Исследование изменений состояния эритроцитов и плазмы крови обезьян при воздействии ионизирующего излучения. Вестник Московского государственного технического университета им. Н.Э. Баумана. Серия Естественные науки. 2022; 5 (104): 86-104.
 12. Байжуманов АА, Кайнова АП, Лебедев ВМ и др. Зависимость воздействия ионизирующего излучения на эритроциты млекопитающих от величины и мощности поглощенной дозы альфа-частиц из 120-см циклотрона НИИЯФ МГУ. Известия Российской академии наук. Серия физическая. 2012; 76 (11): 1334.
 13. Mamaeva SN, Nikolaeva NA, Alekseev VA, et al. Immunofluorescence Analysis of Erythrocyte Membranes of Cervical Cancer Patients. Int J Biomed. 2023; 13 (1): 69-72.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Участие авторов. Статья подготовлена с равным участием авторов.

Поступила: 27.02.2025. **Принята к публикации:** 10.03.2025.

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

Financing. The study had no sponsorship.

Contribution. Article was prepared with equal participation of the authors.

Article received: 27.02.2025. **Accepted for publication:** 10.03.2025.