

ВЕСЦІ

НАЦЫЯНАЛЬнай
АКАДЭМІІ НАВУК БЕЛАРУСІ

Серыя
біялагічных
навук
№ 2

АСОБНЫ АДЫТАК

1999

УДК 612.014.481+591.465.31+616.16-001.28

О. Н. АБЛЕКОВСКАЯ, А. П. АМВРОСЬЕВ

РЕАКЦИЯ КРОВЕНОСИНЫХ КАПИЛЛЯРОВ ЯИЧНИКА БЕЛОЙ КРЫСЫ НА ГАММА-ОБЛУЧЕНИЕ В ПЛОДНОМ ПЕРИОДЕ ОНТОГЕНЕЗА

К настоящему времени в литературе накопилось достаточное количество информации о влиянии ионизирующих излучений (ИИ) на женские гонады [1, 2]. Вместе с тем изучению влияния малых доз ИИ на гонады, особенно в период их развития в эмбриогенезе, уделяется недостаточное внимание. Несомненно, подобное исследование может в значительной степени способствовать пониманию механизмов развития дисфункции желтых тел при облучении организма в антенатальном периоде развития. Как известно, одним из важных звеньев этих механизмов является реакция системы микроциркуляции органа на облучение, в которой центральное место занимают кровеносные капилляры (КК), обеспечивающие обменные процессы в тканях [5]. При этом они являются и наиболее радиочувствительными структурами [4].

Цель исследования — изучить особенности реакции КК яичника 20-суточных плодов белой крысы на однократное облучение в дозе 1,0 Гр на 10-е и 14-е сутки их внутриутробного развития.

Материал и методика. Эксперименты проводились на белых беспородных крысах стадного разведения. Вначале для получения потомства к половозрелым нерожавшим самкам подсаживали на ночь самцов в отношении 3:1. Утром следующего дня отбирали самок с наличием спермы во влагалищных мазках. Этот день считали первым днем беременности. Затем животные подвергались однократному внешнему гамма-облучению на 10-е и 14-е сутки гестации в дозе 1,0 Гр (источник ^{60}Co , мощность дозы 0,056 Гр/с). Доза 1,0 Гр была выбрана как половинная стерилизующей дозы для яичников крыс при антенатальном их облучении [7].

Материал исследования — яичники 20-суточных плодов крыс, которые после извлечения из организма обрабатывали по методике Уикли [9]. Ультратонкие срезы приготавливали на ультратоме LKB (Швеция), контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца и фотографировали в трансмиссионном микроскопе JEM-100 CX (Япония).

Стереологический анализ проводился с помощью проекционной установки с негативных изображений профилей сечения капилляров (зарисовывали контуры исследуемых структур) при конечном увеличении в 10140 раз, а также с использованием подсветки. Площади сечения структур измеряли на компьютере с помощью устройства ввода графической информации «Морф метр» («Ски» планшет). Цифровой материал, полученный в результате исследования, обрабатывали с помощью статистического пакета «Статистика для Windows» с использованием параметрических методов оценки данных. Всего изучено 63 плода от 21 крысы.

Результаты исследования и их обсуждение. Установлено, что при облучении плодов в дозе 1,0 Гр на 10-е и 14-е сутки гестации отмечаются заметные изменения морфофункциональных показателей КК яичника (таблица). Особенно они выражены после облучения плодов на 14-е сутки беременности. Так, по сравнению с контрольными образцами площадь сечения капилляров у них уменьшается на 20%. Эти изменения происходят вследствие сужения их максимального и минимального диаметров (см. таблицу). Отмечено значительное изменение площади просветов капилляров. В условиях действия лучевого фактора она убывает при облучении на 10-е сутки внутриутробного развития на 14% и на 14-е сутки — на 32% ($P < 0,01$). При этом мы наблюдали капилляры с почти полностью перекрытым просветом из-за резкого набухания перикариона эндотелиоцитов, а также капилляры, имеющие щелевидное суженный просвет с образованием цитоплазматических отростков, достигающих противоположной стенки сосуда (рис. 1). Такие изменения диаметра и просвета не могут не оказать отрицательного влияния на кровотоки в капиллярах. Хорошо известно, что от количества протекающей через капилляры крови зависят питание и специфическая функция органов целостного организма [11].

Результаты морфометрического анализа КК яичника
20-суточных плодов белой крысы в условиях облучения в дозе 1,0 Гр

Параметр	Контроль	После облучения на		
		10-е сутки	14-е сутки	
Площадь сечения капилляров, мкм ²	39,86±1,99	38,08±1,73	31,72±1,56**	
Площадь сечения просветов капилляров, мкм ²	13,61±1,27	11,71±1,45	9,23±0,81**	
Площадь сечения цитоплазмы эндотелиоцита, мкм ²	16,28±0,79	17,80±0,81	13,89±0,78*	
Площадь сечения ядра эндотелиоцита, мкм ²	9,90±0,59	8,69±0,45	6,64±0,53	
Индекс ЦЯО эндотелиоцитов	2,09±0,18	2,56±0,22	2,19±0,24	
Число митохондрий на срезе эндотелиоцита	7,71±0,47	4,60±0,32***	3,5±0,39***	
Количество везикул на срезе эндотелиоцита	люминальных	9,05±0,48	5,53±0,33***	3,21±0,34***
	базальных	5,34±0,32	4,10±0,27	3,80±0,21***
	цитоплазматических	14,70±1,18	16,01±1,1	11,87±0,92
	общее число	29,04±1,60	25,61±1,4	21,93±1,25***
Индекс МВЛ/МВБ	2,18±0,19	1,60±0,11*	1,80±0,09	
Толщина стенки в ядерной зоне, мкм	4,02±0,15	4,24±0,14	3,89±0,17	
Толщина стенки в безъядерной зоне, мкм	0,21±0,01	0,23±0,01	0,21±0,01	
Максимальный диаметр капилляра, мкм	9,43±0,25	8,99±0,15**	7,71±0,24***	
Минимальный диаметр капилляра, мкм	6,18±0,21	6,10±0,16	5,67±1,16	

- * Результаты достоверны при $P < 0,05$
- ** При $P < 0,01$.
- *** При $P < 0,001$.



Рис. 1. Фрагмент КК яичника 20-суточного плода белой крысы после облучения. Образование ворсинчатых выростов на люминальной поверхности сосуда: Эн — эндотелиоцит; ПК — просвет капилляра. $\times 58000$

Наряду с деформированными просветами встречались капилляры, просвет которых открыт, содержит умеренно плотную мелкозернистую массу. При этом эндотелиоциты таких микрососудов содержат многочисленные микровезикулы. Последние, по-видимому, обеспечивают необходимый уровень обмена веществ в тех участках железы, в которых определенная часть КК подверглась альтерации.

Характерно, что в условиях эксперимента наблюдаются значительные изменения и площади цитоплазмы эндотелиоцитов. При действии радиации на 10-е сутки развития этот по-

казатель возрастает (на 9%), а при действии этого же фактора на 14-е сутки он достоверно снижается (на 15%; $P < 0,05$). При этом отмечается и снижение значений площади ядра (на 10-е сутки на 12%, на 14-е сутки на 23%). В результате происходит изменение цитоплазмнно-ядерных отношений (ЦЯО), определяющих функциональную активность клетки. При облучении на 10-е сутки ЦЯО эндотелиоцитов возрастает на 22%, а после облучения на 14-е сутки — лишь на 5%. Следовательно, действие лучевого фактора на 10-е сутки гестации вызывает большее торможение синтетических процессов в клетках капилляров по сравнению с облучением на 14-е сутки.

На снижение функциональной активности эндотелиоцитов в опыте указывает также наличие дискомплексации хроматина в ядре, проявляющейся в образовании выбоков, склеивающихся у ядерной мембраны [10]. Следует заметить, однако, что наряду с процессами угнетения функциональной активности эндотелиоцитов выявляются клетки, в которых происходит развитие компенсаторных процессов, направленных на поддержание функции ядра. Структурным выражением ее является инвагинация ядерной мембраны, приводящая к значительному увеличению площади ее мембран, что в свою очередь сопровождается увеличением числа поровых комплексов. Кроме того, анализ полученных результатов позволил выявить явление полиплоидии в эндотелиоцитах, проявляющееся в наличии двух, а иногда и трех ядер в одной клетке. Это приводит к увеличению поверхности контакта цитоплазмы и цитоплазмы, что может свидетельствовать о возможности стимулирования синтетических процессов в ряде эндотелиальных клеток, направленных на восстановление внутриклеточных повреждений и сохранение темпов развития сосудов.

Действие лучевого фактора, как мы уже отметили, вызывает существенные изменения в популяции микровезикул эндотелиоцитов, представляющих систему трансэндотелиального переноса. Установлено, что в этих условиях общее количество микровезикул в цитоплазме заметно снижается. Так, при облучении на 10-е сутки оно сокращается на 12% и вдвое больше при облучении на 14-е сутки ($P < 0,001$) эмбриогенеза. Уменьшается и их численная плотность. Уменьшение их количества происходит главным образом за счет фракции мембраносвязанных пузырьков, что указывает на снижение активности люминальной и базальной мембран. Характерно, что ионизирующее излучение и в первом, и во втором случаях вызывает заметное снижение количества люминальных везикул (МВЛ): на 39% ($P < 0,001$) при облучении на 10-е сутки и на 31% ($P < 0,001$) при облучении на 14-е сутки развития зародышей. Число базальных пузырьков (МВБ) также достоверно уменьшается (таблица). При этом падает и значение индекса МВЛ/МВБ. Подобное изменение его (на 27% при облучении на 10-е сутки и на 17% при облучении на 14-е сутки эмбриогенеза), по-видимому, свидетельствует об угнетении везикулообразования на внутренней поверхности КК в условиях эксперимента.

Следует заметить, что в срезах препаратах, полученных от контрольных и опытных образцов, мы не наблюдаем других специализированных структур переноса веществ кроме везикул. Стенка КК яичника плодов представлена эндотелиоцитами соматического типа, окруженных базальной мембраной, в которую заключены перициты. Это одна из органоспецифичных структур, характерных для гемомикроциркуляторного русла яичника в плодном периоде, позволяющая ему поддерживать постоянство параметров тканевого гомеостаза, необходимого для нормального развития и жизнедеятельности половых клеток [3].

Для характеристики морфофункционального становления органа важным представляется изучение состояния митохондрий эндотелиальных клеток КК, обеспечивающих их энергетику.

Исследование показало, что реакция этих структур при облучении варьирует в различных пределах. Как правило, деструктивные изменения этих органелл связаны с отеком клетки. Отеком называется набухание митохондрий сопровождается увеличением их размеров, округлением, уменьшением оптической плотности матрикса, нарушением правильной ориентации крист с их деформацией и разрушением (рис. 2, а). Иногда эти изменения приводят к превращению митохондрий в вакуоли с электронно-прозрачным содержимым и нередко с хлопьевидными остатками разрушенных крист [6]. Об их происхождении напоминает лишь двуслойная мембрана (рис. 2, б). Следует отметить, что дефектные митохондрии обнаруживаются далеко не во всех клетках. Относительно редко в патологический процесс вовлекается весь хондриом. Как правило, нарушения заметны в отдельных митохондриях клеток. Вместе с тем наличие указанных нарушений части митохондрий приводит, как отмечают исследователи [8], к снижению энергетических возможностей клетки. Об этом свидетельствует и снижение численности этих органоидов в условиях эксперимента. По сравнению с контролем число их уменьшается почти в два раза (таблица).



Рис. 2. Фрагмент КК яичника 20-суточного плода белой крысы после облучения. Деструктивные изменения митохондрий. $\times 72000$

Таким образом, на основании полученных нами данных можно заключить, что однократное внешнее облучение в дозе 1,0 Гр в различные периоды (10-е и 14-е сутки) эмбриогенеза приводит к значительному угнетению важнейших процессов жизнедеятельности клеток КК яичника 20-суточных плодов (синтетических, энергетических и транспортных). Подобные нарушения в системе микроциркуляции развивающейся плаценты могут вызвать в дальнейшем определенную структурно-функциональную недостаточность плода.

Summary

Ovary hemocapillaries in 20-day fetuses of white rats were examined after single external 1 Gy dose irradiation by 10 and 14 days of embryogenesis. Changes of important synthetic, transport and energy processes in capillary cells were established in fetal period of ontogenesis.

Литература

1. Адейшвили - Сыромятникова М. К. Структурно-морфофункциональная организация яичников в условиях ионизирующего и лазерного облучения. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Харьков, 1994.
2. Антонова Ю. В. Оценка состояния женской репродуктивной системы на уровне яичник—матка в условиях малых доз. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Гродно, 1996.
3. Бобрик И. И., Шенченко Е. А., Парахин А. И. и др. // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. 1984. Т. 37, № 10. С. 78 — 81.
4. Воробьев Е. И., Степанов Р. П. Ионизирующие излучения и кровеносные сосуды. М., 1985.
5. Куприянов Е. В., Карасанов Я. Л., Козлов В. И. Микроциркуляторное русло. М., 1975.
6. Митохондрии. Структура и функции. Материалы симпозиума «Структура и функции митохондрий». М., 1965.
7. Побединский М. // Мед. радиология. 1959. Т. 4, № 8. С. 72 — 78.
8. Регуляция энергетического обмена и физиологическое состояние организма / Под. ред. М. Н. Кондрашовой. М., 1978.
9. Уикс Б. Электронная микроскопия для начинающих: Пер. с англ. И. В. Викторова / Под ред. В. Ю. Полякова. М., 1974.
10. Чинцов К. С., Поляков В. Ю. Ультраструктура клеточного ядра. М., 1974.
11. Чинух А. П., Александров П. Н., Алексеев О. В. Микроциркуляция. М., 1984.

Институт радиобиологии
НАН Беларуси

Поступила в редакцию
16.10.98