

УДК 577.391:616.71—018.46

Л. А. Зотиков, Ю. А. Таций, Е. Е. Чеботарев

ИЗМЕНЕНИЕ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА В ИНТЕРФАЗЕ ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ БЫСТРЫМИ НЕЙТРОНАМИ

Процессы, происходящие в клетках на начальных этапах поражения их нейтронами, до настоящего времени остаются малоизученной областью радиобиологии, в особенности — с точки зрения их ультраструктурной характеристики. Электронномикроскопические исследования на эту тему [1, 2] выполнены главным образом на радиационно-резистентных тканях. Поэтому представляет интерес изучить ранние изменения ультраструктур клеток костного мозга и сравнить их поражаемость под влиянием нейтронного облучения, а также изучить зависимость ультраструктурных изменений от дозы облучения, типа клеток и стадии их созревания.

Методика исследований

Работа выполнена на 30 крысах-самцах весом 100—120 г. Облучение животных проводили ротационным способом в специальном контейнере на выходе горизонтального канала ядерного реактора ВВР-М при мощности дозы 9 ± 2 р/мин и средней энергии нейтронов 1,6 МэВ. Фон гамма-излучения был ослаблен фильтром из свинца, карбида бора и кадмия до 10% суммарной дозы. Дозы облучения составили 20, 215 и 300 рад соответственно трем сериям животных. Исследования проводили через 20 мин, 1, 3, 6 и 24 ч после экспозиции. Контролем служил костный мозг шести интактных крыс. Методика электронномикроскопического исследования ткани описана нами в предыдущей работе [3]. Ультраструктурная цитодиагностика проводилась на основе данных литературы [9, 11].

Результаты исследований и их обсуждение

Облучение пучком нейтронов вызвало в клетках костного мозга пестрый спектр изменений, различных по интенсивности, но качественно однотипных для определенных ультраструктур клеток. В морфологически неидентифицируемых клетках типа стволовых и бластных при нейтронном облучении в дозе 20 рад наблюдались редкие очаги расслоения, выпячивания или инвагинации, с «миелинизацией» (усилением осмиофилии) деформированных участков оболочки ядра, а также появление миелопоподобных фигур в нуклеоплазме. Произошло набухание многих митохондрий в клетках, нередко с появлением вакуолей в них, деформацией и «миелинизацией» их крист. Отмечен преходящий характер изменений в митохондриях. Облучение в дозах 215 и 300 рад вызывало такие же начальные изменения в большем числе клеток, а через 1—3 ч после облучения обнаружен некробиоз некоторых клеток (иногда — внефагоцитарный).

Ультраструктурные изменения появляются раньше всего и даже при малых дозах нейтронного облучения (20 мин, 20 рад) в клетках эритроидного, лимфоидного и миелоидного ряда (рис. 1, а), главным образом на ранних этапах созревания клеток. При увеличении дозы выраженность изменений возрастает, хотя характер этих изменений остается в основном одинаковым. Среди вызванных нейтронным облучением ультраструктурных изменений в клетках этих трех ростков также преобладают поражения структуры мембранных комплексов. Несколько менее часто наблюдаются картины расслоения, «миелинизации», выпячивания и разрывов оболочки ядра, иногда также с продукцией миелопоподобных фигур в нуклеоплазму или — очень редко — в межклеточные пространства (рис. 1, б). Наиболее распространены феномены своеобразного вздутия или «слушивания» участков плазматической мембраны с последующим расслоением и «миелинизацией» этих мембранных образований и отторжением их в межклеточные пространства (рис. 2, а, б). Наблюдалась вакуолизация многих митохондрий с образованием в митохондриальных вакуолях миелопоподобных фигур, а также рас-

слоение и «миелинизация» мембран цитоплазматических гранул промиелоцитов и миелоцитов. Нередко происходила мелкоочаговая конденсация диспергированного хроматина, причем в формах, нетипичных для того или иного типа клеток, усиление конденсации маргинального или перинуклеолярного хроматина клеток на ранних стадиях их созревания. Встречались молодые клетки с гиперконденсацией участков нуклеолонемы, очень редко — с ее фрагментацией или сегрегацией ядрышка.

Выраженность и распространенность ультраструктурных феноменов поражения зависит от дозы и времени после облучения, а также от стадии созревания клеток. При малых дозах они обычно являются преходящими, с полным восстановлением ультраструктуры клеток в течение суток. Раньше поражаются наиболее молодые клетки типа промиелоцитов, ранних миелоцитов, проэритробласты, базофильные эритробласты и некоторые формы лимфоцитов. Клетки типа метамиелоцитов и зрелые гранулоциты, а также поздние формы клеток эритроидного ряда и немногие лимфоциты изменяются лишь при высоких дозах облучения и в поздние сроки, или вообще не изменяются. Раньше всего в клетках поражаются липопротеидные мембраны ядра, митохондрий и плазматической оболочки. Неядрышковые гранулярные рибонуклеопротеидные структуры ядра и рибосомы смещаются, приобретая атипичное для данной клеточной формы расположение, но не претерпевая сами по себе видимых структурных изменений, за исключением перихроматиновых гранул, которые становятся более «рыхлыми». Наиболее устойчивыми к действию радиации оказались мембраны эндоплазматической сети и аппарата Гольджи.

Нейтронное облучение в дозе 215 и 300 рад вызывало быстро наступающий фагоцитоз и некроз миелоидных, эритроидных и лимфоидных элементов главным образом внутри фагоцитирующих ретикулярных клеток, а нередко и внефагоцитарную гибель клеток. Некроз фагоцитированных и «свободнолежащих» клеток начинается с пикноза хроматина ядра и протекает чаще всего по типу «апоптоза» [13], когда ультраструктура органоидов цитоплазмы довольно долго сохраняется неизменной или мало измененной, даже при сильно выраженных признаках некроза ядер. К исходу суток большие дозы облучения вызвали почти полное исчезновение молодых элементов всех трех ростков из ткани костного мозга.

Плазмциты, эндотелиальные и жировые клетки почти не реагировали в течение 24 ч на нейтронное облучение в избранных дозах.

Клетки мегакариоцитарного ряда также были устойчивы к действию реакторного облучения. Лишь через 3 ч после облучения при высоких дозах было обнаружено некоторое расширение цистерн демаркационной системы цитоплазмы и появление в них и в вакуолях, не относящихся к этой системе, хлопьевидных и миелиноподобных масс и клубочков; отмечалась также линейно-очаговая «миелинизация» мембранных структур цитоплазмы и оболочки ядра. Нередко встречались атипичные, причудливые ядра с деформированными ядрышками, имеющими тенденцию к сегрегации. Явлений некроза и фагоцитоза мегакариоцитов или изменений их гранул, митохондрий и плазматической оболочки не наблюдалось.

Ретикулярные клетки уже через 1—3 ч (при дозе 20 рад) и через 20 мин (при дозах 215 и 300 рад) реагировали удлинением клеточных отростков, постепенно усиливающих ветвление между клетками костного мозга. Так же быстро возрастала и их фагоцитарная активность. В ядрах этих клеток все чаще попадались ядерные тельца разной формы, изредка — очаговые выпячивания мембран оболочки ядра. В цитоплазме некоторых ретикулярных клеток наблюдались отложения масс гликогена.

Многие авторы пытаются связать начальные эффекты радиационного поражения с какими-либо ультраструктурами клетки [12, 14]. Ряд таких попыток выполнен и на радиационно-критических тканях, в частности — на гемопоэтической [10, 16]. Однако, дискуссия относительно основных макромолекулярных и органоидных объектов начального радиационного поражения клеток продолжается [5, 6, 8], и совершенно открытым остается вопрос о начальных внутриклеточных субстратах нейтронного поражения [1, 2].

По нашим данным, при облучении быстрыми нейтронами более всего поражаются клетки эритроидного, миелоидного и лимфоидного ряда на ранних стадиях созревания.

Наименее поражаемы зрелые плазматические, мегакариоцитарные (с радиорезистентности). Облучения нейтронами являются и плазматической оболочки. Степень их поражения в процессе созревания. Разные мембраны реагируют на одну и ту же мембранные комплексы радиации. Факт может служить видоизменения мембран в клетке, зависящие от дозы облучения.

Обнаруженные изменения для нейтронного облучения. Степень их поражения в процессе созревания. Разные мембраны реагируют на одну и ту же мембранные комплексы радиации. Факт может служить видоизменения мембран в клетке, зависящие от дозы облучения.

Вопрос о возможной радиации мембран (в особенности радиации мембран [15]), особенно, что эти картины скорей всего являются альдегидом. Структура костного мозга, фиброциты очень редко. По-видимому, что дает возможность поражающими влияниями является своеобразным «раз-

1. Андрианов В. М., Чеботарев Е. Е. Активности клеточных структур при облучении. — Радиобиология, 1978, 18, № 3, с. 359—361.
2. Андрианов В. М., Куликов В. М. Нарушений гепатоцитов и лимфоцитов. — Радиобиология, 1978, 18, № 3, с. 362—364.
3. Зотиков Л. А., Никишин Ю. А. Структура и функции клеток костного мозга. — Радиобиология, 1978, 18, № 3, с. 365—367.
4. Комиссарчик Я. Ю. Структура и функции клеток костного мозга. — Радиобиология, 1978, 18, № 3, с. 368—370.
5. Кузин А. М. Радиобиология костного мозга. — Радиобиология, 1978, 18, № 3, с. 371—373.
6. Мантейфель В. М., Мейсман В. М. Их реакции на ионизирующее излучение. № 6, с. 884—897.
7. Саркисов Д. С., Вторицкий В. М. Радиационные внутриклеточные процессы. — М.: Наука, 1978.
8. Спитковский Д. М., Андрианов В. М. Нуклеопротенда. — М.: Наука, 1978.
9. Van Bekkum D. W., van der Pluijm G. of hemopoietic stem cells. — Radiat. Environ. Biophys., 1978, 18, № 3, с. 374—376.
10. Ben-Ishay Z., Joffey J. M. marrow. 3. Effect of sublethal doses of gamma-rays on the structure of marrow cells. p. 320—332.

тов и ми-
ного хро-
усиление
них стади-
ов нукле-

поражения
я клеток.
новлением
дые клет-
е эритро-
елые гра-
мфоциты
ообще не
ны ядра,
нуклеопро-
я данной
руктурных
лее «рых-
эндоплаз-

ций фаго-
м образом
ую гибель
с пикноза
структура
о изменен-
к большие
всех трех
в течение

акторного
жено неко-
е в них и
ых масс и
структур
ые ядра с
ий некроза
матической

мин (при
нно усили-
стала и их
ые тельца
цитоплаз-

поражения
лнен и на
]. Однако,
ов началь-
открытым
ения [1, 2].
поражаются
озревания.

Наименее поражаемы зрелые клетки костного мозга, в особенности—ретикулярные, плазматические, мегакарициты, эндотелиальные и жировые (в порядке увеличения их радиорезистентности). Основными ультраструктурными объектами начального поражения нейтронами являются липопротеидные мембраны оболочки ядра, крист митохондрий и плазматической оболочки. Эти ультраструктуры поражаются раньше всего, в наибольшем числе клеток на разных стадиях их созревания и, по-видимому, одновременно. Степень их поражения в целом зависит от дозы облучения, типа клеток и стадии их созревания. Разные мембранные структуры одной и той же клетки, очевидно, неодинаково реагируют на одну и ту же дозу нейтронного облучения, равно как и однотипные мембранные комплексы разных клеток также по-разному реагируют на облучение. Этот факт может служить выражением структурной и функциональной гетерогенности мембран в клетке, зависящей, как указывают [4], от многих факторов.

Обнаруженные изменения мембранных структур нельзя считать специфическими для нейтронного облучения, поскольку, во-первых, подобные феномены, но значительно реже возникающие, можно встретить и в интактном костном мозге, где они являются, по-видимому, следствием дистрофии и гибели части клеток по мере обновления популяции, а во-вторых, такие же изменения мембран описаны нами при гамма-облучении [3]. Следует согласиться с мнением тех авторов [7], которые полагают, что оценка специфичности клеточной реакции на тот или иной патогенный фактор должна производиться посредством выяснения характерных комбинаций поражения различных ультраструктур в каждом конкретном случае.

Вопрос о возможной артефициальной природе картин миелоноподобной дегенерации мембран (в особенности—мембран митохондрий) давно поставлен в литературе. Некоторые авторы [15], основываясь на сопоставлении разных способов фиксации, считают, что эти картины скорее всего отражают артефакты, вызываемые фиксацией ткани глутаровым альдегидом. С этим трудно согласиться. т. к., например, в нормальной ткани костного мозга, фиксированной тем же способом, подобные изменения наблюдаются очень редко. По-видимому, глутаровый альдегид таким образом фиксирует мембраны, что дает возможность проявиться нарушениям мембран, вызванным внешними поражающими влияниями (в данном случае — нейтронным облучением), т. е. он является своеобразным «разрешающим» фактором.

Л и т е р а т у р а

1. Андрианов В. М., Чеботарев Е. Е., Кулябко П. Н., Ройтер А. И. Реакция АТФ-азной активности клеточных структур печени на действие плотно- и редкоионизирующих излучений.—Радиобиология, 1975, 15, № 2, с. 185—188.
2. Андрианов В. М., Кулябко П. Н., Чеботарев Е. Е. Ультраструктурные особенности нарушений гепатоцитов крыс, облученных рентгеновыми лучами и быстрыми нейтронами.—Радиобиология, 1975, 15, № 2, с. 301—303.
3. Зотиков Л. А., Никишин Б. К., Тацкий Ю. А.—Начальные изменения ультраструктуры клеток костного мозга при гамма- и нейтронном облучении.—Радиобиология, 1978, 18, № 3, с. 359—365.
4. Комиссарчик Я. Ю. Структура и химический состав клеточных мембран.—В кн.: Структура и функции биологических мембран. М.: Наука, 1975, с. 8—25.
5. Кузин А. М. Радиобиологические проблемы, связанные с влиянием ионизирующего излучения на клеточные мембраны.—В кн.: Действие ионизирующего излучения на клеточные мембраны. М.: Атомиздат, 1973, с. 3—8.
6. Мантейфель В. М., Мейсель М. Н. Роль митохондриального аппарата лимфоцитов в их реакции на ионизирующие излучения.—Известия АН СССР, серия биол., 1965, № 6, с. 884—897.
7. Саркисов Д. С., Втюрин Б. В. Электронная микроскопия деструктивных и регенераторных внутриклеточных процессов.—М.: Медицина, 1967.—224 с.
8. Спитковский Д. М., Андрианов В. Т., Писаревский В. Н. Радиационная биофизика нуклеопротенда.—М.: Атомиздат, 1969.—176 с.
9. Van Bekkum D. W., van Noord M. J., Moat B., Dicke H. A. Attempts at identification of hemopoietic stem cells.—Blood, 1971, 38, N 5, p. 547—558.
10. Ben-Ishay Z., Joffey J. M. Ultrastructural studies of erythroblastic islands of rat bone marrow. 3. Effect of sublethal irradiation.—Laboratory Investigation, 1974, 34, N 3, p. 320—332.