

ВЕСШЦІ

НАЦЫЯНАЛЬнай
АКАДЭМІІ НАВУК БЕЛАРУСІ

Серыя
біялагічных
навук
№ 4

АСОБНЫ АДЫТАК

1999

УДК 612.014.481+591.465.31+616.16-001.28

О. Н. АБЛЕКОВСКАЯ, А. П. АМВРОСЬЕВ

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ГЕМОКАПИЛЛЯРОВ ЯИЧНИКА ПЛОДОВ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ОБЛУЧЕНИИ В АНТЕНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ РАЗВИТИЯ

Роль и значение микроциркуляторного русла органов и тканей в поддержании общего и местного гомеостаза хорошо известна. Основное место при этом отводится кровеносным капиллярам (КК), обеспечивающим важнейшую функцию кровеносной системы — доставку к тканям питательных веществ и разгрузку их от метаболитов [1, 2]. Они же в системе кровообращения являются и наиболее радиочувствительными структурами [5]. В связи с этим большой интерес представляет вопрос о состоянии капиллярного русла органов репродуктивной системы и прежде всего женских гонад.

Целью настоящего исследования является изучение состояния КК яичника в плодном периоде онтогенеза белой крысы при облучении животных на 10-е и 14-е сутки эмбриогенеза в дозах 0,5 и 1,0 Гр и после пролонгированного облучения в дозе 0,43 Гр.

Материал и методика. Объектом исследования служили яичники 146 плодов белых беспородных крыс стадного разведения. Спаривание проводилось по общепринятой методике: самцов подсаживали на ночь к самкам в отношении 3:1, а утром следующего дня их рассаживали по отдельным клеткам. Этот день при обнаружении во влагалищных мазках сперматозоидов считали первым днем беременности. Однократному (острому) гамма-облучению животные подвергались на 10-е и 14-е сутки беременности в дозах 0,5 и 1,0 Гр (источник цезий-137, мощность дозы $9,0 \cdot 10^{-4}$ Гр/с). Воздействие на 10-е и 14-е сутки обусловлено выбором радиочувствительного периода развития плодного яичника [4, 10]. Для пролонгированного гамма-облучения использовали экспериментальную установку ГАММАРИД-192/200, в которой источником гамма-лучей является цезий-137. Создавалась доза 0,43 Гр при мощности дозы $3,12 \cdot 10^{-7}$ Гр/с. Для формирования такой дозы при данной мощности крыс облучали в течение 20,4 сут беременности. Плоды интактных беременных самок составляли контрольную группу.

Забой производили на 20-е сутки беременности. Для электронной микроскопии исследуемый материал — яичник — фиксировали в 2,5%-ном растворе глутаральдегида на фосфатном буфере (рН 7,2–7,4) с последующей обработкой в 1%-ном растворе четырехоксида осмия на том же буфере; обезживали в спиртах возрастающей концентрации и заливали в эпон. Срезы и поталивали на ультратоме «ЛКВ» (Швеция). Изучение и фотографирование выполняли на электронном микроскопе «JEM-100 CX» (Япония) при рабочем увеличении от 5 800 до 36 000 раз.

Морфологический анализ проводился с помощью проекционной установки с негативных изображений профилей сечения капилляров при конечном увеличении в 10 140 раз с последующей их обработкой на компьютере с помощью устройства ввода графической информации «Морфометрический планшет».

Статистическую обработку результатов проводили пользуясь основными положениями теории вероятности и математической статистики, общепринятыми при обработке результатов исследований биологических объектов [8] с использованием статистического пакета «Статистика для Windows».

Результаты исследования и их обсуждение. Значительная часть наблюдаемых после облучения микроциркуляторных нарушений обусловлена не только сдвигами в состоянии механизмов нейрогуморальной регуляции кровообращения, но, как показывают наши исследования, и первичными поражениями самих элементов сосудистой стенки.

Результаты морфометрического анализа КК яичника 20-суточных плодов белой крысы в условиях облучения

| Параметр | Контроль | Острое γ -облучение | | | | Пролонгированное облучение |
|--|--------------|----------------------------|----------------|----------------|-----------------|----------------------------|
| | | в дозе 0,5 Гр | | в дозе 1,0 Гр | | |
| | | 10-е сутки | 14-е сутки | 10-е сутки | 14-е сутки | |
| Площадь сечения капилляра, $\mu\text{км}^2$ | 39,86 ± 1,99 | 43,33 ± 2,05 | 43,41 ± 1,75 | 38,08 ± 1,73 | 31,72 ± 1,50** | 32,91 ± 1,66** |
| Максимальный диаметр капилляра, $\mu\text{км}$ | 9,43 ± 0,25 | 9,63 ± 0,26 | 9,29 ± 0,26 | 8,39 ± 0,19** | 7,71 ± 0,24 | 8,07 ± 0,20** |
| Минимальный диаметр капилляра, $\mu\text{км}$ | 6,18 ± 0,21 | 6,60 ± 0,21 | 6,82 ± 0,16 | 6,50 ± 0,16 | 5,6 ± 0,16 | 5,92 ± 0,20 |
| Площадь сечения просвета сосуда, $\mu\text{км}^2$ | 13,61 ± 1,27 | 14,90 ± 1,54 | 15,66 ± 1,36 | 11,71 ± 1,15 | 9,23 ± 0,81** | 6,12 ± 0,87** |
| Площадь сечения цитоплазмы эндотелиоцита, $\mu\text{км}^2$ | 16,28 ± 0,79 | 18,93 ± 1,00* | 18,34 ± 0,86* | 17,80 ± 0,81 | 13,89 ± 0,78* | 9,70 ± 0,63** |
| Площадь сечения ядра эндотелиоцита, $\mu\text{км}^2$ | 9,90 ± 0,59 | 9,68 ± 0,67 | 9,46 ± 0,62 | 8,9 ± 0,4 | 6,64 ± 0,63 | 13,23 ± 0,99** |
| Индекс ЦЯО эндотелиоцита | 2,09 ± 0,18 | 3,98 ± 0,70** | 2,7 ± 0,27* | 2,56 ± 0,22 | 2,19 ± 0,24 | 2,39 ± 0,36 |
| Число митохондрий на срезе эндотелиоцита | 7,71 ± 0,47 | 5,33 ± 0,42*** | 4,61 ± 0,3 | 4,60 ± 0,32*** | 3,30 ± 0,30*** | 3,23 ± 0,24*** |
| Количество микровезикул на срезе эндотелиоцита: | | | | | | |
| люминальных | 9,05 ± 0,48 | 8,06 ± 0,4 | 5,89 ± 0,36*** | 5,53 ± 0,33*** | 6,21 ± 0,34*** | 5,92 ± 0,30*** |
| базальных | 5,34 ± 0,32 | 4,2 ± 0,3** | 4,58 ± 0,34 | 4,10 ± 0,27*** | 3,80 ± 0,21*** | 3,63 ± 0,20** |
| цитоплазматических | 14,70 ± 1,18 | 12,32 ± 0,5 | 14,90 ± 1,47 | 16,01 ± 1,19 | 11,87 ± 0,92 | 12,35 ± 0,94 |
| общее число | 29,04 ± 1,60 | 24,70 ± 1,1* | 25,34 ± 1,84 | 25,61 ± 1,48 | 21,93 ± 1,25*** | 22,25 ± 1,27** |
| Индекс МВЛ/МВБ | 2,18 ± 0,19 | 1,47 ± 0,25 | 1,62 ± 0,11 | 1,60 ± 0,11 | 1,80 ± 0,09 | 1,83 ± 0,12 |

* Результаты достоверны при $P < 0,05$.

** При $P < 0,01$.

*** При $P < 0,001$.

Установлено, что преобладающая часть перестроек КК связана с изменением их размера (таблица). Так, по сравнению с контролем острое гамма-облучение в дозе 0,5 Гр на 10-е и 14-е сутки эмбриогенеза приводит к некоторому увеличению площадей их поперечного сечения (на 9%). Подобное увеличение площади капилляров связано с возрастанием их максимального и минимального диаметров (см. таблицу). Однако в последующем при увеличении дозовой нагрузки до 1,0 Гр, особенно на 14-е сутки развития зародышей, эти показатели обрываются и приобретают противоположные изменения: площадь сечения капилляров уменьшается на 20% ($P < 0,01$), при этом минимальный диаметр сокращается на 8%, максимальный — на 18% ($P < 0,001$). Аналогичные изменения претерпевает структурная организация обменных микрососудов и при пролонгированном облучении — площадь их сечения уменьшается на 17% ($P < 0,001$). Снижение площади сечения капилляров сопровождается уменьшением максимального (на 14%; $P < 0,001$) и минимального диаметров.

Изменения просвета сосудов происходят в таком же направлении. Так, при однократном облучении в дозе 0,5 Гр отмечается определенная тенденция к увеличению площади сечения просветов (см. таблицу), в то время как однократное облучение в дозе 1,0 Гр, а так же пролонгированное облучение вызывают его резкое сужение — на 32% при облучении на 14 сутки гестации и на 34% в условиях длительного действия радиации. Можно полагать, что в этом случае возрастают процессы гидратации цитоплазматического матрикса эндотелиальных клеток. Эти процессы охватывают значительное количество клеток сосудов. Кроме того, просвет сосудов оказывает влияние и состояние стенки, толщина которой как в ядерной, так и в безъядерной зонах имеет тенденцию к увеличению.

Обращает на себя внимание следующая реакция клеток гемокapилляров на действие лучевого фактора. Во всех опытных группах они образуют достаточно большое количество цитоплазматических отростков (ворсинок), выступающих в просвет сосудов. Следует заметить, что при увеличении дозовой нагрузки и в случае длительного действия ионизирующей излучения

чений (ИИ) обнаруживается образование более сложных форм ворсинок, способных замыкаться на поверхности клеток или друг с другом, образуя крупные вакуоли. Такие изменения просвета не могут не оказать отрицательного влияния на кровоток в капиллярах [6]. С другой стороны, можно предполагать, что этот процесс может вызвать противоположный эффект, способствуя активации обменных процессов в тканях.

Морфометрический анализ показал, что в условиях опыта происходит изменение площади сечения цитоплазмы эндотелиальных клеток, а также их ядер. После острого облучения в сравнительно небольшой дозе (0,5 Гр) она возрастает (см. таблицу). В результате происходит увеличение индекса цитоплазменно-ядерных отношений (ЦЯО), свидетельствующее о направлении синтетических процессов в эндотелиальных клетках КК.

Повышение дозы до 1,0 Гр, а также пролонгированное облучение приводит к достоверному уменьшению значений площади сечения цитоплазмы эндотелиоцитов. Особенно значительно уменьшается площадь цитоплазмы в случае длительного действия радиации (на 40%; $P < 0,001$). Структура ядра при этом обнаруживает противоположные изменения. В частности, происходит увеличение его площади на 34% ($P < 0,001$). Подобное изменение цитоплазмы и ядра направленно, очевидно, на сохранение функциональной активности клеток. Об этом свидетельствует и значение индекса ЦЯО (см. таблицу), а также образование многочисленных и глубоких инвагинаций ядерной мембраны, что приводит к значительному увеличению числа поровых комплексов в ней [1].

Как видно из данных, приведенных в таблице, другие морфометрические параметры также претерпевают значительные изменения. В частности, отмечается существенное сокращение общего числа микровезикул в эндотелиальных клетках КК во всех опытных группах, особенно при действии ИИ на 14-е сутки гестации в дозе 1,0 Гр и в условиях длительного действия фактора (на 24%; $P < 0,001$). Мы рассматривали этот феномен как угнетение транспортной функции эндотелиальных клеток сосудов яичника. Следует заметить, что сокращение общего количества микровезикул происходит, как правило, за счет сокращения фракции мембраносвязанных (люминальных и базальных) пузырьков (см. таблицу), что, по-видимому, указывает на снижение обменных функций мембран гемокапилляров [2].

Наибольшие изменения в условиях облучения выявляются в энергообразующих структурах — митохондриях эндотелиальных клеток изучаемых микрососудов. Довольно часто митохондрии подвергаются отчетному набуханию, приводящему к дезориентации, а иногда и деструктивным повреждениям кристаллов. В результате часть митохондрий распадается и численность их значительно сокращается. Необходимо подчеркнуть, что последнее находится в зависимости как от дозы и вида излучения, так и от возраста развивающегося организма к моменту действия лучевого фактора. Массовое сокращение фонда этих органелл по сравнению с контролем наблюдается при действии радиации на 14-е сутки беременности (особенно в дозе 1,0 Гр — на 57%; $P < 0,001$) и в условиях пренатального пролонгированного облучения (на 58%; $P < 0,001$).

Исследованные структурные преобразования таких органелл эндотелиальных клеток КК, как комплекс Гольджи, эндоплазматическая сеть и рибосомы, показало изменение не только их размеров, но и их количества. Вследствие этого происходит сокращение фонда этих органелл, что также приводит к подавлению в клетках пластических процессов.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что ионизирующая радиация в относительно небольших дозах в состоянии вызвать значительные изменения в системе микроциркуляции, в частности в одном из основных ее звеньев — КК развивающегося в эмбриональном яичника. При этом степень выраженности процессов деструкции в гемокапиллярах, затрагивающих все функциональные элементы эндотелиоцитов, физиологическая роль и значение которых для динамически развивающихся органов весьма велики, зависит от дозы и мощности γ -излучения, а также от возраста плода к моменту действия лучевого фактора. Под воздействием ИИ в эндотелиоцитах процессам альтерации подвергаются митохондрии, пиноцитозные пузырьки, эндоплазматическая сеть, комплекс Гольджи, рибосомы. Характерны изменения ядра и цитоплазмы клеток. В результате развития процессов деструкции в этих образованиях нарушаются система энергообеспечения, транспортная система, пластические и синтетические функции клетки. Просвет сосудов суживается и во многих местах подвергается полной обтурации. Все это, очевидно, является причиной того, что резервный фонд фолликулярного аппарата гонад резко сокращается [3], создаются условия для развития функциональной недостаточности органа, ускорения его инволюции.

Summary

The state of blood capillaries of 20-days ovary of white rat fetuses after outward acute and prolonged γ -irradiation influence in the relatively low doses (0,5 and 1,0 Gy) under the embryonic evolution were studied. It was determined that low dose ionizing radiation changes the morphological expression of capillary cell important synthetic, transport and energetic processes in fetal period of ontogenesis.

Литература

1. Амвросьев А. П., Чантурия А. В. // Докл. Академии наук БССР. 1991. Т. 35, № 6. С. 657-660.
2. Амвросьев А. П., Жадан С. А. // Докл. Академии наук Беларуси. 1993. Т. 37, № 6. С. 82-83.
3. Банецкая Н. В., Амвросьев А. П. // Докл. Академии наук Беларуси. 1992. Т. 38, № 1. С. 71-73.
4. Beaumont H. M. // Inter. J. Radiat. Biol. 1961. Vol. 1, N 3. P. 59-72.
5. Воробьев Е. И., Степанов Р. П. Ионизирующие излучения и кровеносные сосуды. М., 1985.
6. Купрянов В. В. Пути микроциркуляции. Кишинев, 1969.
7. Купрянов В. В. // Вопросы морфометрического анализа и элементного моделирования процессов в системе микроциркуляции. 1978. Т. XCV. Вып. 4. С. 3-16.
8. Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика. Мн., 1973.
9. Чернух А. М., Александров П. Н., Алексеев О. М. Микроциркуляция. М., 1975.
10. Шахдинарова Л. В., Палыга Г. Ф. // Радиобиология. 1991. Т. 29, № 2. С. 175-178.

*Институт радиобиологии
НАН Беларуси*

*Поступила в редакцию
30.03.99*