Российский иммунологический журнал
2025, Т. 28, № 3, стр. 529-532

Краткие сообщения
Short communications

Russian Journal of Immunology / Rossiyskiy Immunologicheskiy Zhurnal
2025, Vol. 28, № 3, pp. 529-532

ЭФФЕКТ ТРЕХМЕСЯЧНОГО ПОСТУПЛЕНИЯ КРЕМНИЯ С ПИТЬЕВОЙ ВОДОЙ НА МОРФОЛОГИЮ АВИДИН-ПОЗИТИВНЫХ ТУЧНЫХ КЛЕТОК СЕЛЕЗЕНКИ МЫШЕЙ

Гордова В.С.[1], Григорьева Е.А.[2], Сергеева В.Е.[2], Смородченко А.Т.[3]

[1] *ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия*
[2] *ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова», г. Чебоксары, Чувашская Республика, Россия*
[3] *Медицинская школа Берлина – Университет здоровья и медицины, Берлин, Германия*

Резюме. Мы изучаем реакции адаптации внутренних органов лабораторных грызунов на поступление с питьевой водой кремния в течение многих лет. Тучные клетки (ТК) лимфоидных органов являются одним из объектов нашего интереса. Они содержат нейромедиаторные биогенные амины и гепарин, который можно непосредственно найти в них с помощью авидина. Выявлена реакция авидин-позитивных ТК селезенки лабораторных мышей на поступление кремния с питьевой водой в концентрации 20 мг/л в течение трех месяцев. В эксперименте использовали белых лабораторных нелинейных мышей-самцов. Контрольная группа животных получала *ad libitum* питьевую бутилированную воду с концентрацией кремния 10 мг/л, опытная – ту же воду, в которую был добавлен метасиликат натрия девятиводный, так, чтобы общая концентрация кремния составила 20 мг/л. Массовую концентрацию кремния в воде определяли с помощью спектрометра эмиссионного с индуктивно связанной плазмой 5110 ICP-OES. Через три месяца животные были выведены из эксперимента, селезенку извлекали, фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине и заливали в парафин. Депарафинированные срезы окрашивали авидином, меченным флуоресцентной меткой зеленого цвета (Avidin, Alexa Fluor® 488 conjugate, Invitrogen, Германия). Препараты изучали при помощи люминесцентного микроскопа с длиной волны возбуждающего света 495 нм. В красной пульпе селезенки мышей, получавших с питьевой водой кремний, наблюдалось увеличение количества авидин-позитивных ТК. Медиана площади ТК селезенки мышей опытной группы имела тенденцию к уменьшению за счет возрастания доли клеток малого размера. У мышей, получавших с питьевой водой кремний, ТК большого размера имели более высокие показатели люминесценции, то есть в них находится больше гепарина, чем в ТК селезенки мышей контрольной группы. Поступление с питьевой водой кремния в концентрации 20 мг/л в течение трех месяцев приводит к перераспределению популяции ТК в красной пульпе селезенки мышей по размеру, к увеличению интенсивности флуоресценции авидин-позитивных ТК большого размера, что свидетельствует об увеличении в них количества гепарина.

Ключевые слова: селезенка, тучные клетки, авидин-позитивные клетки, кремний, силикаты, гепарин

Адрес для переписки:
Гордова Валентина Сергеевна
ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта»
236041, Россия, г. Калининград,
ул. Александра Невского, 14.
Тел.: 8 (905) 343-43-67.
E-mail: crataegi@rambler.ru

Address for correspondence:
Valentina S. Gordova
Immanuel Kant Baltic Federal University
14 Alexander Nevsky St
Kaliningrad
236041 Russian Federation
Phone: +7 (905) 343-43-67.
E-mail: crataegi@rambler.ru

Образец цитирования:
В.С. Гордова, Е.А. Григорьева, В.Е. Сергеева, А.Т. Смородченко «Эффект трехмесячного поступления кремния с питьевой водой на морфологию авидин-позитивных тучных клеток селезенки мышей» // Российский иммунологический журнал, 2025. Т. 28, № 3. С. 529-532.
doi: 10.46235/1028-7221-17116-EOT

© Гордова В.С. и соавт., 2025
Эта статья распространяется по лицензии Creative Commons Attribution 4.0

For citation:
V.S. Gordova, E.A. Grigoryeva, V.E. Sergeeva, A.T. Smorodchenko "Effects of three-month intake of silicon from drinking water on the morphology of avidin-positive mast cells in murine spleen", Russian Journal of Immunology/ Rossiyskiy Immunologicheskiy Zhurnal, 2025, Vol. 28, no. 3, pp. 529-532.
doi: 10.46235/1028-7221-17116-EOT

© Gordova V.S. et al., 2025
The article can be used under the Creative Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-17116-EOT

EFFECTS OF THREE-MONTH INTAKE OF SILICON FROM DRINKING WATER ON THE MORPHOLOGY OF AVIDIN-POSITIVE MAST CELLS IN MURINE SPLEEN

Gordova V.S.[a], Grigoryeva E.A.[b], Sergeeva V.E.[b], Smorodchenko A.T.[c]

[a] *Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation*
[b] *I. Ulyanov Chuvash State University, Cheboksary, Chuvash Republic, Russian Federation*
[c] *Medical School Berlin – University of Health and Medicine, Berlin, Germany*

Abstract. We studied the inner organ adaptation in experimental rodents to silicon intake from drinking water over many years. Mast cells (MC) are the objects of our special interest. They contain neurotransmitters, biogenic amines and heparin, which can be directly found in them with avidin staining. We studied the reactions of avidin-positive MC in the spleen of laboratory mice, which consumed silicon in their drinking water (20 mg/L) during 3 months. The white laboratory male mice were divided in two groups. The control group of animals received *ad libitum* bottled drinking water with silicon (10 mg/L), whereas an experimental group received the same water with silicon supplemented with sodium metasilicate nonahydrate, thus achieving total silicon concentration of 20 mg/L. The mass concentration of silicon in water was determined using an inductively coupled plasma emission spectrometer 5110 ICP-OES. Three months later, the animals were sacrificed, the spleen was removed, fixed in 10% neutral formalin and embedded in paraffin. Dewaxed 6-μm sections were incubated for 30 minutes at room temperature and stained with avidin labeled with a green fluorescent label (Avidin, Alexa Fluor® 488 conjugate, Invitrogen, Germany). The preparations were studied with fluorescence microscope at excitation wavelength of 495 nm. An increased number of avidin-positive MC was observed in the red pulp of spleens from mice treated with drinking water with silicon. The median size of MC in the spleen of mice in the experimental group tended to decrease due to increased proportion of small cells. In mice receiving drinking water with silicon, large mast cells have higher luminescence indices, i.e., they contained more heparin than mast cells from the spleen of animals in control group. Long-term silicon intake with drinking water at a concentration of 20 mg/L for three months leads to the size redistribution of MC population in the red pulp of murine spleen, along with increased fluorescence intensity of large-sized avidin-positive MCs, thus suggesting an increased amount of heparin in these cells.

Keywords: spleen, mast cells, avidin-positive cells, silicon, silicates, heparin

Введение

Воздействие кремния, поступающего в организм с питьевой водой, исследуется нами уже на протяжении длительного времени. Отдельное внимание уделяется ТК, которые, как известно, вовлечены в процессы адаптации к окружающей среды и являются посредниками между нервными и иммунными процессами, проходящими в организме как в норме, так и при патологии. Использование окрашивания толуидиновым синим и вычисления индекса сульфатирования [4] позволило нам ранее выяснить, что ТК тимуса лабораторных крыс, получавших с питьевой водой кремний в течение двух месяцев, уменьшаются в размерах и содержат более сульфатированный гепарин, чем ТК крыс, получавших питьевую воду без добавления кремния. ТК селезенки крыс также имели тенденцию к метахромазии. Для исследования ТК в печени крыс в наших последних работах был использован меченный люминесцентной меткой авидин [3]. Известно, что гликопротеид авидин селективно связывается с гепарином [2, 6] и интенсивность его флуоресценции прямо пропорциональна количеству гепарина в гранулах [7]. Учитывая отсутствие данных литературы о влиянии кремния на популяцию ТК в селезенке мышей, в настоящей работе мы применили меченный люминесцентной меткой авидин.

Целью работы явилось изучение реакции авидин-позитивных ТК селезенки лабораторных мышей на поступление с питьевой водой кремния в концентрации 20 мг/л в течение трех месяцев.

Материалы и методы

Эксперименты были проведены на белых нелинейных лабораторных мышах-самцах (n = 6) в стандартных условиях вивария при естественном освещении.

Животные получали в течение трех месяцев питьевую бутилированную воду, в которую был добавлен девятиводный метасиликат натрия. Для

контрольной группы (n = 3) массовая концентрация растворенных форм кремния составляла 10 мг/л, для опытной группы (n = 3) – 20 мг/л. Концентрацию кремния определяли спектрометром эмиссионным с индуктивно связанной плазмой 5110 ICP-OES [3]. После выведения из эксперимента у мышей извлекали селезенку, фиксировали ее в 10%-ном нейтральном формалине и заливали в парафин.

Депарафинированные срезы толщиной 6 мкм инкубировали 30 минут с авидином, меченным флуоресцентной меткой зеленого цвета (Avidin, Alexa Fluor® 488 conjugate, Invitrogen, Германия), согласно протоколу, описанному нами при изучении ТК в печени крыс [3]. Готовые препараты изучали под люминесцентным микроскопом при длине волны возбуждающего света 495 нм [2]. Микрофотографии были сделаны на микроскопе Leica 1000 с помощью камеры Amscope Mu 1000 и объектива × 40, измерение площади ТК и интенсивность их флуоресценции проводили с применением в автоматическом режиме функции «цветной куб» в программе AmScope (версия 10.11.2024), интенсивность флуоресценции выражалась в условных единицах флуоресценции (у. е.). Для определения взаимосвязи между площадью клетки и ее интенсивностью флуоресценции использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена (r_s). При этом сила корреляционной связи считалась слабой при $0 < r_s < 0,29$, средней – при $0,3 < r_s < 0,69$, сильной – при $0,7 < r_s < 1,0$.

Полученные в ходе измерения выборки проверяли на нормальность распределения с использованием критериев Шапиро–Уилка и Колмогорова–Смирнова. Поскольку распределение выборок было ненормальным, средние данные представлены как медиана (Me) и интерквартильный размах ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$). В этом случае для определения статистической значимости использовали U-критерий Манна–Уитни. Различия средних величин считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В красной пульпе селезенки мышей контрольной группы авидин-позитивные ТК имели яркую зеленую флуоресценцию, в единичных клетках приглушенного зеленого свечения визуализировались отдельные яркие гранулы. Количество ТК в красной пульпе селезенки опытной группы мышей, получавших с питьевой водой кремний, было визуально больше, чем у мышей контрольной группы. При этом визуализировались как очень яркие клетки, так и клетки с приглушенным зеленым свечением, среди которых также наблюдались клетки с единичными яркими гранулами. Количество ТК на поле зрения при увеличении ×400 составило в среднем 12-15 клеток, в то время как в селезенке мышей, получавших с питьевой водой кремний, их количество составило 20-22 клетки.

Медиана площади флуоресцирующих ТК, определенная с помощью функции «цветной куб», составила 60,52 (52,02-77,58) мкм^2 для мышей, получавших питьевую воду с кремнием в концентрации 10 мг/л, и 57,32 (42,01-75,29) мкм^2 для мышей, получавших питьевую воду с кремнием в концентрации 20 мг/л. Были проанализированы три размерные группы, полученные при помощи гистограммы: группа малых клеток (< 39,80 мкм^2), группа средних клеток (39,80-82,40 мкм^2), группа больших клеток (> 82,40 мкм^2). Доля малых, средних и больших клеток в контрольной и опытной группе составила 12%, 67% и 21%, и 21%, 55% и 24% соответственно. Это свидетельствует о перераспределении клеток по размеру за счет увеличения доли малых клеток и уменьшения доли средних по размеру клеток. Доля больших по размеру ТК была сопоставима в обеих группах. Средняя интенсивность флуоресценции ТК селезенки мышей контрольной группы составила 95,01 (88,63-105,17) у. е., в то время как для мышей опытной группы этот показатель составил 105,2 (90,64-113,82) у. е. ($p < 0,05$). Коэффициент корреляции между размером клетки и интенсивностью люминесценции выявил прямую связь средней силы и для контрольной ($r_s = 0,41$), и для опытной групп ($r_s = 0,50$), то есть с увеличением размера клетки увеличивается количество в ней гранул гепарина, с которым связывается авидин. Средняя интенсивность флуоресценции ТК у мышей контрольной группы составила для малых, средних и больших клеток 88,63 (81,77-94,68) у. е., 105,17 (100,09-106,23) у. е. и 90,12 (86,04-102,90) у. е. соответственно, а в опытной – 89,705 (86,64-102,80) у. е., 105,84 (91,24-110,19) у. е. и 114,34 (104,53-119,79) у. е. соответственно. Полученные данные дополняют ранее собранную нами информацию об обеспеченности селезенки мышей гистамином при поступлении с питьевой водой кремния: наблюдалось уменьшение абсолютной люминесценции гистамина в красной пульпе селезенки мышей, получавших в течение трех месяцев с питьевой водой кремний в концентрации 20 мг/л [1]. Поскольку авидин связывается с гепарином, а гепарин способен связывать и дезактивировать нейромедиаторные биогенные амины [5], мы предполагаем, что ответственными за снижение интенсивности люминесценции гистамина в красной пульпе селезенки, а следовательно, и за снижение одного из компонентов иммунного воспаления являются ТК. То есть можно считать, что реакция селезенки мышей на поступление с питьевой водой

кремния сходна с таковой у крыс в ранее проведенном нами эксперименте [1].

Заключение

Таким образом, поступление с питьевой водой кремния в концентрации 20 мг/л в течение трех месяцев приводит к перераспределению популяции ТК в красной пульпе селезенки мышей по размеру, к увеличению интенсивности флуоресценции авидин-позитивных ТК большого размера, что свидетельствует об увеличении в них количества гепарина.

Список литературы / References

1. Гордова В.С., Сергеева В.Е., Сапожников С.П. Морфологическая адаптация внутренних органов к поступлению в организм водорастворимого соединения кремния. Чебоксары: Издательство Чувашского университета, 2021. 208 с. [Gordova V.S., Sergeeva V.E., Sapozhnikov S.P. Morphological adaptation of internal organs to the intake of a water-soluble silicon compound into the body]. Cheboksary: Publishing house of the Chuvash University, 2021. 208 p.

2. Григорьев И.П., Коржевский Д.Э. Современные технологии визуализации тучных клеток для биологии и медицины (обзор) // Современные технологии в медицине, 2021. Т. 13, № 4. С. 93-109. [Grigoryev I.P., Korzhevskii D.E. Modern imaging technologies of mast cells for biology and medicine (review). *Sovremennye tehnologii v meditsine = Modern Technologies in Medicine, 2021, Vol. 13, no. 4, pp. 93-109.* (In Russ.)]

3. Григорьева Е.А., Гордова В.С., Сергеева В.Е., Смородченко А.Т., Смирнова Н.В. Авидин-позитивные тучные клетки печени при воздействии водорастворимого кремния в течение девяти месяцев // Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 2. С. 157-160. [Grigoryeva E.A., Gordova V.S., Sergeeva V.E., Smorodchenko A.T., Smirnova N.V. Avidin-positive mast cells of the liver when exposed to water-soluble silicon for nine months. *Rossiyskiy Immunologicheskiy Zhurnal = Russian Journal of Immunology, 2024, Vol. 27, no. 2, pp. 157-160.* (In Russ.)] doi: 10.46235/1028-7221-16863-AMC.

4. Ильина Л.Ю., Сапожников С.П., Козлов В.А., Дьячкова И.М., Гордова В.С. Количественная оценка сульфатирования тучных клеток // Acta medica Eurasica, 2020. № 2. С. 43-53. [Ilyina L.Yu., Sapozhnikov S.P., Kozlov V.A., Dyachkova I.M., Gordova V.S. Quantitative evaluation of mast cells sulfation. *Acta medica Eurasica = Acta Medica Eurasica, 2020, no. 2, pp. 43-53.* (In Russ.)]

5. Кондашевская М.В. Гепарин тучных клеток – новые сведения о старом компоненте (обзор литературы) // Вестник Российской академии медицинских наук, 2021. Т. 76, № 2. С. 149-158. [Kondashevskaya M.V. Mast Cells Heparin – New Information on the Old Component (Review). *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences, 2021, Vol. 76, no. 2, pp. 149-158.* (In Russ.)]

6. Kett W.C., Osmond R.I., Moe L., Skett S.E., Kinnear B.F., Coombe D.R. Avidin is a heparinbinding protein. Affinity, specificity and structural analysis. *Biochim. Biophys. Acta, 2003, Vol. 1620, no. 1-3, pp. 225-234.*

7. Zhang Y., Ramos B.F., Jakschik B.A. Augmentation of reverse arthus reaction by mast cells in mice. *J. Clin. Invest., 1991, Vol. 88, no. 3, pp. 841-846.*

Авторы:

Гордова В.С. *— к.м.н., доцент кафедры фундаментальной медицины Высшей школы медицины ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия*

Григорьева Е.А. *— ассистент кафедры медицинской биологии с курсом микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова», г. Чебоксары, Чувашская Республика, Россия*

Сергеева В.Е. *— д.б.н., профессор кафедры медицинской биологии с курсом микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова», г. Чебоксары, Чувашская Республика, Россия*

Смородченко А.Т. *— д.м.н., профессор кафедры анатомии, Медицинская школа Берлина — Университет здоровья и медицины, Берлин, Германия*

Authors:

Gordova V.S., *PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Fundamental Medicine, Medical Institute, I.Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation*

Grigoryeva E.A., *Assistant Professor, Department of Medical Biology with a Course of Microbiology and Virology, I. Ulyanov Chuvash State University, Cheboksary, Chuvash Republic, Russian Federation*

Sergeeva V.E., *PhD, MD (Biology), Professor, Department of Medical Biology with a Course of Microbiology and Virology, I. Ulyanov Chuvash State University, Cheboksary, Chuvash Republic, Russian Federation*

Smorodchenko A.T., *PhD, MD (Medicine), Professor, Anatomy Department, Medical School Berlin — University of Health and Medicine, Berlin, Germany*

Поступила 17.03.2025
Отправлена на доработку 09.05.2025
Принята к печати 25.05.2025

Received 17.03.2025
Revision received 09.05.2025
Accepted 25.05.2025