

Научная статья

УДК 616.316–008.6:546.791.6

doi:10.18499/2225-7357-2025-14-2-70-78

1.5.22 – клеточная биология



Активация каспаза-индуцированного апоптоза и реакция тучных клеток околоушной слюнной железы после однократного перорального введения оксидов обедненного урана

С. С. Селявин¹✉, В. В. Шишкина¹, С. Н. Золотарева¹, Е. Е. Иванова¹,
Т. В. Самойленко¹, В. А. Галиева², А. И. Медведев¹

¹Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко,
Воронеж, Россия

²Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы, Москва, Россия

Аннотация. Обедненный уран обладает высокой кумулятивной способностью и, попадая в организм человека, оказывает радиологические и химико-токсичные эффекты. **Цель исследования** – иммуногистохимическими методами оценить активность каспазы-3 и -9, а также реакцию тучных клеток стромы околоушной слюнной железы спустя 1, 3 и 6 месяцев после однократного перорального приема водного раствора оксидов обедненного урана. **Материал и методы.** Эксперимент проведен на 180 белых беспородных крысах-самцах, ранжированных на 6 групп: 3 экспериментальные и 3 контрольные. Животные экспериментальных групп получали однократную пероральную дозу обедненного урана (0,01 мг/100 г массы тела). Исследование околоушных желез контрольных и экспериментальных групп проводили спустя 1, 3 и 6 месяцев. Органы фиксировали в 10% нейтральном формалине, проводили гистологическое окрашивание (гематоксилином и эозином), иммуногистохимическое выявление каспаз-3 и -9, а также идентификацию тучных клеток (триптаза⁺, хлорацетилэстераза⁺ [ХАЭ]). **Результаты.** Через 1 месяц после введения обедненного урана выявлены изменения паренхиматозного компонента в виде вакуолизации, белковой дистрофии ацинарных клеток на фоне воспалительной реакции стромы (отека, полнокровия сосудов). Иммуногистохимический анализ выявил значительное увеличение активности каспазы-9 в паренхиме, тогда как экспрессия каспазы-3 достоверно увеличивалась лишь к 3-му месяцу. К 6-му месяцу каспаза-индуцированный апоптоз в паренхиме снижался, но сохранялся в клетках выводных протоков. Тучные клетки демонстрировали пик активности через 1 месяц (увеличение количества триптаза⁺ и ХАЭ⁺ клеток), с последующим снижением их функциональной активности к 6-му месяцу. **Заключение.** Пероральное поступление оксидов обедненного урана вызывает двухфазный ответ околоушной железы. В раннюю фазу (1 месяц) происходит острое повреждение с активацией митохондриального пути апоптоза (каспаза-9) и дегрануляцией тучных клеток. В позднюю фазу (3–6 месяцев) наблюдается переход к хроническому воспалению с преобладанием каспазы-3-зависимого апоптоза в протоках. Полученные данные расширяют понимание механизмов токсичности обедненного урана, подчеркивая роль стромально-паренхиматозных взаимодействий в длительном повреждении слюнных желез.

Ключевые слова: обедненный уран; околоушная слюнная железа; тучные клетки; апоптоз; каспазы

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Селявин С.С., Шишкина В.В., Золотарева С.Н., Иванова Е.Е., Самойленко Т.В., Галиева В.А., Медведев А.И. Активация каспаза-индуцированного апоптоза и реакция тучных клеток околоушной слюнной железы после однократного перорального введения оксидов обедненного урана // Журнал анатомии и гистопатологии. 2025. Т. 14, №2. С. 70–78. <https://doi.org/10.18499/2225-7357-2025-14-2-70-78>

ORIGINAL ARTICLES

Original article

Activation of Caspase-Induced Apoptosis and the Reaction of Parotid Salivary Gland Mast Cells After a Single Oral Administration

S. S. Selyavin¹✉, V. V. Shishkina¹, S. N. Zolotareva¹, E. E. Ivanova¹, T. V. Samoilenko¹, V. A. Galieva², A. I. Medvedev¹

¹N.N. Burdenko Voronezh State Medical University, Voronezh, Russia

²Patrice Lumumba Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia

Abstract. Depleted uranium has high cumulative capacity and, upon entering the human body, exerts radiological and chemotoxic effects. **The aim** of the study was to immunohistochemically evaluate the activity of caspase-3 and -9, as well as the response of stromal mast cells in the parotid salivary gland at 1, 3, and 6 months after a single oral administration of an aqueous solution of depleted uranium oxides. **Material and methods.** The experiment was conducted on 180 outbred male white rats divided into 6 groups (3 experimental and 3 control). Animals in the experimental groups received a single oral dose of depleted uranium (0.01 mg/100 g body weight). The parotid glands of control and experimental groups were examined after 1, 3, and 6 months. Organs were fixed in 10% neutral formalin, followed by histological staining (hematoxylin-eosin), immunohistochemical detection of caspases-3 and -9, and identification of mast cells (tryptase⁺, ChAE⁺). **Results.** At 1 month after depleted uranium administration, ultrastructural changes in acinar cells (vacuolization, protein dystrophy) and stromal inflammatory reactions (edema, vascular congestion) were observed. Immunohistochemical analysis revealed a significant increase in caspase-9 activity in the parenchyma, while caspase-3 expression increased significantly only by the 3rd month. By the 6th month, caspase-induced apoptosis in the parenchyma decreased but persisted in ductal cells. Mast cells showed peak activity at 1 month (increased tryptase⁺ and ChAE⁺ cells), followed by a decline in functional activity by the 6th month. **Conclusion.** Oral intake of depleted uranium oxides induces a biphasic response in the parotid gland: an early phase (1 month) involves acute damage with activation of the mitochondrial apoptosis pathway (caspase-9) and mast cell degranulation, while a late phase (3–6 months) transitions to chronic inflammation with predominant caspase-3-dependent apoptosis in the ducts. These findings enhance the understanding of depleted uranium toxicity mechanisms, highlighting the role of stromal-parenchymal interactions in long-term salivary gland damage.

Keywords: depleted uranium; parotid salivary gland; mast cells; apoptosis; caspases

Conflict of interests: the authors declare no conflict of interests.

For citation: Selyavin S.S., Shishkina V.V., Zolotareva S.N., Ivanova E.E., Samoilenko T.V., Galieva V.A., Medvedev A.I. Activation of caspase-induced apoptosis and the reaction of parotid salivary gland mast cells after a single oral administration. Journal of Anatomy and Histopathology. 2025. V. 14, №2. P. 70–78. <https://doi.org/10.18499/2225-7357-2025-14-2-70-78>

Введение

Обедненный уран (ОУ) вызывает стратегический интерес, являясь побочным продуктом обогащения природного урана, используемого в качестве ядерного топлива, а также для работы оборонного комплекса, наиболее активно при изготовлении и применении урановых сердечников для бронированных снарядов [14]. ОУ относят к новым загрязнителям, и впервые о его попадании в окружающую среду сообщили в начале 1990-х годов в Ираке во время военной операции под названием «Буря в пустыне» [1]. ОУ обладает высокой кумулятивной способностью и, попадая в организм человека посредством загрязненной почвы, воды и воздуха через органы пищеварительной, дыхательной и системы кожных покровов, вызывает сочетанное радиационное и токсико-химическое поражение. Время пребывания ОУ в организме составляет примерно 300 дней и сопровождается медленным высвобождением, что необходимо учитывать при проведении экспериментальных работ и интерпретации полученных данных [15]. Оксиды обедненного урана обладают широким спектром неблагоприятных

последствий, приводя к морфофункциональным нарушениям со стороны дыхательной, пищеварительной систем, развитию нейро- и нефротоксичности, оказывая влияние на иммунную и репродуктивную системы, а также способны вызвать генные мутации и рак [2, 18, 20]. Слюнные железы играют важную роль в поддержании здоровья полости рта, выделяя слюну, которая увлажняет слизистую оболочку, защищает зубы от кариеса и участвует в пищеварении [16]. Однако при различных состояниях, таких как синдром Шегрена, постлучевые повреждения и др., секреторная способность слюнных желез может снижаться, что приводит к увеличению риска развития кариеса, орального кандидоза и дисфункции зубочелюстной системы [16].

Злокачественные новообразования органов головы и шеи занимают седьмое место в мире и шестое в России среди всех злокачественных опухолей [17, 1]. Ежегодно в Российской Федерации выявляют более 20 тысяч новых пациентов с опухолями головы и шеи [1]. Аденокистозная карцинома является одной из самых распространенных злокачественных опухолей слюнных желез и составляет 4–10% всех эпителиальных опухолей этого типа [8].

Динамическое равновесие молекулярных каскадов, в том числе процессов клеточной пролиферации и апоптоза определяется генами, строго контролируется экспрессией белков и активностью некоторых иммунокомпетентных клеток, тем самым обеспечивая гармоничное развитие, функциональную эффективность и в целом, гомеостаз органа [7].

Особый интерес в структуре стромального компонента околоушной железы представляют тучные клетки (ТК) и возможности их медиаторов как в условиях физиологического равновесия, так и в связи с повреждением паренхимы железы. ТК представляют собой гетерогенную популяцию клеток соединительной ткани миелоидного происхождения, с большим количеством рецепторов, позволяющих обеспечивать межклеточное взаимодействие, а также оказывать регуляторное влияние на процессы ремоделирования тканей, ангио- и лимфоангиогенеза, на процессы эпителио-мезенхимальной трансформации, проявляя иммунокомпетентные свойства, регулировать иммунные реакции [3]. Особый интерес сосредоточен на разнообразных компонентах, которые упакованы во внутриклеточные гранулы и содержат либо уже сформированные медиаторы, такие как гистамин, триптазу и химазу, лизосомальные ферменты (эстеразы), либо могут высвобождать некоторые медиаторы, синтезированные *de novo*, такие как фактор некроза опухоли (TNF) α и трансформирующий фактор роста (TGF)- β 1 [6]. Некоторые из этих медиаторов, по-видимому, играют важную роль в развитии опухолевого микроокружения, а также принимают участие в регуляции процессов апоптоза [11].

Каспазы – группа внутриклеточных протеаз, участвующих в регуляции апоптоза и подразделяющиеся на каспазы-инициаторы (каспаза-2, -8, -9, -10) и каспазы-эффекторы (каспаза-3, -6 и -7) [4]. Функция инициирующих каспаз заключается в индукции процессов апоптоза путем активации эффекторных каспаз. Как показывают исследования, уран можно рассматривать как митохондриальный токсин, вызывающий митохондриальную дисфункцию в различных органах-мишенях и приводящий к высвобождению большого количества активных форм кислорода, индуцируя апоптоз. Однако, на данный момент в научной литературе представлены немногочисленные данные о влиянии ОУ на механизмы апоптоза в почках [13, 21], щитовидной железе [19], костной ткани [12], органах пищеварительной системы [9].

Цель исследования – иммуногистохимическими методами оценить активность каспазы-3 и -9, а также реакцию тучных клеток стромы околоушной слюнной железы спустя 1, 3 и 6 месяцев после однократного перорального приема водного раствора оксидов обедненного урана.

Материал и методы исследования

Место и время проведения исследования. Исследование смоделировано и проведено в рамках достигнутого соглашения между кафедрой гистологии ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко МЗ РФ и ГНИИИ военной медицины МО РФ.

Характеристика объекта исследования. Экспериментальное моделирование для изучения эффектов обедненного урана проведено на 180 белых беспородных лабораторных крысах-самцах в возрасте 4 месяцев и массой тела 200–220 г к началу эксперимента.

Способ формирования выборок. В соответствии с задачами исследования животных распределяли на 6 групп рандомизированным способом. Были сформированы 3 экспериментальные (n=50 в каждой) и 3 контрольные (n=10 в каждой) группы.

Дизайн исследования. Животные экспериментальных групп однократно перорально получали вместо воды водный раствор оксидов ОУ в дозе 0,01 мг на 100 г массы тела. Отдаленные эффекты ОУ оценивали спустя 1, 3 и 6 месяцев после воздействия. Каждой экспериментальной группе соответствовала группа контроля. В ходе эксперимента не было зафиксировано случаев гибели животных; все животные достигли запланированного срока выведения из эксперимента.

Выведение из эксперимента осуществляли под действием эфирного наркоза с последующей декапитацией в соответствии с принципами биоэтики и правилами лабораторной практики.

Методы. Для морфологического исследования извлекали органокомплекс парных околоушных слюнных желез вместе с околоушными лимфатическими узлами и фиксировали в 10% нейтральном формалине. После стандартной гистологической пробоподготовки парафиновые блоки подвергали микротомии и дальнейшим методикам гистологического окрашивания. Срезы толщиной 4 мкм окрашивали гематоксилином и эозином.

Фенотипические особенности ТК изучали, определяя количество метахроматичных клеток на срезах, окрашенных раствором Гимзы. Активность хлорацетилэстеразы (ХАЭ) ТК выявляли с помощью одновременного азосочетания с нафтолом AS-D в качестве субстрата и гексазонием-парарозанилином в качестве агента сочетания в соответствии со стандартным протоколом окрашивания [6].

Триптазу ТК выявляли с помощью первичных мышинных моноклональных антител (Anti-Mast Cell Tryptase antibody, AbCam, #ab2378, разведение 1: 2000, Abcam, Великобритания).

Определяли активность экспрессии

каспазы-9 и каспазы-3. Для этого, на срезах толщиной 2 мкм проводили иммуногистохимическое окрашивание с помощью кроличьих моноклональных антител к Caspase-9 [EPR18107] (ab202068), разведение 1:300 и Caspase-3 [EPR18297] (ab184787), разведение 1:1000 (Abcam, Великобритания) с последующим использованием набора реагентов «Универсальная двухстадийная система детекции PrimeVision» (антитела к IgG мыши/кролика - HRP/Dab, ПраймБиоМед, Россия).

Фотодокументирование и оценку микропрепаратов проводили на аппаратно-программном комплексе для биологических исследований с системой документирования на основе прямого исследовательского микроскопа ZEISS Axio Imager.A2. Профиль ТК и экспрессию каспазы-9 и -3 определяли по сумме 40 полей зрения у каждого животного при увеличении $\times 400$ с дальнейшим пересчетом на 1 мм². Количественный анализ экспрессии каспаз-3 и -9 проводили путем измерения площади специфического иммуногистохимического окрашивания (DAВ-позитивные участки) с использованием цифровой морфометрии. Суммарную площадь продукта реакции рассчитывали для каждого маркера отдельно. Количественный и морфометрический анализ результатов осуществляли с помощью программы ImageJ 1.51J8.

Статистический анализ. Статистический анализ проводили при помощи программы IBM SPSS Statistica 21. Характер распределения оценивали с помощью критерия Колмогорова–Смирнова. Поскольку данные соответствовали нормальному распределению, для сравнения двух несвязанных выборок использовали параметрический *t*-критерий Стьюдента с поправкой Уэлча. Множественные сравнения проводили с помощью дисперсионного анализа ANOVA с аспостериорным критерием Холма–Бонферрони. Данные представлены в виде средней арифметической величины (*M*) и стандартного отклонения (σ). Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Этическая экспертиза. Исследование одобрено этическим комитетом ВГМУ им. Н.Н. Бурденко (протокол № 5 от 28.10.2015).

Результаты и их обсуждение

При обзорной микроскопии околоушных желез грызунов группы контроля паренхима была представлена небольшими серозными ацинусами, железистые клетки которых имели шаровидные ядра и ограничивали апикальным полюсом маленький просвет. Цитоплазма сероцитов умеренно базофильна с рассеянными неравномерными включениями. В целом, морфологическая характеристика паренхиматозных и стромальных компонентов соответствовала условиям физиологической нормы [5].

При однократном воздействии водного раствора оксидов ОУ спустя 1 месяц в ацинарных клетках наблюдались выраженные структурные изменения, такие как внутриклеточная вакуолизация, явления белковой дистрофии паренхимы (рис. 1 А, В). В строме отмечались экссудативные признаки воспалительной реакции в виде отечности, полнокровия сосудов и слабой инфильтрации клетками лимфоцитарного ряда. Спустя 3 месяца после воздействия данные признаки также сохранялись. Структура железы спустя 6 месяцев урановой инкорпорации имела признаки незначительной воспалительной реакции стромы, наблюдались структурные признаки повреждения выводных протоков, преимущественно внутридольковых вставочных (рис. 2, В).

Примененные в работе методики идентификации ТК выявили немногочисленное представительство ТК в междольковой соединительной ткани железы, чаще располагавшихся вокруг сосудов и системы выводных протоков. Динамика ТК в зависимости от возраста лабораторных животных свидетельствует о том, что преобладающим типом были клетки с признаками метахромазии, триптаза⁺ и ХАЭ⁺-ТК составляли меньшую долю. Достоверных данных относительно изменения соотношения ТК в возрастной динамике выявлено не было (табл. 1). Однако, обращало на себя внимание увеличение общего числа, а также ХАЭ⁺- и триптаза⁺-ТК относительно контрольных значений после однократного приема водного раствора оксидов ОУ спустя 1 месяц с последующей тенденцией к подавлению синтетической функции ТК спустя 3 и 6 месяцев эксперимента до значений достоверно не отличавшихся от групп контроля (табл. 1, рис. 2, F). Топографически ХАЭ⁺-ТК чаще выявлялись в соединительнотканной капсуле железы спустя 3 и 6 месяцев после воздействия ОУ (рис. 2, E). Внутри групп применения раствора оксидов ОУ выявлены динамические статистически значимые изменения относительно сроков наблюдения, проявлявшиеся уменьшением числа метахроматических и триптаза⁺-ТК (табл. 1, рис. 2, D).

Иммуногистохимическое исследование активности каспазы-9 выявило увеличение численности иммунопозитивных клеток паренхимы во все сроки после применения ОУ относительно значений контроля, в то время как количество иммунопозитивных клеток к каспазе-3 статистически значимо увеличивалось в сравнении с контрольными показателями только спустя 3 и 6 месяцев после воздействия ОУ (рис. 1 С, D). Однако, следует отметить, что клетки паренхимы спустя 6 месяцев сохраняли иммунопозитивное окрашивание к каспазе-9 на уровне систем выводных протоков, преимущественно, вставочных и исчерченных внутридольковых (табл. 2). При сравнении активности каспаз в группах животных, получавших ОУ, просле-

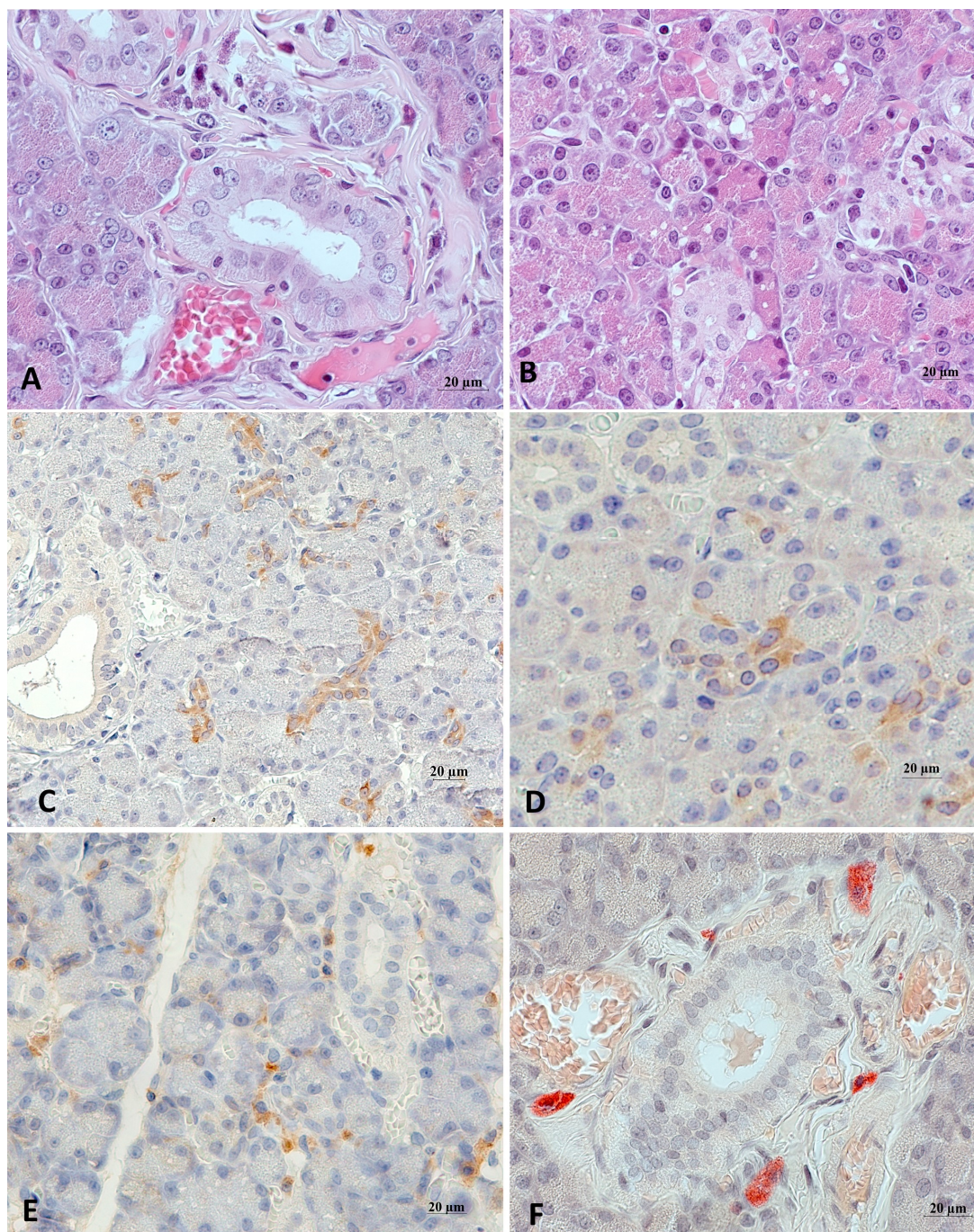


Рис. 1. Морфологические особенности паренхиматозных и стромальных компонентов околоушной слюнной железы при однократном применении водного раствора оксидов обедненного урана (ОУ) в эксперименте. А – явления отека стромы, и полнокровия сосудов околоушной слюнной железы. В – изменения ацинарных клеток в виде внутриклеточной вакуолизации, явлений белковой дистрофии. С – иммунопозитивные клетки к каспазе-9, преимущественно в системе внутридольковых выводных протоков. D – иммунопозитивные клетки паренхимы к каспазе-3 спустя 3 месяца после воздействия ОУ. E – триптаза-позитивные тучные клетки (ТК), инфильтрирующие строму железы, с признаками дегрануляции. F – стромальные ТК с хлорацетилэстеразной активностью отличаются крупными размерами и преимущественно периваскулярным расположением. Методики окрашивания: А, В – окрашивание гематоксилином и эозином; С, D – иммуногистохимическая реакция с антителами к каспазе-9 (С) и каспазе-3 (D); E – иммуногистохимическая реакция с антителами к триптазе ТК; F – выявление активности хлорацетилэстеразы ТК. Масштабный отрезок – 20 µm.

Fig. 1. Morphological features of parenchymal and stromal components of the parotid salivary gland after a single application of an aqueous solution of depleted uranium (DU) oxides. A – phenomena of swelling of the stroma and fullness of the vessels of the parotid salivary gland after 1 month of exposure to DU. B – ultrastructural changes in acinar cells in the form of intracellular vacuolization, phenomena of protein dystrophy. C – immunopositive cells to caspase 9, mainly systems of intracellular excretory ducts. D – immunopositive parenchyma cells to caspase 3, 3 months after exposure to DU. E – tryptase-positive TCS infiltrating the stroma of the gland, with signs of degranulation. F – stromal mast cells with esterase activity are characterized by their large size and predominantly perivascular location. Staining techniques: A, B – hematoxylin and eosin staining; C, D – immunohistochemical reaction with antibodies to caspase 9 (C) and caspase 3 (D); E – immunohistochemical reaction with antibodies to mast cell tryptase; F – detection of the activity of chloroacetyl esterase of MCs. The scale segment is 20 µm.

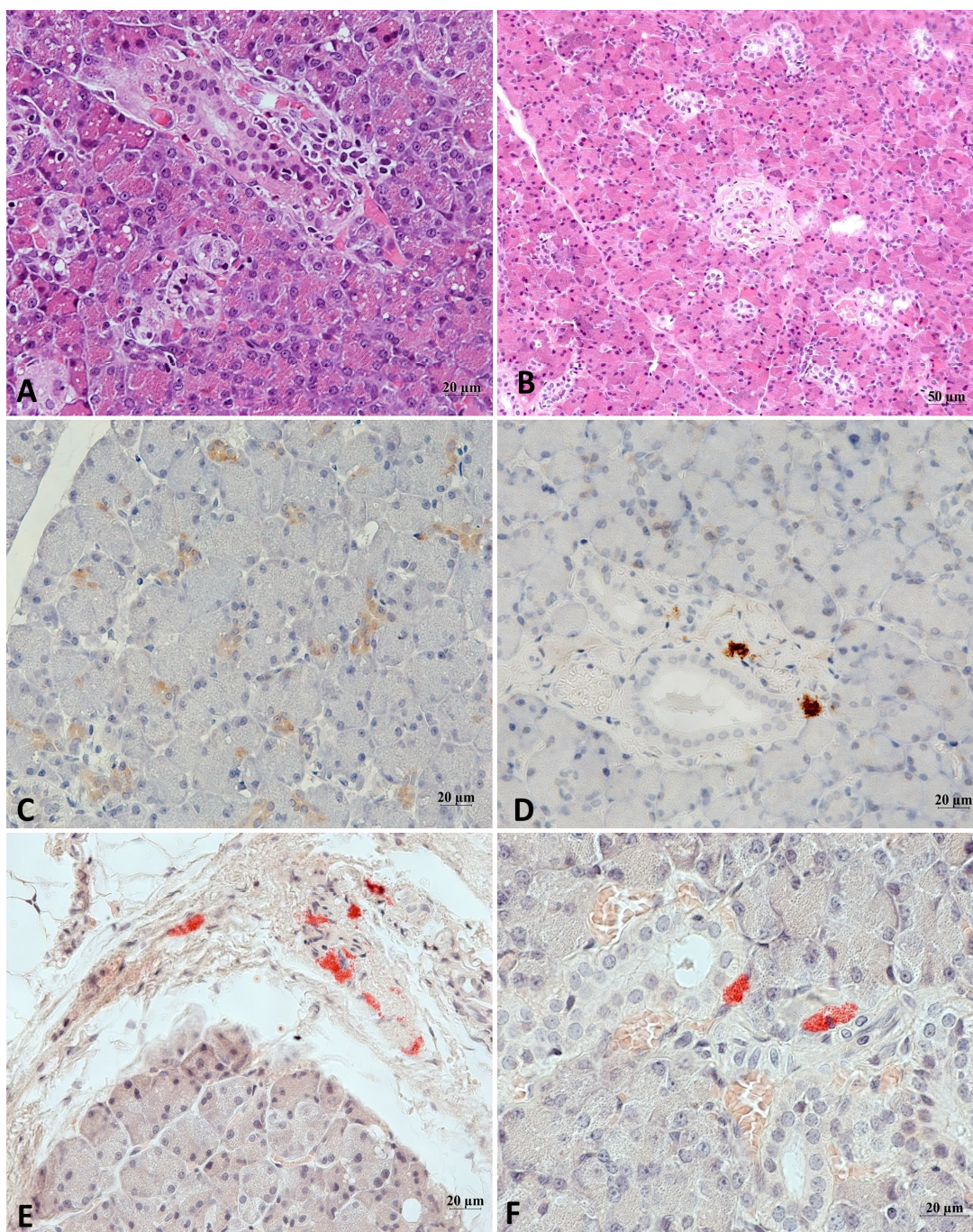


Рис. 2. Морфологические особенности паренхиматозных и стромальных компонентов околоушной слюнной железы при однократном применении водного раствора оксидов обедненного урана в эксперименте через 3 (А, С, Е) и 6 (В, D, F) месяцев. А – воспалительный инфильтрат вокруг выводных протоков железы, явления вакуолизации цитоплазмы ацинарных клеток. В – единичные воспалительные элементы в строме железы, структурные признаки повреждения внутридольковых выводных протоков. С – каспаза-9 иммунопозитивные клетки выявляются как в ацинарных клетках, так и системе внутридольковых выводных протоков. D – триптаза⁺-ТК стромы с признаками дегрануляции выявляются преимущественно вокруг сосудов и системы выводных протоков. Е – ХАЭ⁺-ТК с признаками дегрануляции в капсуле железы. F – единичные ТК с хлорацетилэстеразной активностью в соединительнотканых септах, сококализированы с исчерченным выводным протоком. Методики окрашивания: А, В – окрашивание гематоксилином и эозином; С, D – иммуногистохимическая реакция с антителами к каспазе-9 (С) и триптазе ТК (D); Е, F – выявление активности хлорацетилэстеразы ТК. Масштабный отрезок: В – 50 μm, остальные – 20 μm.

Fig. 2. Morphological features of parenchymal and stromal components of the parotid salivary gland after a single application of an aqueous solution of DU oxides in an experiment 3 (A, C, E) and 6 (B, D, F) months. A – inflammatory infiltrate around the excretory ducts of the gland, phenomena of vacuolization of the cytoplasm of acinar cells. B – single inflammatory elements in the stroma of the gland, structural signs of damage to the intracanalicular excretory ducts. C – caspase-9 immunopositive cells are detected both in acinar cells and in the system of intracanalicular excretory ducts. D – trypsinase⁺-MCs stroma with signs of degranulation are detected mainly around blood vessels and the excretory duct system. E – ChAE⁺-MCs with signs of degranulation in the gland capsule. F – single mast cells with chloroacetylcholinesterase activity in connective tissue septa, colocalized with a striated excretory duct. Staining techniques: A, B – hematoxylin and eosin staining; C, D – immunohistochemical reaction with antibodies to caspase-9 (C) and trypsinase MCs (D); E, F – detection of chloroacetylcholinesterase MSc. Scale segment: B – 50 μm, others – 20 μm.

Таблица 1/Table 1

Численная плотность тучных клеток в условиях возрастной физиологической нормы и в различные сроки после инкорпорации обедненного урана (на 1 мм²)
Features of the mast cell population in conditions of age-related physiological norm and different periods after depleted uranium incorporation (per 1 mm²)

Методика идентификации ТК	Контроль	ОУ	p-value
1 месяц после воздействия ОУ			
Общее число ТК (метахромазия)	29,6±2,4	48,9±5,6	p=0,001
ХАЭ ⁺ -ТК	19,4±2,4	34,4±2,9	p=0,047
Триптаза ⁺ -ТК	24,2±1,8	39,6±4,1	p=0,027
3 месяца после воздействия ОУ			
Общее число ТК (метахромазия)	31,7±4,8	24,8±3,2	p=0,167
ХАЭ ⁺ -ТК	22,2±3,5	19,4±1,7	p=0,272
Триптаза ⁺ -ТК	25,6±2,2	28,9±2,7	p=0,26
6 месяцев после воздействия ОУ			
Общее число ТК (метахромазия)	27,9±3,1	30,2±5,8	p=0,125
ХАЭ ⁺ -ТК	22,7±3,9	18,4±1,7	p=0,132
Триптаза ⁺ -ТК	26,4±2,6	11,6±2,1	p=0,445

Примечание: Общее число ТК – ANOVA F=4,408, p=0,014; p₁₋₃=0,014, p₁₋₆=0,0039.
ХАЭ⁺-ТК – ANOVA F=0,0015, p=0,998
Триптаза⁺-ТК – ANOVA F=6,0376, p=0,0032; p₁₋₃=0,021 p₁₋₆=0,00062.

Таблица 2/Table 2

Активность каспаз в паренхиме околоушной железы в условиях возрастной физиологической нормы и в различные сроки после инкорпорации обедненного урана (на 1 мм²)
The activity of caspase expression in the parotid parenchyma of age-related physiological norm and different periods after depleted uranium incorporation (per 1 mm²)

Тип каспазы	Контроль	ОУ	p-value
1 месяц после воздействия ОУ			
Каспаза-9	0,56±0,23	1,66±0,68	p=0,182
Каспаза-9	3,95±0,74	16,64±2,28	p=0,039
3 месяца после воздействия ОУ			
Каспаза-3	0,4±0,22	5,62±0,77	p=0,029
Каспаза-9	3,91±0,8	10,60±1,43	p=0,043
6 месяцев после воздействия ОУ			
Каспаза-3	0,10±0,04	0,79±0,12	p=0,004
Каспаза-9	2,63±0,28	7,95±1,04	p=0,041

Примечание: Каспаза 3 – ANOVA F=3,6208, p=0,028; p₃₋₆=0,003; Каспаза 9 – ANOVA F=0,344, p=0,7686.

живалась статистически значимая динамика изменений каспазы-3, что проявлялось значительным увеличением активности спустя 3 месяца после воздействия ОУ и резким уменьшением – к 6 месяцам, относительно начального срока. Статистически значимых изменений активности каспазы-9 внутри групп ОУ выявлено не было (табл. 2).

Апоптоз, как процесс самоуничтожения клеток, является распространенным проявлением дисфункции слюнных желез, приводящим к уменьшению числа ацинарных клеток [1, 14]. В то же время апоптоз является ключевым процессом в эмбриональном развитии, функционировании иммунной системы и поддержании гомеостаза тканей [20]. Нарушение этого процесса играет важную роль в патогенезе злокачественных новообразований [20]. Каспазы играют центральную роль в апоптозе, процессе программируемой клеточной гибели. Они делятся на две группы: иницирующие каспазы (каспазы -2, -8, -9 и -10) и эффекторные каспазы (каспазы -3, -6 и -7) [20, 16]. Эти ферменты активируются в ответ на различные стимулы, такие как поврежде-

ние ДНК, гипоксия или сигналы от рецепторов, и запускают каскад событий, приводящий к гибели клетки [20]. Апоптоз может инициироваться двумя основными путями: внешним и внутренним [20, 16]. Внешний путь начинается с активации рецепторов на поверхности клетки, что приводит к активации каспазы-8, а затем и каспазы-3 [20]. Внутренний, или митохондриально-зависимый, путь начинается с повреждения клетки, что приводит к открытию поры в митохондриальной мембране. Это вызывает потерю мембранного потенциала и высвобождение проапоптотических белков, включая цитохром С, в цитозоль [20, 16]. Цитохром С в комплексе с Араф-1 активирует каспазу-9 через апоптосому, представляющую собой гомогептамер, состоящий из семи копий белка Араф1 [20, 16]. Каждый мономер Араф1 содержит CARD-домен, связывающий аденозинтрифосфат, и регуляторный домен [16]. Апоптосома действует как платформа для активации каспазы-9, привлекая и активируя ее через димеризацию, что приводит к активации каспазы-3 [16]. В обоих путях каспаза-3 играет

центральную роль, вызывая ядерные изменения, характерные для апоптоза [20]. Известно, что ТК в своих гранулах содержат каспазу-3 и способны непосредственно принимать участие в регуляции апоптоза, приводя к высвобождению эффекторной каспазы-3 в результате дегрануляции [11]. Выявленные в нашем исследовании эффекты водного раствора оксидов ОУ продемонстрировали активацию ТК повышением секреции высвобождаемых медиаторов – триптазы, а также повышением эстеразной активности ТК относительно контрольных значений после однократного приема водного раствора оксидов ОУ спустя 1 месяц. Однако, спустя 3 и 6 месяцев наблюдалась тенденция к супрессивному влиянию ОУ на биогенез гранул ХАЭ и триптазы ТК. Функции ХАЭ до сих пор остаются мало изученными и представляют собой предмет дискуссии. Однако, по некоторым данным, ХАЭ принимает участие в детоксикационных и микробоцидных процессах [6]. Вместе с этим, спустя 1 месяц после применения ОУ наблюдалось повышение активности апоптотических белков – каспазы-9 и -3.

Заключение

Пероральное поступление оксидов обедненного урана характеризуется двухфазным ответом околоушной железы: спустя 1 месяц наблюдается острое повреждение паренхимы с активацией митохондриального пути апоптоза (каспаза-9) и дегрануляцией тучных клеток как проявление ранней фазы. В дальнейшем, в позднюю фазу, спустя 3–6 месяцев происходит переход к хроническому воспалению с преобладанием каспазы-3-зависимого апоптоза в протоках. Полученные данные расширяют понимание механизмов токсичности обедненного урана, подчеркивая роль стромально-паренхиматозных взаимодействий в длительном повреждении слюнных желез. Таким образом, вызванное обедненным ураном повреждение стромальных и паренхиматозных элементов железы приводит к активации ТК, индукции окислительного повреждения митохондрий и, в конечном итоге, к запуску сигнальных механизмов апоптоза спустя 1 месяц после воздействия. Эффекты водного раствора оксидов обедненного урана – результат комплексного взаимодействия повреждений, вызванных радиацией, окислительным стрессом, апоптозом и нарушением клеточных функций. Защита паренхиматозных клеток от апоптоза является одним из потенциальных методов сохранения секреции слюнных желез, а воздействие на регуляторные мишени, в качестве которых могут выступать тучные клетки и молекулярные каскады апоптотических путей позволяют уточнить токсические механизмы обедненного урана и предположить дальней-

шие пути разработки фармакологических вмешательств и методов лечения.

Список источников / References

- Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадова А.О., ред. Злокачественные новообразования в России в 2023 году (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 2024. 276. Kaprin AD, Starinskii VV, Shakhzadova AO., red. Zlokachestvennye novoobrazovaniya v Rossii v 2023 godu (zabolevaemost' i smertnost'). M.: MNIOI im. P.A. Gertsena — filial FGBU «NMITs radiologii» Ministerstva zdravookhraneniya Rossiiskoi Federatsii. 2024. 276. (In Russ.).
- Селявин С.С. Функциональная динамичность некоторых морфологических критериев в оценке биоэффектов обедненного урана при исследовании органокомплекса околоушных желез и лимфатических узлов. Вестник Биомедицина и социология. 2024;9(4):38-45. Selyavin S.S. Funktsional'naya dinamichnost' nekotorykh morfologicheskikh kriteriev v otsenke bioeffektov obednennogo urana pri issledovanii organokompleksa okoloushnykh zhelez i limfaticeskikh uzlov. Vestnik Biomeditsina i sotsiologiya. 2024;9(4):38-45. (In Russ.).
- Шишкина В.В., Атякшин Д.А. Тучные клетки и фибриллогенез коллагена в условиях невоспаления. Журнал анатомии и гистопатологии. 2019;8(3):79-88. doi: 10.18499/2225-7357-2019-8-3-79-88. Shishkina V.V., Atyakshin D.A. Tuchnye kletki i fibrillogenez kollagena v usloviyakh nevesomosti. Zhurnal anatomii i gistopatologii. 2019;8(3):79-88. (In Russ.). doi: 10.18499/2225-7357-2019-8-3-79-88.
- Шишкина В.В., Мошуров И.П., Герасимова О.А., Антакова Л.Н., Самойленко Т.В., Коротких Н.В., Горюшкина Е.С., Андреев П.Ю., Атякшин Д.А. Семейство каспаз: молекулярные основы взаимодействия при апоптозе и пироптозе. Гены и Клетки. 2024;19(1):53-168. doi 10.17816/gc569246. Shishkina V.V., Moshurov I.P., Gerasimova O.A., Antakova L.N., Samoilenko T.V., Korotkikh N.V., Goryushkina E.S., Andreev P.Yu., Atyakshin D.A. Cemeistvo kaspaz: molekulyarnye osnovy vzaimodeistviya pri apoptoze i piroptoze. Geny i Kletki. 2024;19(1):53-168. (In Russ.). doi 10.17816/gc569246.
- Adrian Florin G, Maria-Catalina ML, Viorel M, Vasile R, Calin L, Adela RI. Microanatomical, histochemical and morphometric features of the major and selected minor salivary glands in laboratory Wistar rat. Anat Histol Embryol. 2024 Jan;53(1):e13006. doi: 10.1111/ahel.13006.
- Atiakshin D, Kostin A, Buchwalow I, Morozow D, Samoilova V, Tiemann M. Chloroacetate esterase reaction combined with immunohistochemical characterization of the specific tissue microenvironment of mast cells. Histochem Cell Biol. 2023 Apr;159(4):353-361. doi: 10.1007/s00418-022-02174-1.
- de Mello Gomes AN, Nagai MA, Lourenço SV, Coutinho-Camillo CM. Apoptosis and proliferation during human salivary gland development. J Anat.

- 2019 Jun;234(6):830-838. doi: 10.1111/joa.12970.
8. Dozic B, Glumac S, Boricic N, Dozic M, Anicic B, Boricic I. Immunohistochemical expression of caspases 9 and 3 in adenoid cystic carcinoma of salivary glands and association with clinicopathological parameters. *J BUON*. 2016 Jan-Feb;21(1):152-60.
9. Dublineau I, Grison S, Linard C, Baudelin C, Dudoignon N, Souidi M, Marquette C, Paquet F, Aigueperse J, Gourmelon P. Short-term effects of depleted uranium on immune status in rat intestine. *J Toxicol Environ Health A*. 2006 Sep;69(17):1613-28. doi: 10.1080/15287390600629825.
10. Faa A, Gerosa C, Fanni D, Floris G, Eyken PV, Lachowicz JJ, Nurchi VM. Depleted Uranium and Human Health. *Curr Med Chem*. 2018;25(1):49-64. doi: 10.2174/0929867324666170426102343.
11. Garcia-Faroldi G, Melo FR, Rönnerberg E, Grujic M, Pejler G. Active caspase-3 is stored within secretory compartments of viable mast cells. *J Immunol*. 2013 Aug 1;191(3):1445-52. doi: 10.4049/jimmunol.1300216.
12. Hao Y, Gao R, Lu B, Ran Y, Yang Z, Liu J, Li R. Ghrelin protects against depleted uranium-induced bone damage by increasing osteoprotegerin/RANKL ratio. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2018 Mar 15;343:62-70. doi: 10.1016/j.taap.2018.02.015.
13. Hao Y, Ren J, Liu C, Li H, Liu J, Yang Z, Li R, Su Y. Zinc protects human kidney cells from depleted uranium-induced apoptosis. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2014 Mar;114(3):271-80. doi: 10.1111/bcpt.12167.
14. Li L, Jiang F, Wang L. et al. Research on the mechanism of uranium pollution caused by SUP Deinococcus Radiodurans. *J Radioanal Nucl Chem*. 2025;334:1595-1611.
15. McDiarmid MA, Almashat S, Cloeren M. et al. Thirty years of surveillance of depleted uranium-exposed Gulf War veterans demonstrate continued effects to bone health. *J Toxicol Environ Health A*. 2025;88(5):209-225.
16. Qu LH, Hong X, Zhang Y, Cong X, Xiang RL, Mei M, Su JZ, Wu LL, Yu GY. C1q/tumor necrosis factor-related protein-6 attenuates TNF- α -induced apoptosis in salivary acinar cells via AMPK/SIRT1-modulated miR-34a-5p expression. *J Cell Physiol*. 2021 Aug;236(8):5785-5800. doi: 10.1002/jcp.30262.
17. Ren J, Huang R, Li Y, Chen R, Tian H, Liu C. Radioprotective effects and mechanism of HL-003 on radiation-induced salivary gland damage in mice. *Sci Rep*. 2022 May 19;12(1):8419. doi: 10.1038/s41598-022-12581-y.
18. Schilz JR, Dashner-Titus EJ, Simmons KA, Erdei E, Bolt AM, MacKenzie DA, Hudson LG. The immunotoxicity of natural and depleted uranium: From cells to people. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2022 Nov 1;454:116252. doi: 10.1016/j.taap.2022.116252.
19. Shu C, Li J, Liu S, Li Y, Ran Y, Zhao Y, Li J, Hao Y. Depleted uranium induces thyroid damage through activation of ER stress via the thrombospondin 1-PERK pathway. *Chem Biol Interact*. 2023 Sep 1;382:110592. doi: 10.1016/j.cbi.2023.110592.
20. Wang H, Li L, Fan X, Zhang Y, Lu Q, Ma N, Yu B, Li X, Gao J. Health Implications of Depleted Uranium: An Update. *J Appl Toxicol*. 2025 Jul;45(7):1165-1175. doi: 10.1002/jat.4720.
21. Yang X, Liu J, Yin Y, Yang L, Gao M, Wu Z, Lu B, Luo S, Wang W, Li R. MSC-EXs inhibits uranium nephrotoxicity by competitively binding key proteins and inhibiting ROS production. *Ecotoxicol Environ Saf*. 2025 Jan 1;289:117654. doi: 10.1016/j.ecoenv.2024.117654

Информация об авторах

✉ Селявин Станислав Сергеевич – ассистент кафедры гистологии; Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко; ул. Студенческая, 10, Воронеж, 394036, Россия; selyavin92@list.ru
<https://orcid.org/0009-0005-9086-5714>
 Шишкина Виктория Викторовна – канд. мед. наук, доцент, зав. кафедрой гистологии Воронежского государственного медицинского университета им. Н.Н. Бурденко; 4128069@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-9185-4578>
 Золотарева Светлана Николаевна – канд. биол. наук, доцент кафедры гистологии Воронежского государственного медицинского университета им. Н.Н. Бурденко; zol2009sn@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2136-8272>
 Иванова Елена Евгеньевна – канд. мед. наук, доцент кафедры гистологии Воронежского государственного медицинского университета им. Н.Н. Бурденко; 89155888871@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-8920-8059>
 Самойленко Татьяна Валерьевна – ассистент кафедры гистологии; Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко; antailkka@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9990-535X>
 Галиева Варвара Андреевна; Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы varvara.taratina@yandex.ru
<https://orcid.org/0009-0009-2250-9565>
 Медведев Андрей Игоревич; Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко; SPIN 1962-4722

Information about the authors

✉ Stanislav S. Selyavin – teaching assistant at the Histology Department; N.N. Burdenko Voronezh State Medical University; ul. Studencheskaya, 10, Voronezh, 394036
selyavin92@list.ru
<https://orcid.org/0009-0005-9086-5714>
 Viktoriya V. Shishkina – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Head of the Department of histology of N.N. Burdenko Voronezh State Medical University;
4128069@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-9185-4578>
 Svetlana N. Zolotareva – Cand. Sci. (Biol.), Associate Professor at the Histology Department; N.N. Burdenko Voronezh State Medical University;
zol2009sn@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2136-8272>
 Elena E. Ivanova – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor at the Histology Department; N.N. Burdenko Voronezh State Medical University;
89155888871@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-8920-8059>
 Tat'yana V. Samoilenko – teaching assistant at the Histology Department; N.N. Burdenko Voronezh State Medical University; antailkka@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9990-535X>
 Varvara A. Galieva; Patrice Lumumba Peoples' Friendship University of Russia;
varvara.taratina@yandex.ru
<https://orcid.org/0009-0009-2250-9565>
 Andrei I. Medvedev; N.N. Burdenko Voronezh State Medical University;
 SPIN 1962-4722

Статья поступила в редакцию 14.02.2025; одобрена после рецензирования 23.06.2025; принята к публикации 30.06.2025.
 Submitted 14.02.2025; Revised 23.06.2025; Accepted 30.06.2025.