

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК



РАДИАЦИОННАЯ БИОЛОГИЯ  
РАДИОЭКОЛОГИЯ

(ОТДЕЛЬНЫЙ ОТТИСК)

МОСКВА

ОБЩИЕ ВОПРОСЫ  
РАДИОБИОЛОГИИ

УДК 599.539.1.047+612.014.481+591.465.31+616.16-001.28

СОСТОЯНИЕ КРОВЕНОСНЫХ КАПИЛЛЯРОВ  
ЯИЧНИКА ПЛОДОВ БЕЛОЙ КРЫСЫ ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ  
В РАЗЛИЧНЫЕ ПЕРИОДЫ ИХ ЭМБРИОГЕНЕЗА

© 2001 г. А. П. Амвросьев, О. Н. Аблековская\*

Институт радиобиологии НАН Беларуси, Минск

Выявлены особенности реакции кровеносных капилляров и их эндотелиоцитов в яичнике 20-суточных плодов на облучение в эмбриогенезе; показано, что характер и направленность изменений основных морфофункциональных параметров находятся в зависимости от дозы, мощности  $\gamma$ -излучения и возраста зародыша на момент облучения.

*Острое и пролонгированное  $\gamma$ -облучение, кровеносные капилляры, эндотелиоциты, яичник, эмбриогенез.*

Влияние малых доз ионизирующих излучений (ИИ) на живые организмы изучено недостаточно полно [1]. Данные литературы по этой проблеме анализируются с различных, часто противоречивых позиций [2]. При этом мало внимания уделяется изучению влияния ИИ низкой интенсивности на развивающиеся в эмбриогенезе органы и ткани. Вместе с тем проведение подобных исследований с использованием различных современных методов может способствовать решению не только общих, но и конкретных вопросов прогнозирования состояния здоровья людей и животных в популяциях. В этом плане, как нам представляется, немаловажное значение приобретает изучение вопросов, касающихся структурного и функционального становления эндокринных органов, и в частности яичников. Как известно, одна из важных составляющих в этом процессе – кровеносные капилляры (КК), обеспечивающие обмен веществ в тканях [3, 4]. Они же в системе кровообращения являются и наиболее радиочувствительным звеном [5]. Все сказанное определило цель настоящего исследования – изучение характера и направленности структурных преобразований КК микроциркуляторного русла яичника плодов белой крысы при облучении в различные периоды эмбриогенеза в зависимости от дозы, мощности  $\gamma$ -излучения и возраста зародыша к моменту воздействия радиационного фактора.

\* Адресат для корреспонденции: Беларусь, 220141, Минск, ул. Акад. Купревича, 2, Институт радиобиологии НАН Беларуси; тел.: 264-31-41; факс: (0172) 64-23-15; e-mail: irb@radiobio.bas.-net.by.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Эксперименты ставили на белых беспородных крысах с одного разведения. Вначале для получения потомства к половозрелым нерожавшим самкам подсаживали на ночь самцов в соотношении 3:1. Утром следующего дня отбирали самок с наличием спермы во влагалищных мазках. Этот день считали первым днем беременности. Однократное облучение проводили на 10-е и 14-е сут гестации в дозах 0.5 и 1.0 Гр на установке ИГУР ( $^{137}\text{Cs}$ , мощность дозы  $9.08 \times 10^{-4}$  Гр/с). Для пролонгированного  $\gamma$ -излучения использовали экспериментальную установку ГАММАРИД-192/200 ( $^{137}\text{Cs}$ , мощность дозы  $3.12 \times 10^{-7}$  Гр/с). Поглощенная доза при этом составила 0.43 Гр. На 20-е сут беременности животных декапитировали и из них извлекали плоды. Всего обработали препараты яичника от 146 плодов.

Для исследования фиксировали целый яичник в 2.5%-ном растворе глютаральдегида на фосфатном буфере (pH = 7.4) с последующей обработкой в 1%-ном растворе четырехоксида осмия на том же буфере, обезжировали и заливали в эпон.

Для получения репрезентативных образцов применяли метод случайного и бесповоротного отбора [6]. Ультратонкие срезы (500–600 Å), изготовленные на ультрамикротоме "Ultramicrotop system 2128" (LKB, Швеция), контрастировали с применением метода двойного окрашивания уранилацетатом и цитратом свинца по [7] и просматривали в электронном микроскопе "JEM-100 CX" (Япония) при ускоряющем напряжении 80 кВ и рабочем увеличении от 5800 до 36 000 раз.

Стереологический анализ проводили с негативных изображений профилей сечения капилля-



**Рис. 1.** Количество микровезикул на срезе эндотелиоцитов кровеносных капилляров яичника 20-суточных плодов белой крысы в норме и в условиях облучения. К – контроль; I – однократное облучение в дозе 0.5 Гр на 10-е сут; II – однократное облучение в дозе 0.5 Гр на 14-е сут; III – однократное облучение в дозе 1.0 Гр на 10-е сут; IV – однократное облучение в дозе 1.0 Гр на 14-е сут; V – пролонгированное облучение в суммарной дозе 0.43 Гр. 1 – базальные везикулы, 2 – люминальные везикулы, 3 – цитоплазматические везикулы, 4 – общее количество везикул.

Различия достоверны по отношению к контролю: \* –  $p < 0.01$ ; \*\* –  $p < 0.001$ .

ров с помощью проекционной установки при 100-кратном увеличении в 10140 раз (записывали площадь сечения изучаемых структур). Последующую обработку проводили на компьютере с помощью устройства ввода графической информации "Морфометрический планшет".

Для изучения структуры КК и их эндотелиоцитов определяли следующие параметры: большой и малый диаметры микрососудов, площадь сечения капилляров и их просвета, площади сечения цитоплазмы эндотелиоцитов и их ядер, а также толщину стенки микрососудов в ядерной и безъядерной зонах. Энергетические возможности клеток оценивали по количеству митохондрий на срезе, а также по их объемной плотности. По общему количеству микровезикул на срезах и их численности на  $1 \text{ мкм}^2$  площади сечения цитоплазмы характеризовали транспортную функцию клетки.

Цифровой материал, полученный в ходе исследования, обрабатывали с помощью статистического пакета "Статистика для Windows", используя параметрические методы оценки данных.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как показали наши исследования, значительная часть наблюдаемых после облучения микроциркуляторных нарушений обусловлена первич-

ным поражением самих элементов сосудистой стенки. При этом следует отметить существование зависимости в оценке эффекта облучения как от дозы и мощности  $\gamma$ -излучения, так и от возраста развивающегося зародыша к моменту действия радиационного фактора. Так, установлено усиление эффекта пролонгированного облучения при низкой мощности дозы по сравнению с однократным облучением практически той же дозе.

В ходе наших исследований выяснилось, что значительная часть изменений КК в условиях облучения связана с сокращением численного состава таких структур эндотелиоцитов, как микровезикулы, которые обеспечивают трансэндотелиальный перенос веществ. Как видно из рис. 1, снижение их числа наблюдается в зависимости от дозы, мощности излучения и возраста зародыша к моменту воздействия. Однократное облучение на 14-е сут внутриутробного развития в дозе 1.0 Гр вызывает сокращение количества микровезикул на 24% ( $p < 0.01$ ), а облучение на 10-е сут в дозе 0.5 Гр – на 15% ( $p < 0.05$ ). В то же время пролонгированное облучение в малой дозе (0.43 Гр) приводит к сокращению фонда микровезикул на 23% ( $p < 0.01$ ).

Убыль микровезикул происходит главным образом за счет снижения фракции связанных с плазмалеммой пузырьков – люминальных и базальных (см. рис. 1). В большей степени изменение фракции этих везикул проявляется как при пролонгированном, так и при однократном облучении на 14-е сут развития зародышей. Отмеченные изменения, вероятно, можно расценивать как угнетение транспортной функции эндотелиальных клеток КК, вызванное ИИ.

Такая же зависимость везикулообразования от дозы облучения отмечена и в работе [8] при исследовании состояния КК поджелудочной железы плодов белой крысы в условиях действия ИИ.

Достаточно часто в условиях действия ИИ отмечается наличие в просвете гемокапилляров цитоплазматических отростков (ворсинок), которые обильно ветвятся и имеют боковые впячивания. С увеличением дозовой нагрузки образуются более сложные формы ворсинок. В некоторых случаях они способны замыкаться на поверхности клеток или друг с другом, формируя крупные вакуоли в просвете сосудов.

Подобную реакцию люминальной поверхности КК, проявляющуюся образованием цитоплазматических отростков, можно оценивать неоднозначно. С одной стороны, их наличие можно рассматривать в качестве приспособительного механизма, направленного на увеличение площади цитоплазмы для поддержания необходимого уровня метаболических процессов в клетке. С другой стороны, обилие выростов на люминаль-

ной поверхности изучаемых сосудов может явиться одним из условий тромбообразования и предвестника облитерации капилляров.

Более выраженный характер носит реакция энергообразующих органелл (митохондрий) эндотелиоцитов КК – облучение вызывает значительное сокращение их количества. Наиболее массивное снижение численности этих органелл наблюдается при пролонгированном облучении (на 58%), а также при однократном облучении на 14-е сут беременности в дозе 1.0 Гр (на 57%;  $p < 0.001$ ). При облучении в дозе 0.5 Гр на 10-е сут беременности сокращение их количества достигает 31%, при облучении на 14-е сут в этой же дозе – 40% ( $p < 0.001$ ). При этом во всех экспериментальных группах отмечается уменьшение их объемной плотности в клетке. Так, пролонгированное облучение вызывает снижение этого показателя на 69% ( $p < 0.001$ ), однократное облучение в дозе 1.0 Гр на 14-е сут – на 58% ( $p < 0.001$ ). При облучении в дозе 0.5 Гр отмечается несколько меньшее снижение этого параметра (на 41% на 14-е сут и на 31% на 10-е сут эмбриогенеза;  $p < 0.05$ ). Подобное сокращение количества этих органелл – это результат развития в них дегенеративно-деструктивных процессов, степень выраженности которых также находится в зависимости от дозы облучения.

Сдвиги в ультрамикроскопическом строении сохранившихся митохондрий проявляются в некотором увеличении их размеров, уменьшении оптической плотности матрикса и ориентации крист. При более глубоких повреждениях кристы теряют свою ориентацию и подвергаются деструктивным изменениям, результатом которых является образование вакуолей с электроннопрозрачным содержимым и нередко хлопьевидными остатками разорванных крист. Подобные изменения структуры митохондрий при воздействии ИИ наблюдаются в клетках капилляров и других органов, а также при возникновении патологических процессов гистогенеза [9, 10].

Следует отметить, что относительно редко в патологический процесс вовлекается весь хондриом клетки. Как правило, нарушения заметны в отдельных митохондриях. Вместе с тем наличие указанных нарушений в этих органеллах, приводящее к их убыли, не может не способствовать снижению энергетических возможностей клеток.

Значительная часть нарушений структуры КК связана с изменением их размеров, определяющая роль в которых принадлежит степени реакции эндотелиоцитов. Эти изменения находятся в зависимости от дозы облучения. Особенно ярко они выражены после облучения плодов на 14-е сут беременности в дозе 1.0 Гр и в условиях пролонгированного пренатального облучения. Так, по сравнению с контрольными образцами пло-

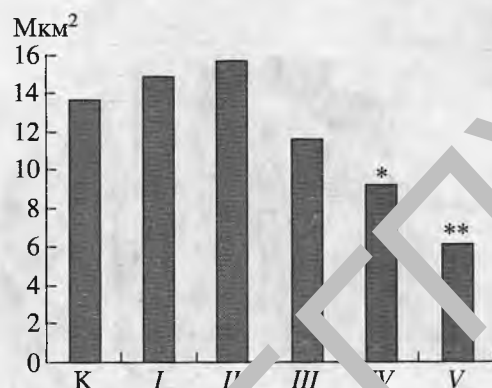
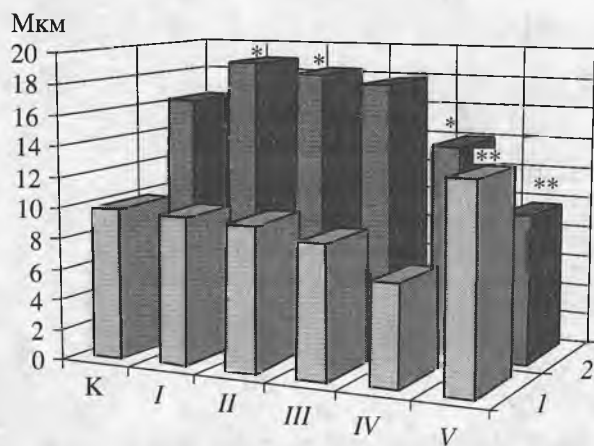


Рис. 2. Площади сечения просвета кровеносных капилляров яичника 20-суточных плодов белой крысы в норме и в условиях облучения: K – контроль; I – однократное облучение в дозе 0.5 Гр на 10-е сут; II – однократное облучение в дозе 0.5 Гр на 14-е сут; III – однократное облучение в дозе 1.0 Гр на 10-е сут; IV – однократное облучение в дозе 1.0 Гр на 14-е сут; V – пролонгированное облучение в суммарной дозе 0.43 Гр. Различия достоверны по отношению к контролю: \* –  $p < 0.01$ , \*\* –  $p < 0.001$ .

ща сечения капилляров в первом случае уменьшается на 20%, во втором – на 17% ( $p < 0.001$ ). Подобное изменение происходит вследствие сужения их диаметра, а также вследствие увеличения толщины стенки микрососудов в безъядерной зоне. При этом отмечается значительное уменьшение площади просвета капилляров (рис. 2). Наибольшее снижение этого показателя происходит в условиях пролонгированного облучения (на 45%;  $p < 0.001$ ).

Однократное облучение в дозе 1.0 Гр на 14-е сут эмбриогенеза и пролонгированное облучение на протяжении 20.4 сут пренатального периода развития приводят к значительному уменьшению площади сечения цитоплазмы эндотелиоцитов (рис. 3). В случае однократного облучения происходит снижение этого показателя на 15% ( $p < 0.05$ ), а в случае пролонгированного – на 40% ( $p < 0.001$ ). В других экспериментальных группах (см. рис. 3) отмечено увеличение площади цитоплазмы, особенно при однократном облучении в дозе 0.5 Гр на 10-е сут развития зародышей (на 16%). Вероятно, подобную реакцию можно рассматривать как защитную, направленную на поддержание функциональной активности ядерных структур. Это предположение подтверждается и данными, полученными при изучении площади ядер эндотелиоцитов в этих группах (см. рис. 3).

В этих же условиях в цитоплазме эндотелиоцитов отмечается повышенное количество крупных вакуолей. В одних случаях усиление вакуолизации (вакуоли формируются за счет слияния микровезикул) можно рассматривать как проявление защитной реакции, направленной на удаление из-



**Рис. 3.** Площади сечения цитоплазмы и ядер эндотелиальных клеток кровеносных капилляров яичника 20-суточных плодов белой крысы в норме и в условиях облучения. К – контроль; I – облучение в дозе 0.5 Гр на 10-е сут; II – облучение в дозе 0.5 Гр на 14-е сут; III – облучение в дозе 1.0 Гр на 10-е сут; IV – облучение в дозе 1.0 Гр на 14-е сут; V – пролонгированное облучение.

1 – площадь ядра; 2 – площадь цитоплазмы. Различия достоверны по отношению к контролю: \* –  $p < 0.05$ ; \*\* –  $p < 0.001$ .

лишков жидкости и растворенных в ней веществ в кровотоке. В других случаях вакуоли возникают при отеком набухании митохондрий с полным разрушением крист, а также элемент в эндоплазматической сети и пластинчатого аппарата. Можно полагать, что увеличение вакуолизации за счет органелл (кроме митохондрий) – это результат активизации защитных механизмов дегидратации при лучевом воздействии.

Следует, однако, заметить, что наряду с процессами угнетения функциональной активности клеток выявляются структуры, в которых отмечается развитие компенсаторных процессов, направленных на поддержание функции ядра. Структурным выражением их являются инвагинации ядерной мембраны, приводящие к значительному увеличению последней, что в свою очередь сопровождается увеличением поровых комплексов [1]. Наиболее глубокие и причудливые инвагинации ядерной оболочки отмечаются при пролонгированном облучении.

Повреждающим действием радиации можно объяснить присутствие в одной эндотелиальной клетке 2–3 ядер. Наиболее часто это явление отмечается при пролонгированном облучении, что свидетельствует, вероятно, о значительном влиянии его на процессы нормального деления клеток.

Для оценки состояния пластических процессов в клетках КК мы анализировали структуру таких органелл, как эндоплазматическая сеть, рибосомы, комплекс Гольджи. При облучении в дозе

0.5 Гр в них возникают реактивные изменения, проявляющиеся незначительным увеличением их размеров, расширением канальцев, что свидетельствует о функциональном напряжении всей системы, обеспечивающей пластические процессы в эндотелиоцитах КК.

Увеличение дозовой нагрузки (1.0 Гр), а также пролонгированное облучение приводят к более заметным изменениям этих органелл (в эндоплазматической сети и пластинчатом аппарате выявляются участки с признаками разложения в результате накопления в них жидкости, наблюдается фрагментация их элементов).

Таким образом, на основании полученных данных можно заключить, что такая сравнительно небольшая доза облучения, как 0.5 Гр оказывает определенное влияние на состояние КК яичника плодов. Эти изменения проявляются главным образом в нарушении структуры митохондрий и микровезикул, приводящих к их убыли. С увеличением дозовой нагрузки до 1.0 Гр отмечаются более значительные повреждения структуры гемокапилляров и их эндотелиоцитов. Морфологически они характеризуются развитием в клетках сосудов дегенеративно-деструктивных процессов, результатом которых являются значимое уменьшение площади сечения капилляров вплоть до их обтурации, сокращение фонда органелл, обеспечивающих в эндотелиоцитах энергетические и транспортные, а также пластические функции. Эти изменения более выражены при действии  $\gamma$ -излучения на 14-е сут эмбриогенеза. Пролонгированное облучение в антенатальном периоде развития плодов в суммарной дозе 0.43 Гр вызывает в гемокапиллярах формирующихся яичников эффекты, степень выраженности которых значительно превосходит воздействие однократного облучения в дозе 1 Гр. В результате часть микрососудов яичника подвергается облитерации, что может быть причиной нарушения кровоснабжения его отдельных участков. В результате перечисленных изменений терминальных кровеносных сосудов создаются новые условия, ведущие к дискординации в системе трофического обеспечения тканей яичника, их метаболических процессов еще в пренатальном периоде онтогенеза.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бурлакова Е.Б., Голощанов А.Н., Горбунова Н.В. и др. // Радиационная биология. Радиоэкология. 1996. Т. 36. Вып. 4. С. 610–632.
2. Ярмоненко С.П. // Радиационная биология. Радиоэкология. 1997. Т. 37. Вып. 4. С. 488–493.
3. Шахламов В.В. Капилляры (электронно-микроскопическое исследование). М.: Медицина, 1985. 296 с.

4. Куприянов В.В. // Вопр. морфометрич. анализа и элементы моделирования процессов в системе микроциркуляции. 1978. Т. 45. Вып. 4. С. 3–16.
5. Воробьев Е.И., Степанов Р.П. Ионизирующие излучения и кровеносные сосуды. М.: Энергоатомиздат, 1985. 296 с.
6. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. М., 1990. 325 с.
7. Reynolds E.S. // J. Cell Biol. 1963. V. 17. P. 208–211.
8. Амвросьев А.П., Жадан С.А. // Докл. АН Беларуси. 1993. Т. 37. № 6. С. 82–86.
9. Yang V.V., Steamer S.P., Tyler S.A. // Radiation Effects. 1976. V. 67. P. 344–360.
10. Цагарели З.Г. Ультраструктура сердечно-сосудистой системы в норме и патологии. Тбилиси, 1986. 166 с.
11. Збарский И.Б. Организация клеточного ядра. М.: Медицина, 1988. 386 с.

Получено в редакцию  
14.06.2000

## The Status of Blood Capillaries in Foetus Ovary of White Rats after Acute and Prolongated $\gamma$ -Irradiation in Various Period of Its Embryogenesis

A. P. Amvrosiev, O. N. Ablekovskaya

Institute of Radiobiology, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, 22014, Belarus;  
e-mail: irb@radiobio.bas-net.by

The peculiarities of reactions of blood capillaries and their cell structures in the ovary of 20-days old foetus to the irradiation in embryogenesis were revealed; it was shown for the first time that the character and direction of changes in principal morphofunctional parameters depended on the dosage, power of  $\gamma$ -irradiation and the age of the developing organism by the exposure moment.