

# ВЕСЦІ

НАЦЫЯНАЛЬнай  
АКАДЭМІІ НАВУК БЕЛАРУСІ

---

Серыя  
біялагічных  
навук  
№ 1

АСОБНЫ АДЫТАК

1999

УДК 612.014.481+591.465.31+616.16-001.28

О. Н. АБЛЕКОВСКАЯ, А. П. АМВРОСЬЕВ

### УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЙ АНАЛИЗ КРОВЕНОСИХ КАПИЛЛЯРОВ ЯИЧНИКА 20-СУТОЧНЫХ ПЛОДОВ БЕЛОЙ КРЫСЫ ПРИ ИХ ОБЛУЧЕНИИ В РАЗЛИЧНЫЕ ПЕРИОДЫ ЭМБРИОГЕНЕЗА

Влияние малых доз ионизирующих излучений (ИИ) на живые организмы изучено недостаточно полно [2]. Данные литературы по этой проблеме анализируются с различных, часто противоречивых позиций [11]. При этом редко учитываются различия в подходе к решению тех или иных вопросов, связанных с воздействием относительно небольших доз ИИ на организм. Мало внимания уделяется и изучению влияния ИИ низкой интенсивности на развивающиеся в эмбриогенезе органы и ткани. Вместе с тем проведение подобных исследований в разных направлениях с использованием современных методов анализа может способствовать решению не только общих, но и конкретных вопросов прогнозирования за состоянием здоровья людей и животных в поколениях. В этом плане, как нам представляется, немало важное значение приобретает изучение вопросов, касающихся структурного и функционального становления эндокринных органов и, в частности, женских гонад.

Как известно, наиболее важное звено в этом процессе — кровеносные капилляры (КК), обеспечивающие обмен веществ в тканях [5,9]. Они же в системе кровообращения являются и наиболее радиочувствительными структурами [3].

Необходимо подчеркнуть, что проблема малых доз после ядерной катастрофы на ЧАЭС приобрела особую актуальность в связи с тем, что создалась новая радиоэкологическая ситуация на обширной территории с повышенным радиоактивным фоном. Последний стал постоянным фактором среды обитания и, как показали исследования, оказывает неблагоприятное воздействие на организм, прежде всего в антенатальном периоде его развития [1, 6].

Цель исследования — изучить особенности реакции КК яичника 20-суточных плодов крысы на однократное облучение в дозе 0,5 Гр на 10-е и 14-е сутки их внутриутробного развития.

**Материал и методы.** В соответствии с целью исследования поставлены эксперименты на белых крысах стада того разведения. Вначале для получения потомства к половозрелым нерожавшим самкам подсаживали на ночь самцов в отношении 3:1. Утром следующего дня отбирали самок с наличием сирмы во влагалищных мазках. Этот день считали первым днем беременности. Беременных животных подвергали однократному внешнему гамма-облучению на 10-е и 14-е сутки гестации в дозе 0,5 Гр (источник Cs-137, мощность дозы 0,056 Гр/с). Доза облучения 0,5 Гр была выбрана как относительно небольшая. Контролем служили intactные животные соответствующего возраста, содержавшиеся в стационарных условиях виварията. На 20-е сутки беременности животные декапитировались и из них извлекались плоды. Для исследования брались яичники, которые обрабатывали по методике Уикли [8]. Ультратонкие срезы, контрастированные уранилацетатом и цитратом свинца, изучали в трансмиссионном микроскопе «JEM - 100 CX» (Япония).

Стереологический анализ проводился с негативных изображений профилей сечения капилляров при конечном увеличении в 10140 раз с последующей их обработкой на компьютере с помощью устройства ввода графической информации «Морфометрический планшет», а также с использованием подсветки.

Цифровой материал, полученный в результате исследования, обрабатывается с помощью статистического пакета «Статистика для Windows» с использованием параметрических методов оценки данных.

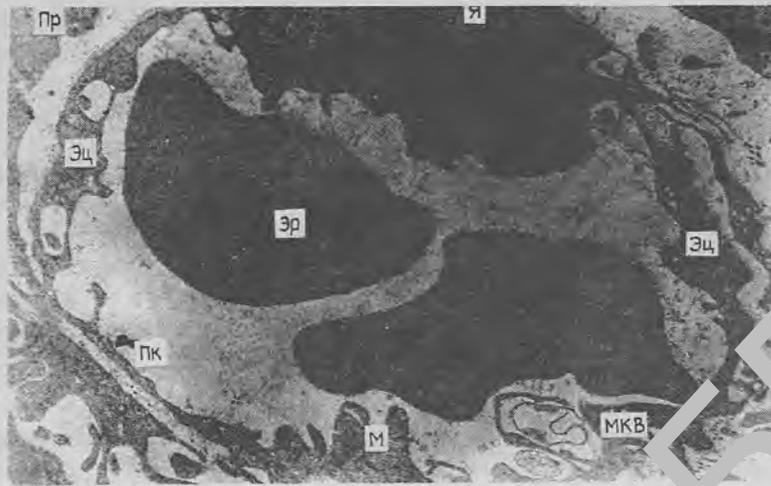


Рис. 1. КК яичника 20-суточного плода белой крысы (норма): Я — ядро, МКВ — микровезикулы, М — митохондрии, Эр — эритроцит, Эц — эндотелиоцит, Пк — цитоплазма пилляра, Пр — перицит;  $\times 5800$



Рис. 2. КК яичника 20-суточного плода белой крысы (опыт): а — при облучении на 10-е сутки эмбриогенеза; б — при облучении на 14-е сутки эмбриогенеза. Обозначения те же, что на рис. 1;  $\times 5800$

**Результаты исследования и их обсуждение.** Наши исследования показали, что облучение плодов в дозе 0,5 Гр как на 10-е, так и на 14-е сутки внутриутробного развития приводит к

определенным сдвигам в структуре КК яичника. Установлено, что у облученных плодов по сравнению с интактными в КК яичника наблюдаются изменения их морфофункциональных параметров в различной степени выраженности (рис. 1, 2). Наиболее существенные изменения проявляются в КК при стереологическом анализе их морфофункциональных показателей. Как видно из данных таблицы, при облучении отмечается увеличение площади сечения капилляров (на 9%). Увеличивается и площадь их просветов. Причем облучение на 14-е сутки приводит к увеличению этого параметра на 15%, в то время как облучение на 10-е — только на 4%. В согласии с другими исследователями мы полагаем также, что расширение просветов сосудов является одним из признаков местного неблагополучия в капиллярном звене [3]. Возможно также, что увеличение площади капилляров и их просветов носит адаптационно-компенсаторный характер и направлено на поддержание процесса дальнейшего развития ткани в условиях действия ИИ.

Результаты морфометрического анализа КК яичника 20-суточных плодов, облученных на 10-е и 14-е сутки их эмбриогенеза

Параметр	Контроль	При облучении, сут	
		на 10-е	на 14-е
Площадь сечения капилляра, мкм <sup>2</sup>	39,86 ± 1,99	43,33 ± 2,05	43,41 ± 1,75
Площадь сечения просветов капилляра, мкм <sup>2</sup>	13,61 ± 1,27	14,19 ± 1,54	15,66 ± 1,36
Площадь сечения цитоплазмы эндотелиоцита, мкм <sup>2</sup>	16,78 ± 0,79	18,93 ± 1,00*	18,34 ± 0,86
Площадь сечения ядра эндотелиоцитов, мкм <sup>2</sup>	9,90 ± 0,59	9,68 ± 0,67	9,46 ± 0,62
Индекс ЦЯО эндотелиоцита	2,09 ± 0,18	3,98 ± 0,7**	2,76 ± 0,27*
Максимальный диаметр сосуда, мкм	9,43 ± 0,25	9,63 ± 0,26	9,29 ± 0,26
Минимальный диаметр сосуда, мкм	6,18 ± 0,21	6,60 ± 0,21	6,82 ± 0,16**
Число митохондрий на срезе эндотелиоцита	7,71 ± 0,47	5,33 ± 0,42***	4,61 ± 0,33***
Количество микровезикул на срезе эндотелиоцита:			
МВЛ	9,05 ± 0,48	8,06 ± 0,54	5,89 ± 0,36***
МВБ	5,34 ± 0,32	4,32 ± 0,36*	4,58 ± 0,34
цитоплазматических	14,70 ± 1,18	13,32 ± 0,95	14,90 ± 1,47
общее число	29,04 ± 1,60	24,70 ± 1,45*	25,34 ± 1,84
Индекс МВЛ/МВБ	2,18 ± 0,19	2,47 ± 0,25	1,62 ± 0,11

\* Результаты достоверны по сравнению с контролем при  $P < 0,5$ .

\*\* При  $P < 0,01$ .

\* При  $P < 0,001$ .

Наряду с тем по протяжению сосудов отмечались участки с суженным просветом и спавшимися стенками — своеобразным симптомом замедления в них кровотока. В таких случаях эндотелиоциты утолщены и формируют на своей поверхности многочисленные выросты.

Необходимо отметить, что увеличение площади капилляров связано с возрастом и максимального и минимального диаметров. Так, при облучении на 10-е сутки эмбриогенеза минимальный диаметр увеличивается на 7%, при облучении на 14-е сутки — на 10%.

Наиболее значимые изменения касаются площади цитоплазмы эндотелиоцитов. В условиях действия лучевого фактора она заметно возрастает при облучении на 10-е сутки развития на 16% и на 14-е сутки — на 13%. Такой рост цитоплазмы, вероятно, повышает устойчивость клетки в целом.

Структура ядра обнаруживает противоположные изменения. В частности, происходит уменьшение его площади при действии ИИ на 10-е и на 14-е сутки эмбриогенеза. Уменьшение площади ядра и увеличение площади цитоплазмы в эндотелиальной клетке приводит к повышению цитоплазматическо-ядерных отношений (ЦЯО), определяющих функциональную

активность клетки. В условиях действия радиации на 14-е сутки беременности этот показатель возрастает в 2 раза и на 14-е сутки — в 1,3 раза. Следовательно, в условиях облучения происходит заметное снижение функциональной активности эндотелиоцитов КК. Наличие дисконформации хроматина в ядре, проявляющейся в образовании глыбок, скапливающихся у ядерной мембраны (рис. 2, а), указывает на явное торможение синтетических процессов в условиях облучения [4].

Следует отметить, однако, что наряду с процессами угнетения в отдельных эндотелиоцитах мы наблюдали и развитие компенсаторных процессов, направленных на поддержание функции ядра (инвагинации ядерных мембран, приводящие к значительному увеличению площади их поверхности, что в свою очередь сопровождается возрастанием числа порочных комплексов).

Анализ полученных негативов позволил выявить явление полиплоидии в эндотелиоцитах, проявляющееся в наличии двух, а иногда трех ядер в одной клетке. Этот феномен, вероятно, нужно рассматривать как повреждающее действие радиации.

Действие лучевого фактора вызывает существенные изменения в популяции микровезикул эндотелиоцитов, представляющих систему трансэндотелиального транспорта. Следует отметить, что общее количество микровезикул в данных условиях в цитоплазме эндотелиоцитов заметно снижается при облучении на 10-е (на 15%) и на 14-е (на 15%) сутки эмбриогенеза. Снижение их количества происходит за счет уменьшения фракции мембраносвязанных пузырьков, что указывает на снижение активности люминальной и базальной мембран.

Характерно, что при облучении на 10-е сутки развития зародка происходит заметное снижение количества базальных (МВБ) везикул (на 30%). Число люминальных (МВЛ) везикул также ниже контрольных значений. Значение индекса МВЛ/МВБ в данной группе свидетельствует о более интенсивных процессах обмена на внутренней поверхности КК по сравнению с наружной. В интактной группе (таблица) этот показатель ниже. Следовательно, при действии ИИ в дозе 0,5 Гр везикулообразование на люминальной мембране происходит более активно, чем в контроле. Это обстоятельство, вероятно, можно расценивать как своеобразную адаптационно-компенсаторную реакцию эндотелиальных клеток КК в ответ на действие лучевого фактора.

При анализе транспортной функции эндотелиальных клеток после облучения на 14-е сутки выявляется ряд изменений. Происходит заметное уменьшение числа люминальных везикул (на 35%). Число базальных также снижается. При этом уменьшается и значение индекса МВЛ/МВБ. Подобное его уменьшение (на 26%), по-видимому, свидетельствует об угнетении везикулообразования на люминальной поверхности капилляров после воздействия лучевого фактора. В пользу этого говорит образование большого количества цитоплазматических отростков, выступающих в просвет.

Согласно литературным данным [3, 9], ворсинчатые выросты на люминальной поверхности появляются при длительном перемещении везикул в люминальном направлении и содержат приносимый последними избыток мембраны. Эти структуры, в свою очередь, служат резервом для нового транспортного цикла в обратном направлении.

Следовательно, чем больше цитоплазматических отростков и чем они длиннее, тем менее интенсивно здесь везикулообразование. Отмеченные изменения, вероятно, можно расценивать как угнетение транспортной функции клеток КК.

Следует заметить, что в своих препаратах, полученных от контрольных и опытных образцов, мы не наблюдали других специализированных структур переноса веществ кроме везикул. Клетки яичника плодов характеризуются непрерывной эндотелиальной выстилкой и базальными слоями, в состав которого входят базальная мембрана и перициты. Это позволяет отнести исследуемые сосуды к капиллярам соматического непрерывного типа, что является одной из органоспецифичных черт гемомикроциркуляторного русла яичника как органа, обладающего не только эндокринной, но и генеративной функцией [10].

Для характеристики структурно-функционального становления органа представляется важным изучение энергообразующих структур, которые при действии радиации подвергаются значительным изменениям. Наши исследования показывают, что после облучения на 10-е сутки эмбриогенеза происходит массивное сокращение количества митохондрий (на 31%). Такая же картина резкого подавления энергетического обмена наблюдается и при облучении на 14-е сутки беременности. При этом количество митохондрий уменьшилось на 40%. Следует отметить, что облучение вызывает образование различных форм митохондрий (от округлых и овальных до подковообразных и удлинённых). Среди них наряду с нормальной струк-

турой выявляются и измененные, которые затрагивают ориентации крист, приводящих к деформации и разрушению. В некоторых органоидах наблюдается просветление матрикса.

Как известно, перечисленные изменения и сокращения фонда этих органелл способствуют снижению энергетических возможностей клетки [7]. В некоторых эндотелиоцитах возрастает количество крупных митохондрий, возникают отдельные гигантские митохондрии — мегамитохондрии, имеющие причудливую форму и сохраняющие структуру мембраны крист. Можно думать, что возникновение подобных структур связано с развитием адаптационно-компенсаторных процессов в системе энергообеспечения клетки КК.

Таким образом, результаты нашего исследования свидетельствуют о том, что многократное внешнее облучение в эмбриогенезе в сравнительно небольшой дозе (0,5 Гр) оказывает заметное влияние на течение важнейших процессов жизнедеятельности развивающихся в плодном периоде клеток КК яичника — синтетических, энергетических и транспортных. Это обстоятельство может в дальнейшем служить основой для развития структурно-функциональной недостаточности гонад.

### Summary

Blood capillary response of 20-day rat fetuses to a single external irradiation dose of 0,5 Gy was studied on 10-th and 14-th days of their embryonic evolution.

It is shown that low dose ionizing radiation changes morphological expression in capillary cells of important synthetic, transport and energy processes in fetal period of ontogenesis.

### Литература

1. Амвросьеў А. П., Родаў Ю. І., Ларохіна Р. І. і др. // Весці Акадэміі навук Беларусі. Сер. біял. навук. 1991. № 5. С. 76—82.
2. Бурлакова Е. Б., Голосапов А. Н., Гурбунова Н. В. и др. // Радиационная биология. Радиоэкология. 1996. Т. 37. Вып. 4. С. 610—632.
3. Воробьев Е. И., Степнов Р. П. Ионизирующие излучения и кровеносные сосуды. М., 1985.
4. Збарский И. Б. Организация клеточного ядра. М., 1988.
5. Куприянов В. В., Караганов Я. Л., Козлов В. И. Микроциркуляторное русло. М., 1975.
6. Палыга Г. Ф., Законщиков К. Ф., Этанова Т. В. // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. 1984. Т. 87, № 12. С. 71—76.
7. Регуляция энергетического обмена и физиологическое состояние организма / Под ред. М. Н. Кондратовой. М., 1981.
8. Уикли Б. Электронная микроскопия для начинающих: Пер. с англ. И. В. Викторова / Под ред. Г. К. Попова. М., 1975.
9. Чермух А. М., Александров П. Н., Алексеев О. В. Микроциркуляция. М., 1975.
10. Шевченко Е. А. Гемомикроциркуляторное русло яичника человека в пренатальном периоде эмбриогенеза: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Киев, 1985.
11. Ярмоненко С. П. // Радиационная биология. Радиоэкология. 1987. Т. 37. Вып. 4. С. 488—493.

Институт радиобиологии  
Минск, Беларусь

Поступила в редакцию  
14.07.98