

**НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ  
ИНСТИТУТ РАДИОБИОЛОГИИ**

УДК 612.014.481+591.465.31+616.16-001.28

**АБЛЕКОВСКАЯ Оксана Николаевна**

**ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ В МАЛЫХ  
ДОЗАХ НА СОСТОЯНИЕ КРОВЕНОСНЫХ КАПИЛЛЯРОВ  
ЯИЧНИКА В АНТЕНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ РАЗВИТИЯ  
ОРГАНИЗМА**

03.00.01. - Радиобиология

**Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук**

Минск - 1999

Работа выполнена в Институте радиобиологии Национальной Академии наук Республики Беларусь

Научный руководитель: доктор медицинских наук, профессор  
Амвросьев А.П.

Официальные оппоненты: доктор медицинских наук, профессор  
Леонтьук А.С.

доктор медицинских наук, профессор,  
чл.-корр. НАН Беларуси  
и Российской АМН  
Лазюк Г.И.

Оппонирующая организация: Институт физиологии НАН Беларуси

Защита состоится 24 сентября 1999 г. в 15<sup>00</sup> час. на заседании совета по защите диссертаций Д 01.35.01 при Институте радиобиологии НАН Беларуси по адресу: 220041, г. Минск, ул. Академика Купревича, 2, ИРБ НАН Беларуси, тел. 264-31-41.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института радиобиологии НАН Беларуси

Автореферат разослан «6 августа» 1999 г.

Ученый секретарь  
совета по защите диссертаций  
кандидат биологических наук

 - А.М.Ходосовская

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### 1. Актуальность темы диссертации

Влияние малых доз ионизирующих излучений (ИИ) на живые организмы изучено недостаточно полно [Бурлакова Е.Б. и др., 1996]. Данные литературы по этой проблеме анализируются с различных, часто противоречивых позиций [Ярмоняк С.П., 1997]. 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 с использованием различных современных методов может способствовать решению не только общих, но и конкретных вопросов прогнозирования состояния здоровья людей и животных в поколениях. В этом плане, как нам представляется, немаловажное значение приобретает изучение вопросов, касающихся структурного и функционального становления эндокринных органов и, в частности, женских половых органов, выполняющих генеративную и половую функции. Как известно, одним из важных звеньев в этом процессе являются кровеносные капилляры (КК), обеспечивающие обмен веществ в тканях [Шахламов В.В., 1971]. Они же в системе кровообращения являются и наиболее радиочувствительными структурами [Воробьев Е.И., Степанов Р.П., 1985].

Необходимо подчеркнуть, что в пренатальном периоде онтогенеза значение системы микроциркуляции заключается не только в реализации транспортной функции сердечно-сосудистой системы, но и в обеспечении нормального гисто- и органогенеза. Это определяется тем, что даже минимальное снижение поступления крови к развивающимся органам и тканям приводит к возникновению дегенеративных процессов, аномалий развития, что в конечном итоге может привести к гибели плода [Куприянов В.В., 1978].

В дефинитивном организме, как показывают многочисленные исследования, состояние микроциркуляторного русла также определяет дееспособность органа. Не случайно в клинической практике, а также в экспериментальных условиях при некоторых патологических состояниях к яичникам подводят дополнительные сосудистые связи [Леонтьев Л.А., 1979]. Центральное место в них отводится капиллярам, которые обеспечивают активный межтканевой обмен, поддерживая необходимый уровень трофики специфических рабочих структур на различных этапах развития организма.

В литературе имеются сведения об изменениях структуры гемокапилляров различных органов под влиянием больших доз ИИ. Что касается малых доз радиации, то их вклад в изменение структурной организации микроциркуляторного русла изучен недостаточно. Особенно это относится к

системе кровоснабжения развивающегося в эмбриогенезе яичника. Между тем изучение тонких микрофизиологических и ультраструктурных проявлений транскапиллярного обмена и нарушения проницаемости сосудистой стенки капилляров при патологических состояниях является необходимым условием выяснения закономерностей их возникновения и течения [Чернух А.М. и др., 1984].

## 2. Связь работы с крупными научными программами

Диссертационная работа выполнена в рамках Государственной программы фундаментальных исследований на 1996-2000гг «Закономерности перехода естественных и техногенных радионуклидов в биосферу, формирование дозовых нагрузок, биологические эффекты хронического действия радиации и радиорезистентности организма (малые дозы облучения)» по теме «Изучение механизмов действия острого и хронического действия (внешнего и внутреннего) облучения в малых дозах на функции важнейших систем и метаболические процессы организма» (№ ГР - 19961860), а также в рамках Государственной программы Республики Беларусь по минимизации и преодолению последствий катастрофы на Чернобыльской АЭС на 1996 - 2000гг по теме 3.3.3. «Изучение эффектов малых доз ионизирующих излучений и комбинированных воздействий, поиск способов коррекции вызванных ими повреждений» (№ ГР - 19961863).

## 3. Цель и задачи исследования

В настоящей работе была поставлена цель - изучить характер и направленность структурных преобразований КК микроциркуляторного русла яичника плодов белой крысы в норме и при облучении в различные периоды эмбриогенеза в зависимости от дозы, мощности гамма-излучения, от возраста зародыша к моменту воздействия лучевого фактора.

Исходя из цели исследования были поставлены следующие задачи:

- определить морфофункциональные показатели микрососудов и их клеток в яичнике белой крысы в норме на заключительном этапе антенатального развития;
- выяснить особенности реакции кровеносных капилляров, их клеточно-тканевых образований в яичнике 20-суточных плодов на однократное внешнее облучение в дозе 0,5 Гр на 10-е и 14-е сутки внутриутробного развития;
- определить количественные и качественные характеристики основных морфофункциональных показателей терминальных кровеносных сосудов и их эндотелиоцитов в яичнике плодов после облучения в дозе 1,0 Гр на 10-е и 14-е сутки эмбриогенеза;

- дать оценку морфофункциональной перестройке капиллярного русла яичника плодов в условиях действия ионизирующей радиации на развивающийся организм в различные периоды эмбриогенеза.

#### 4. Объект и предмет исследования

Объект исследования - яичник 20-суточных плодов белой крысы. Предмет исследования - КК и их эндотелиоциты после внешнего острого и пролонгированного гамма-облучения организма в малых дозах.

#### 5. Методы проведенного исследования

При проведении исследований использовался ряд современных и классических методов исследования: эмбриологический, электронномикроскопический, а также стереологический и статистический анализы, которые адекватны цели и задачам нашего исследования. Однократное облучение проводили на установке ИГУР ( $^{137}\text{Cs}$ , мощность дозы  $5,7 \times 10^{-2}$  Гр/с). Для пролонгированного гамма-излучения использовали экспериментальную установку ГАММАРИД- $^{192}/_{200}$  ( $^{137}\text{Cs}$ , мощность дозы  $3,12 \times 10^{-7}$  Гр/с). Поглощенные дозы при остром облучении составили 0,5 и 1,0 Гр, при пролонгированном облучении за 20,4 суток антенатального развития - 0,43 Гр.

#### 6. Научная новизна и значимость полученных результатов

Определены морфофункциональные параметры микрососудов и их клеточно-тканевых структур в яичнике в норме на заключительном этапе антенатального развития экспериментальных животных - белой крысы.

Выявлены особенности реакции кровеносных капилляров и их клеточных структур в яичнике 20-суточных плодов на облучение в эмбриогенезе. Впервые показано, что характер и направленность изменений основных морфофункциональных параметров микрососудов формирующегося яичника в условиях облучения находятся в зависимости от дозы, мощности гамма-излучения и возраста зародыша на момент облучения.

Установлено, что однократное облучение в малой дозе (0,5 Гр) на 10-е и 14-е сутки эмбриогенеза вызывает изменения структуры микрососудов и их эндотелиоцитов. Изменения в последних проявляются в основном нарушениями структуры митохондрий и микровезикул, приводящих к убыли фонда этих органелл.

С увеличением дозовой нагрузки до 1,0 Гр возрастает степень альтерации ядра, комплекса Гольджи, эндоплазматической сети, рибосом, митохондрий,

микровезикул и других структур эндотелиоцитов, ответственных за состояние пластических, энергетических и транспортных функций последних. Одновременно с этим происходят и изменения величины просвета сосудов, часть из которых подвергается обтурации.

Пролонгированное облучение в антенатальном периоде (поглощенная доза 0,43 Гр) индуцирует те же деструктивно-дегенеративные процессы в клетках гемокапилляров, что и однократное облучение в дозе 1,0 Гр, только в более выраженной степени.

## **7. Практическая значимость полученных результатов**

Результаты исследования расширяют современные представления о процессах развития обменных сосудов микроциркуляторного русла яичника в эмбриональном периоде и влияния на них ИИ в малых дозах. Они способствуют пониманию патогенеза лучевого поражения яичника, процессов повреждающего эффекта ИИ у зародышей на клеточном и субклеточном уровнях, развития в системе терминальных кровеносных сосудов адаптационно-компенсаторных механизмов.

Результаты исследований могут быть использованы в научно-исследовательских и клинических учреждениях медицинской и сельскохозяйственной радиологии для оценки степени влияния лучевого фактора на морфофункциональные показатели капиллярного русла яичника. Кроме того, возможно их использование в качестве нормативных при анализе действия лекарственных препаратов, предназначенных для повышения устойчивости развивающегося организма в условиях облучения, что может служить поиску методов антенатальной охраны плода. Полученные данные о возникновении структурно-функциональных изменений в гемокапиллярах развивающегося яичника под влиянием ИИ могут быть использованы и для объяснения возможных причин женского бесплодия, преждевременного старения, гормональной дисфункции. Поэтому они могут быть учтены в процессе организации научных исследований и подготовке медицинских кадров по акушерству и гинекологии.

## **8. Основные положения, выносимые на защиту**

1. Воздействие однократного гамма-облучения на 10-е и 14-е сутки эмбриогенеза крыс в малой дозе (0,5 Гр) вызывает изменение структуры гемокапилляров и их эндотелиоцитов. Эти изменения проявляются, главным образом, в нарушении структуры митохондрий и микровезикул и их убыли.

2. Увеличение дозовой нагрузки до 1,0 Гр приводит к более значительным изменениям структуры кровеносных капилляров и их эндотелиоцитов в яичнике плодов. Морфологически они характеризуются развитием в клетках сосудов дегенеративно-деструктивных процессов, результатом которых

является сокращение фонда органелл, обеспечивающих пластические, транспортные и энергетические функции.

3. При пролонгированном облучении в антенатальном периоде развития зародыша (поглощенная доза при этом составила 0,43 Гр) в его яичнике наблюдаются более глубокие изменения в структуре кровеносных капилляров, чем при однократном облучении. Эффекты облучения проявляются альтерацией структуры ядра, комплекса Гольджи, эндоплазматической сети, рибосом, митохондрий и микровезикул эндотелиоцитов. Выявляются также уменьшение площади поперечного сечения гемокapилляров и их просвета вплоть до полной обтурации части терминальных кровеносных сосудов.

### **9. Личный вклад соискателя**

Автором лично выполнена экспериментально-методическая часть работы, собрана и проанализирована литература, относящаяся к вопросу исследования. На основании полученных результатов, представленных в диссертации, соискателем сделаны научно обоснованные выводы, оформлена диссертационная работа.

### **10. Апробация результатов исследования**

Основные положения диссертации докладывались и обсуждались на Международной научной конференции «Фундаментальные и прикладные аспекты радиобиологии: биологические эффекты малых доз и радиоактивное загрязнение среды» (Минск, 1998), I Международной конференции «Экология и молодежь» (Гомель, 1998), III научно-практической конференции молодых ученых «Молодежь и экологические проблемы современности» (Гомель, 1999).

### **11. Опубликованность результатов**

По теме диссертации опубликовано 7 научных работ, в том числе 3 статьи и тезисы 4 докладов. Общее число страниц опубликованных материалов - 17.

### **12. Структура и объем диссертации**

Диссертация состоит из введения, общей характеристики работы, обзора литературы, методической главы, четырех глав собственных исследований, обсуждения результатов исследования и выводов, а также списка использованных источников, который включает 227 библиографических наименований. Работа изложена на 114 страницах машинописного текста, содержит 5 таблиц и 47 рисунков.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты поставлены на 46 белых беспородных крысах стадного разведения. Беременные животные подвергались однократному гамма-облучению в дозах 0,5 и 1,0 Гр, а также пролонгированному облучению в суммарной дозе 0,43 Гр в течение 20,4 суток беременности. На 20-е сутки беременности животные декапитировались и из них извлекались плоды. Всего обработано препаратов яичника от 146 плодов (табл. 1).

Таблица 1

Сводные данные, характеризующие материал исследования

Сроки беременности	С е р и и                      о п ы т о в					
	контроль	0,5 Гр на		1,0 Гр на		0,43 Гр (за 20,4 сут)
		10-е сут	14-е сут	10-е сут	14-е сут	
20-е сутки	19	22	15	15	30	30

Исследование характера реакции сосудистого русла эмбрионального яичника в норме и после облучения проводилось на электронномикроскопическом уровне. Необходимость выбора данного метода исследования продиктована тем, что светооптические исследования в виду своей ограниченности не дают ответа на вопрос о динамике внутриклеточных перестроек, процессах транскапиллярного обмена, состоянии барьерных функций капиллярной стенки в эмбриональном периоде [Юрьев Ю.П., 1972; Москалев Ю.И., 1991].

Для исследования мы помещали целый яичник в бокс, содержащий свежий 1,5%-ный раствор глутаральдегида. Дальнейшая проводка исследуемого объекта осуществлялась по схеме Б. Уикли (1975).

Для получения репрезентативных образцов нами применялся метод случайного и бесповоротного отбора [Автандилов Г.Г., 1990]. Ультратонкие срезы (500-600 А°) готовили на ультрамикротоме Ultramicrotom system 2128 Ultramicrotom (LKB) (Швеция). Затем монтировали их на опорные сетки и контрастировали с применением метода двойного окрашивания уранилацетатом и цитратом свинца по E.S.Reynolds (1963) и просматривали на электронном микроскопе «JEM - 100 CX» (Япония) при ускоряющем напряжении 80 кВ и рабочем увеличении от 5800 до 36000 раз.

Стереологический анализ проводился с негативных изображений профилей капилляров с помощью проекционной установки при конечном увеличении в 10140 раз (зарисовывались площади сечения изучаемых

структур). Последующую обработку проводили на компьютере с помощью устройства ввода графической информации «Морфометрический планшет».

Для изучения структуры капилляров и их эндотелиальной выстилки определялись следующие параметры: большой и малый диаметры микрососудов, площадь сечения капилляров и их просвета, площади сечения цитоплазмы эндотелиоцитов и их ядер, а также толщина стенки в ядерной и безъядерной зонах. Путем качественного анализа, основанного на визуальных наблюдениях синтетического аппарата клетки (эндоплазматической сети, комплекса Гольджи, рибосом и полисом), сделана оценка состояния пластических процессов, отражающих уровень функциональной активности эндотелиоцитов КК. Определялись также их цитоплазменно-ядерные отношения (ЦЯО), как один из интегральных показателей функционального состояния клетки [Леонтьев А.С., 1984].

По количеству митохондрий на срезе эндотелиоцитов, а также их объемной плотности оценивались энергетические возможности клежок. Для характеристики транспортной функции эндотелия подсчитывали общее количество микровезикул на срезах эндотелиоцитов, число пузырьков, составляющих их различные фракции: связанные с мембраной и свободные, а также численную плотность микровезикул на 1 мкм<sup>2</sup> площади сечения цитоплазмы эндотелиоцитов.

Статистическую обработку результатов проводили пользуясь основными положениями теории вероятности и математической статистики, общепринятыми при обработке результатов исследований биологических объектов [Рокицкий П.Ф., 1973] с помощью статистического пакета «Статистика для Windows», используя параметрические методы оценки данных.

## МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ РАЗВИТИЯ КРОВЕНОСНЫХ КАПИЛЛЯРОВ ЯИЧНИКА 20-СУТОЧНЫХ ПЛОДОВ БЕЛОЙ КРЫСЫ В НОРМЕ

Структурная организация КК ряда органов к моменту рождения не достигает дефинитивного уровня развития (Bruns P., Palade G., 1969; Wolff J.R. et al., 1972; Арвеладзе Ю.Р., 1983). Анализируя морфофункциональные показатели состояния КК яичника плодов мы также получили аналогичные данные.

На продолжающиеся процессы развития и дифференцировки указывает отсутствие типичной для дефинитивного эндотелия концентрации органоидов в зоне перикариона. В пользу этого также свидетельствуют и варианты конфигурации клеточных контактов - по типу простого и полусложного стыков, с преобладанием первого над вторым.

Транспортная система эндотелиоцитов на изучаемом этапе представлена исключительно микровезикулами. Появление специализированных образований типа фенестраций на последующих этапах онтогенеза тесно связано с ростом и созреванием структурных компонентов яичника и усилением их гормональной активности.

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о том, что для органа, развивающегося во внутриутробном периоде, формируются КК, обеспечивающие создание гематотканевых взаимоотношений, необходимых для его структурно-функционального становления. (Основные морфофункциональные показатели их приведены в таблице 2).

### СОСТОЯНИЕ ГЕМОКАПИЛЛЯРОВ ЯИЧНИКА 20-СУТОЧНЫХ ПЛОДОВ БЕЛОЙ КРЫСЫ В УСЛОВИЯХ ОБЛУЧЕНИЯ

Хорошо известно, что состояние гемомикроциркуляторного русла органов определяет не только обеспечение нормального функционирования их, но и развитие патологических процессов [Чернух А.М. и др., 1984]. Последние особенно ярко проявляются в условиях лучевого поражения. Что же касается яичника, то одной из причин развития его дисфункции, в том числе и при действии ИИ, является нарушение системы микроциркуляции. С этой точки зрения изучение гемомикроциркуляторного русла яичника на заключительном этапе эмбриогенеза приобретает важное научное и практическое значение.

Как показывают наши исследования, значительная часть наблюдаемых после облучения микроциркуляторных нарушений обусловлена первичным поражением самих элементов сосудистой стенки. При этом следует отметить существование зависимости в оценке эффекта облучения как от дозы и мощности гамма-излучения, так и от возраста развивающегося зародыша к моменту действия лучевого фактора. Так, установлено усиление эффекта пролонгированного облучения при низкой мощности дозы по сравнению с однократным облучением практически в той же дозе (табл. 2). Подобные данные приводят и другие авторы [Lieber H.L. et al., 1985, Любимова Н.В., 1997].

Увеличение дозовой нагрузки (до 1,0 Гр) вызывает более выраженные изменения как морфофункциональных параметров КК, так и транспортных, энергетических и пластических процессов в их клетках. На это указывают и работы других исследователей, изучающих влияние ИИ в широком диапазоне доз на состояние различных сосудов [Лобанок Л.М., Лукша Л.С., 1995]. При этом необходимо подчеркнуть, что изменения всех изученных морфофункциональных параметров КК и их эндотелиоцитов наиболее выражены после облучения животных на 14-е сутки гестации.

Таблица 2

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

Исследуемые показатели	Контроль	Острое $\gamma$ -облучение в дозе 0,5 Гр		Острое $\gamma$ -облучение в дозе 1,0 Гр		Пролонгированное облучение (0,43 Гр)
		10-е сутки	14-е сутки	10-е сутки	14-е сутки	
Площадь сечения капилляра, мкм <sup>2</sup>	39,86 ± 1,99	43,33 ± 2,05	43,41 ± 1,75	38,08 ± 1,73	31,72 ± 1,56**	32,91 ± 1,66**
Максимальный диаметр, мкм	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, мкм	6,18 ± 0,21	6,60 ± 0,21	6,82 ± 0,16*	6,50 ± 0,16	5,67 ± 0,16	5,92 ± 0,20
Площадь сечения просвета сосуда, мкм <sup>2</sup>	13,61 ± 1,27	14,90 ± 1,54	15,66 ± 1,36	11,71 ± 1,45	9,23 ± 0,81**	6,12 ± 0,87***
Площадь сечения цитоплазмы эндотелиоцита, мкм <sup>2</sup>	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, мкм <sup>2</sup>	9,90 ± 0,59	9,68 ± 0,67	9,46 ± 0,62	8,69 ± 0,45	6,64 ± 0,63	13,23 ± 0,99***
Индекс ЦЯО эндотелиоцита	2,09 ± 0,18	3,98 ± 0,70**	2,76 ± 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 ± 0,33***	4,60 ± 0,32***	3,30 ± 0,39***	3,23 ± 0,24***
Количество микровезикул на срезе эндотелиоцита люминальных	9,05 ± 0,48	8,06 ± 0,54	5,89 ± 0,36***	5,53 ± 0,33***	6,21 ± 0,34***	5,92 ± 0,30***
		базальных	4,32 ± 0,35*	4,58 ± 0,34	4,10 ± 0,27***	3,80 ± 0,21***
цитоплазматических	14,70 ± 1,18	12,32 ± 0,95	14,90 ± 1,47	16,01 ± 1,19	11,87 ± 0,92	12,35 ± 0,94
общее число	29,04 ± 1,60	24,70 ± 1,45*	25,34 ± 1,84	25,61 ± 1,48	21,93 ± 1,25***	22,25 ± 1,27***
Индекс МВЛ/МВБ	2,18 ± 0,19	2,47 ± 0,25	1,62 ± 0,11**	1,60 ± 0,11*	1,80 ± 0,09	1,83 ± 0,12

Результаты достоверны по отношению к контролю при: \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ ; \*\*\* -  $p < 0,001$

В ходе наших исследований показано, что значительная часть изменений КК в условиях облучения связана с изменением таких структур эндотелиоцитов, которые обеспечивают трансэндотелиальный перенос веществ. Установлено, что в этих условиях происходит снижение общего количества микровезикул в цитоплазме (рис. 1) эндотелиоцитов.

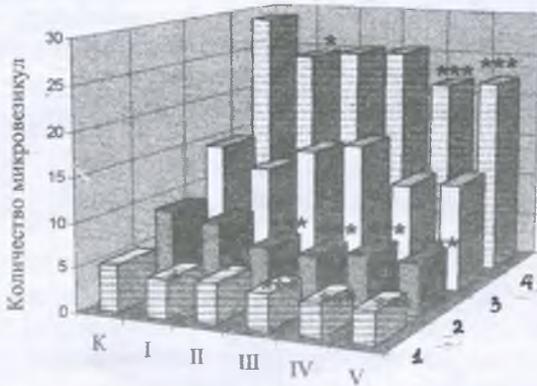


Рис.1. Количество микровезикул на срезе эндотелиоцитов кровеносных капилляров яичника 20-суточных плодов белой крысы в норме и в условиях облучения. К - контроль; I - однократное облучение в дозе 0,5 Гр на 10-е сутки; II - однократное облучение в дозе 0,5 Гр на 14-е сутки; III - однократное облучение в дозе 1,0 Гр на 10-е сутки; IV - однократное облучение в дозе 1,0 Гр на 14-е сутки; 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: \* -  $p < 0,01$ ; \*\*\* -  $p < 0,001$ .

Характерно, что снижение числа везикул находится в зависимости от дозы, мощности гамма-излучения и возраста зародыша к моменту действия фактора. Как видно из рис.1, однократное облучение на 14-е сутки внутриутробного развития в дозе 1,0 Гр вызывает сокращение их численности на 24%, пролонгированное облучение - на 23% ( $p < 0,001$ ). Убыль микровезикул происходит, главным образом, за счет снижения фракции мембраносвязанных пузырьков - люминальных и базальных. В большей степени изменение фракции этих везикул проявляется при облучении на 14-е сутки развития зародышей. При этом на люминальной поверхности сосудов увеличивается число цитоплазматических отростков, которые, разветвляясь, иногда образуют крупные вакуоли. Отмеченные изменения, вероятно, можно расценивать как угнетение транспортной функции эндотелиальных клеток КК.

Из приведенных данных видно, что действие ИИ вызывает угнетение транспортных функций эндотелиальных клеток. Интенсивность везикулообразования находится в прямой зависимости от дозы облучения. Такая же количественная зависимость отмечена и в работах Амвросьева А.П. и Жадан С.А. (1993, 1995) при исследовании состояния КК поджелудочной железы в условиях действия ИИ.

Более выраженный характер носит реакция энергообразующих структур (митохондрий) эндотелиоцитов КК. Как видно из рис.2, облучение вызывает значительное сокращение количества этих органондов. Наиболее массивное снижение численности наблюдается при пролонгированном облучении (на 58%) и при однократном облучении на 14-е сутки беременности в дозе 1,0 Гр (на 57%) ( $p < 0,001$ ). При облучении в дозе 0,5 Гр на 10-е сутки беременности сокращение их количества достигает 31%, при облучении на 14-е сутки в этой же дозе - на 40% ( $p < 0,001$ ). Подобное сокращение количества этих органелл является результатом 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 размеров, уменьшении оптической плотности матрикса и дезориентации крист. При более глубоких повреждениях кристы теряют свою ориентацию и подвергаются деструктивным изменениям,

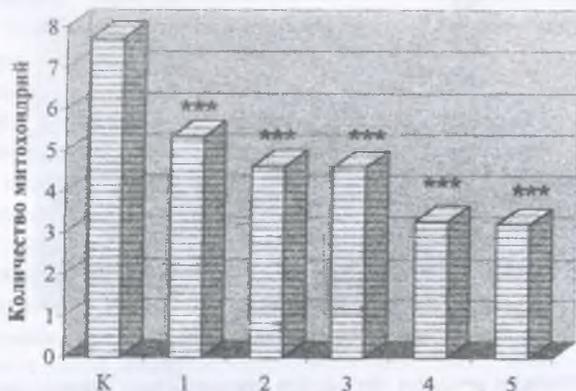


Рис.2. Число митохондрий на срезе эндотелиоцитов кровеносных капилляров яичника 20-суточных плодов белой крысы в норме и в условиях облучения. К - контроль; I - однократное облучение в дозе 0,5 Гр на 10-е сут; II - однократное облучение в дозе 0,5 Гр на 14-е сут; III - однократное облучение в дозе 1,0 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.

\*\*\* - различия достоверны по отношению к контролю ( $p < 0,001$ ).

результатом которых является образование вакуолей с электроннопрозрачным содержимым и нередко с хлопьевидными остатками разрушенных крист. Описанные изменения являются аналогичными изменениям этих органойдов в клетках капилляров ряда органов при воздействии ИИ, а также при других патологических состояниях [Хамидов Д.Х. и др., 1973; Yang V.V., 1976, Цагарели 3 1986].

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 этих органелл, приводящее к их убыли, способствует снижению энергетических возможностей клеток [Барабой В.А., 1983, Кондрашова М.Н., 1978].

Значительная часть нарушений структуры КК связана с изменением их размеров, определяющая роль в которых принадлежит степени реакции эндотелиоцитов. Эти изменения имеют дозозависимый характер. Особенно ярко они выражены после облучения плодов на 14-е сутки беременности в дозе 1,0 Гр и в условиях пролонгированного облучения на протяжении всего пренатального периода развития. Так, по сравнению с контрольными образцами площадь сечения капилляров в первом случае уменьшается на 20%, во втором - на 17% ( $p < 0,001$ ). Подобное изменение происходит вследствие сужения их диаметра (см. табл. 2). При этом отмечается значительное уменьшение площади просветов капилляров (рис.3). Наибольшее снижение

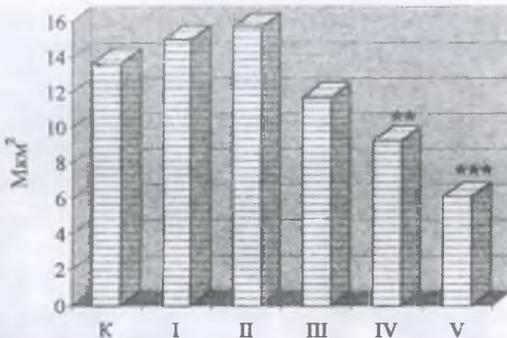


Рис. 3. Площади сечения просветов кровеносных капилляров яичника 20-суточных плодов белой крысы в норме и в условиях облучения. К - контроль; I - однократное облучение в дозе 0,5 Гр на 10-е сут; II - однократное облучение в дозе 0,5 Гр на 14-е сут; III - однократное облучение в дозе 1,0 Гр на 10-е сут; IV - однократное облучение в дозе 1,0 Гр на 14-е сут; V - пролонгированное облучение в суммарной дозе 0,43 Гр.

\*\* - различия достоверны по отношению к контролю при  $p < 0,01$ ; \*\*\* -  $p < 0,001$ .

этого показателя происходит в условиях пролонгированного облучения (на 45%;  $p < 0,001$ ). Можно полагать, что в этом случае возрастают процессы гидратации цитоплазматического матрикса эндотелиальных клеток, приводящие к их деструкции. Последние захватывают значительное количество клеток сосудов. Об этом свидетельствуют и данные других исследователей, полученные при исследовании сосудов различных органов и тканей [Норевелл J.M., Young C.A., 1978; Королева Л.В., 1982].

Вполне вероятно, что процессы гидратации могут быть следствием наблюдаемых в этих условиях нарушений мембранных структур эндотелиоцитов. По мнению Владимирова Ю.А. и Арчакова А.И. (1972) радиационное поражение биомембран является одним из первичных механизмов действия на клетку ИИ. Нарушением мембранной структуры эндотелиоцитов гемокапилляров можно, вероятно, объяснить и явление клазматоза, которое имеет место практически во всех экспериментальных группах. Отсутствие клазматоза в образцах, полученных от интактных групп, позволяет рассматривать данное явление как одну из реакций ответа клеток на воздействие ИИ. На отщепление от цитоплазмы ее фрагментов, как явление клеточной патологии, указывают и другие авторы [Авцын А.П., Шахламов В.А., 1979; Байбеков И.М. и др., 1998].

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 мембраны, 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 [Самотейкин М.А, Иркин И.В., 1974]. С другой стороны, обилие выростов на люминальной поверхности изучаемых сосудов - одно из условий тромбообразования и предвестника облитерации капилляра [Куприянов В.В., 1969, 1978].

Однократное облучение в дозе 1,0 Гр на 14-е сутки эмбриогенеза и пролонгированное облучение на протяжении 20,4 суток пренатального периода развития вызывают значительное снижение площади сечения цитоплазмы эндотелиоцитов. В случае однократного облучения происходит уменьшение этого показателя на 15% ( $p < 0,05$ ), а в случае пролонгированного - на 40% ( $p < 0,001$ ). В других экспериментальных группах (см. табл.1) отмечено увеличение площади цитоплазмы, особенно при однократном облучении в

дозе 0,5 Гр на 10-е сутки развития зародышей (на 16%). Вероятно, подобную реакцию можно рассматривать как защитную, направленную на поддержание функциональной активности ядерных структур. Это предположение подтверждается и данными о величине значений площади ядер эндотелиоцитов (см. табл. 2).

В условиях действия радиации 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 излишков жидкости и растворенных в ней веществ в кровоток [Алексеев О.В., Чернух А.Н., 1969]. В других случаях вакуоли возникают при отеком набухании митохондрий с полным разрушением крист, а также из элементов эндоплазматической сети и пластинчатого аппарата. Можно полагать, что увеличение вакуолеобразования за счет органелл (кроме митохондрий) является результатом активизации защитных механизмов дегидратации при лучевом воздействии. Подобного мнения придерживаются и другие исследователи [Maisin J.R., Reyners H., 1977; Воробьев Е.И., Степанов Р.П., 1985].

Результатом увеличения площади цитоплазмы и ядер эндотелиоцитов КК в условиях однократного облучения в дозе 0,5 Гр является достоверное повышение ЦЯО, определяющих уровень метаболических процессов в клетке (см. табл.2). По-видимому, здесь имеет место определенное напряжение синтетических процессов в ответ на действие облучения.

На изменение функциональной активности эндотелиоцитов в условиях однократного и пролонгированного облучения указывает и наличие дисконкомплексации хроматина в ядре, проявляющейся в образовании глыбок, скапливающихся у ядерной мембраны [Збарский И.Б., 1988].

Следует, однако, заметить, что наряду с процессами угнетения функциональной активности выявляются клетки, в которых отмечается наличие 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 [Ченцов Ю.С., Поляков В.Ю., 1974]. 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. Установлено, что эндоплазматическая сеть и пластинчатый аппарат эндотелиоцитов после однократного облучения в дозе 0,5 Гр мало изменяются. Исследование экспериментального материала показало наличие реактивных изменений, проявляющихся незначительным увеличением их размеров, расширением канальцев, что свидетельствует о функциональном напряжении всей системы, обеспечивающей пластические процессы в эндотелиоцитах КК при облучении в дозе 0,5 Гр.

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 разбухания в результате накопления в них жидкости, наблюдается фрагментация их элементов).

В согласии с другими авторами мы полагаем, что описанные изменения свидетельствуют о подавлении пластических процессов в клетках капилляров при воздействии ИИ [Khan M.Y., Ohanian M., 1974]. По-видимому, они являются как результатом прямого, так и непрямого (опосредованного) действия ИИ на клетку.

Степень выраженности реакции базального слоя определяется величиной дозы ИИ и продолжительностью его действия. Однократное облучение в дозе 0,5 Гр не вызывает заметных признаков повреждения этого компонента сосудистой стенки. Вместе с тем увеличение дозовой нагрузки до 1,0 Гр, а также пролонгированное облучение приводят к изменению структуры базального слоя, которое проявляется в расширении или, наоборот, в чрезмерном истончении отдельных его зон. Иногда отмечались нарушения целостности базальной мембраны. Следует заметить, что отмеченные изменения затрагивали незначительную часть капилляров. Однако, такие перестройки базального слоя не могут не сказаться на проницаемости капиллярной стенки. Подобные сдвиги в структуре базальной мембраны обменных микрососудов яичника в условиях действия ионизирующей радиации характерны и для КК других органов [Reinhold H.S., 1972, Berdjis Ch.s., 1971].

Таким образом, на основании полученных данных можно заключить, что такая малая доза облучения как 0,5 Гр оказывает определенное влияние на состояние КК яичника плодов. Увеличение дозовой нагрузки до 1,0 Гр вызывает еще более выраженные деструктивные повреждения в части клеток КК, которые могут быть причиной снижения дееспособности органа, развития дисфункции и преждевременных процессов инволюции на последующих этапах онтогенеза.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Общая структурно-клеточная организация гемокапилляров яичника к концу эмбриогенеза близка к дефинитивной. В эндотелиоцитах кровеносных капилляров определяется четкая зависимость между уровнем дифференцировки клеток и их важнейшими морфофункциональными показателями, что позволяет рассматривать последние в качестве контрольных значений при проведении различных исследований [1-7].

2. Однократное внешнее облучение плодов белой крысы на 10-е и 14-е сутки эмбриогенеза в дозе 0,5 Гр приводит к изменению структуры гемокапилляров и органелл эндотелиоцитов. Эти изменения проявляются, главным образом, в нарушении структуры митохондрий и микровезикул, приводящим к их убыли [1, 4-7].

3. С увеличением дозовой нагрузки с 0,5 Гр до 1,0 Гр в на 10-е и 14-е сутки эмбриогенеза отмечаются более значительные повреждения структуры гемокапилляров и их клеток. При этом доминирует развитие дегенеративно-деструктивных процессов, в результате которых происходит значимое уменьшение площади сечения капилляров вплоть до их обтурации, сокращение фонда структур, обеспечивающих в эндотелиоцитах пластические, энергетические процессы и транспортные функции. Эти изменения более выражены при действии облучения на 14-е сутки эмбриогенеза [2, 4-7].

4. Пролонгированное облучение зародышей в антенатальном периоде развития в суммарной дозе 0,43 Гр вызывает в гемокапиллярах формирующихся яичников эффекты, степень выраженности которых значительно превосходит воздействие однократного облучения в дозе 1,0 Гр. В результате часть микрососудов яичника подвергается обтурации, что может быть причиной нарушения кровоснабжения его отдельных участков [3, 7].

5. Степень и характер изменений морфофункциональных параметров кровеносных капилляров (диаметр, площадь сечения просвета сосуда, толщина его стенки) и эндотелиоцитов (площадь сечения клетки, ее цитоплазмы и ядра; количество митохондрий, микровезикул и других органелл) яичника 20-суточных плодов зависят от дозы, мощности гамма-излучения и возраста развивающегося зародыша к моменту действия облучения. В результате перечисленных изменений гемокапилляров создаются новые условия, ведущие к дискординации в системе трофического обеспечения тканей яичника, их метаболических процессов еще в пренатальном периоде онтогенеза [1-7].

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Аблековская О.Н., Амвросьев А.П. Изменения морфофункциональных показателей кровеносных капилляров яичника 20-суточных плодов белой крысы при однократном внешнем облучении в антенатальном периоде развития // Весці НАН Беларусі. Сер. біялагіч. навук. - 1999. - № 1. - С. 64-68.
2. Аблековская О.Н., Амвросьев А.П. Реакция кровеносных капилляров яичника на гамма-облучение в плодном периоде онтогенеза // Весці НАН Беларусі. Сер. біялагіч. навук. - 1999. - № 2. - С. 65-68.
3. Аблековская О.Н., Амвросьев А.П. Влияние длительного гамма-облучения на морфофункциональные показатели кровеносных капилляров яичника 20-суточных плодов белой крысы // Вестн. БГУ. Сер. 2. - 1999. - № 2. - С. 30-33.
4. ~~Аблековская О.Н.~~ Ультраструктурный анализ гемокапилляров яичника 20-суточных плодов белой крысы, облученных в различные периоды их внутриутробного развития // Экология и молодежь (Исследования экосистем в условиях радиоактивного и техногенного загрязнения окружающей среды): Мат. I Межд. науч.-практич. конф. в 2-х т. - Гомель, 1998. - Т. 1. Ч. 2. - С. 72.
5. Аблековская О.Н. Влияние антенатального облучения на морфофункциональные показатели кровеносных капилляров яичника 20-суточных плодов // Фундаментальные и прикладные аспекты радиобиологии: биологические эффекты малых доз и радиоактивное загрязнение среды (радиоэкологические и медико-биологические последствия катастрофы на ЧАЭС): Мат. Межд. науч. конф., 16-17 апреля 1998г, Минск. - Мн., 1998. - С. 4.
6. Аблековская О.Н. Состояние гемокапилляров яичника 20-суточных плодов при однократном внешнем облучении на 10-е и 14-е сутки эмбриогенеза // Тез. докл. IV Когр. Межд. Ассоциации морфологов. - Н.-Новгород, 1998. - С. 12.
7. Аблековская О.Н. Ультраструктурные преобразования в кровеносных капиллярах яичника плодов после воздействия ионизирующей радиации в относительно малых дозах // Экология и проблемы современности: Мат. III межд. науч.-практ. конф., 12-14 мая, Гомель. - Гомель, 1999. - С. 5.



## РЕЗЮМЕ

**АБЛЕКОВСКАЯ Оксана Николаевна.** Влияние ионизирующих излучений в малых дозах на состояние кровеносных капилляров яичника в антенатальном периоде развития организма.

**Ключевые слова:** острое и пролонгированное гамма-облучение, кровеносные капилляры, эндотелиоциты, яичник, эмбриогенез.

**Объект и предмет исследования:** яичник плодов белых крыс и его кровеносные капилляры.

**Цель работы:** изучить характер и направленность структурных преобразований кровеносных капилляров микроциркуляторного русла яичника плодов белой крысы в норме и при облучении в различные периоды эмбриогенеза в зависимости от дозы, мощности гамма-излучения и от возраста зародыша к моменту воздействия лучевого фактора.

**Метод исследования:** эмбриологический, электронномикроскопический, а также стереологический и статистический анализы.

**Полученные результаты и их новизна:** выявлены особенности реакции кровеносных капилляров и их клеточных структур в яичнике 20-суточных плодов на облучение в эмбриогенезе; впервые показано, что характер и направленность изменений основных морфофункциональных параметров обменных микрососудов развивающегося яичника в условиях облучения находятся в зависимости от дозы, мощности гамма-облучения и возраста развивающегося организма к моменту воздействия лучевого фактора.

**Степень использования:** Полученные экспериментальные данные расширяют современные представления о влиянии малых доз ионизирующей радиации на процессы развития сосудов микроциркуляторного русла яичника, способствуют пониманию патогенеза лучевого поражения органа и могут быть использованы для объяснения возможных причин женского бесплодия, гормональной дисфункции, а также в качестве нормативных при анализе действия лекарственных препаратов, тем самым способствуя антенатальной охране плода.

**Область применения:** радиобиология, радиационная медицина, гинекология, тератология.

## РЭЗЮМЭ

**АБЛЯКОУСКАЯ** Аксана Мікалаеўна. Уздзеянне іанізуючых выпраменьванняў у малых дозах на стан крывяносных капіляраў яечніка ў прэнатальным перыядзе развіцця арганізма.

**Ключавыя словы:** вострае і пралангаванае гама-выпраменьванне, крывяносныя капіляры, эндатэліяцыты, яечнік, эмбрыягенез.

**Аб'ект і прадмет даследавання:** яечнік пладоў белай крысы і яго крывяносныя капіляры.

**Мэта даследавання:** вывучыць характар і накірунак структурных пераўтварэнняў крывяносных капіляраў мікрацыркуляторнага русла яечніка пладоў белай крысы ў норме і пры апраменьванні ў розныя перыяды эмбрыягенезу ў залежнасці ад дозы, магутнасці гама-выпраменьвання і ўзросту зародка на момант уздзеяння прамянёвага фактару.

**Атрыманыя вынікі і іх навізна:** выяўлены асаблівасці рэакцыі крывяносных капіляраў і іх клетак у яечніку 20-сутачных пладоў на апраменьванне у эмбрыягенезе; упершыню паказана, што характар і накірунак змяненняў асноўных морфафункцыянальных параметраў мікрасасудаў яечніка ў стане развіцця ва умовах апраменьвання знаходзяцца ў залежнасці ад дозы, магутнасці гама-апраменьвання і ўзросту зародка на момант уздзеяння.

**Ступень выкарыстання:** атрыманыя эксперыментальныя даныя папярэаюць сучасныя ўяўленні аб уздзеянні малых доз іанізуючай радыяцыі на працэсы развіцця сасудаў мікрацыркуляторнага русла яечніка, садзейнічаюць разуменню патогенезу прамянёвага паражэння органа і могуць быць выкарыстаны для тлумачэння магчымых прычын жаночага бясплоддзя, гарманальнай дысфункцыі, а таксама ў якасці нарматыўных пры аналізе уздзеяння лекавых прэпаратаў, тым самым дапамагаючы антанатальнай ахове плода.

**Галіна выкарыстання:** радыябіялогія, радыяцыённая медыцына, гінекалогія, тэраталогія.

## SUMMARY

**ABLEKOVSKAYA Oksana Nikolaevna.** Influence of ionizing irradiation in low doses on the status of blood capillaries of ovary in pre-natal period of organism's development.

**Key words:** acute and prolonged gamma-irradiation, blood capillaries, endotheliocytes, ovary, embryogenesis.

**Object and subject of study:** ovary of foetus of white rat and its blood capillaries.

**Purpose of study:** To study the character and direction of structural transformations of blood capillaries of microcirculatory channel of ovary of white rat foetus in normal conditions and at the irradiation in different periods of embryogenesis in dependence of dosage, power of gamma-irradiation and the age of foetus by the exposure moment.

**Method of study:** embryological, electronic-microscopical, stereologic and statistical analyses.

**Results and their novelty:** the peculiarities of reactions of blood capillaries and their cell structures in the ovary of 20days 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 of exchange microvessels of fetal gonad in the irradiation conditions depended on the dosage, power of gamma-irradiation and the age of developing organism by the exposure moment.

**Degree of application:** The experimental data widen the actual understanding of effect of low doses of ionizing radiation on processes of development of vessels of microcirculatory channel of ovary. They promote the understanding of radiation pathogenesis of organ and can be used for explication of probable causes of female sterility, hormonal dysfunction, as well as in capacity of normative ones at the analysis of medical preparation action, promoting thus the prenatal protection of foetus.

**Fields of use:** radiobiology, radiation medicine, gynecology, theratology.

Подписано в печать 29.07.99 г. формат 60x80 1/16.  
Усл.печ.л. 1,1. Бумага *COPY PAPER*  
Гарнитура *Roman* Тираж 100 экз.  
220072 г. Минск, ул. Сурганова 1.