

## ОСОБЕННОСТИ ПОВЕРХНОСТНОЙ АРХИТЕКТониКИ ЭРИТРОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ВНУТРИУТРОБНО ОБЛУЧЕННЫХ ДЕТЕЙ, ПРОЖИВАЮЩИХ НА РАДИОАКТИВНО ЗАГРЯЗНЕННЫХ ТЕРРИТОРИЯХ



*В динамике послеаварийного периода Чернобыльской катастрофы проведены электронно-микроскопические исследования поверхностной архитектоники эритроцитов периферической крови у детей, облученных в период внутриутробного развития и на последующих этапах онтогенеза. Установлено, что у внутриутробно облученных детей во все сроки наблюдения выявляется выраженная морфологическая перестройка эритроцитарной популяции: снижено по сравнению с контролем число дискоцитов и увеличено количество переходных, предгемолитических и дегенеративных форм. Нарушения поверхностного рельефа и формы эритроцитов крови носят стойкий характер и свидетельствуют о дестабилизации клеточных мембран.*

© Е.И. СТЕПАНОВА, О.А. ДАВИДЕНКО, В.Ю. ВДОВЕНКО,  
2006

**Введение.** Известно, что радиобиологические эффекты при действии ионизирующего излучения на клетку не сводятся только к повреждению генома. Второй критической мишенью являются плазматические и внутриклеточные мембраны [1, 2]. Ионизирующее излучение в малых дозах изменяет структурные свойства липидной фазы плазматических мембран, а в больших дозах вызывает значительные нарушения структуры их белкового компонента. При этом наиболее важным фактом считается многофазность изменений параметров, характеризующих структурное состояние мембран [3].

Универсальной моделью для оценки действия радиационного фактора на клеточные мембраны как в малых, так и больших дозах, являются эритроциты, поскольку они онто- и филогенетически связаны со многими тканями, происходящими из мезенхимы. Все это позволяет рассматривать поверхностную цитомембрану эритроцитов как наиболее доступный объект исследования, отражающий состояние клеточных мембран различных органов и систем. Данные литературы свидетельствуют о том, что дестабилизация структурно-метаболических свойств мембран эритроцитов закономерно приводит к нарушению формы и рельефа поверхности этих клеток, обуславливает их функциональную неполноценность, является причиной нарушений газотранспортной функции и нарастания гипоксии, усугубляя тем самым тяжесть основных патологических состояний [4–7]. В связи с этим при обследовании детей, проживающих в условиях длительного воздействия малых доз ионизирующего излучения, особое значение приобретает изучение структурных характеристик плазматических мембран эритроцитов.

Цель настоящей работы — с помощью метода сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) определить особенности топологии поверхностной цитомембраны эритроцитов периферической крови у детей, облученных в период внутриутробного развития и оставшихся проживать во II зоне радиоактивного загрязнения, в динамике после аварии на Чернобыльской АЭС.

**Материалы и методы.** Обследованы внутриутробно облученные дети (124 чел.), постоянно проживающие в Народичском районе Житомирской области (II зона). Исследования про-

водили в 1988, 1993, 1996, 1998, 2001 и 2003 гг. Возраст детей составлял соответственно 2, 7, 10, 12, 15 и 17 лет. В контрольную группу вошли 30 детей из экологически «чистых» регионов.

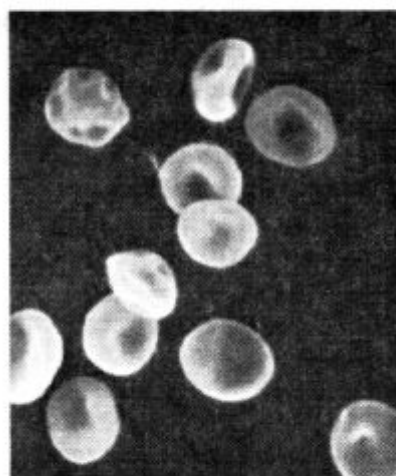
Дозы общего облучения, накопленные за период внутриутробного развития и на последующих этапах онтогенеза, колебались от 10,0 до 120 мЗв.

Кровь брали из пальца утром натощак. Образцы крови для исследования с помощью СЭМ готовили по методике Козинца и др. [8], в модификации Степановой и соавт. [9]. Для этого пробы крови фиксировали в 2,5%-ном растворе глутарового альдегида. После отмывания эритроцитарной суспензии 0,1 М фосфатным буфером (рН 7,4) осуществляли постфиксацию материала 1%-ным раствором четырехоксида осмия. После последующего отмывания клеток в фосфатном буфере проводили их обезвоживание в батарее спиртов возрастающей концентрации и ацетоне. Полученную суспензию клеток наносили на алюминиевые подложки, высушивали, напыляли ультратонким слоем золота во вращающейся напылительной установке ВУП-4. Готовые образцы просматривали в сканирующем электронном микроскопе (CamScan-4DV). Для количественной характеристики разных типов рельефа поверхности эритроцитов подсчитывали не менее 200 клеток у каждого обследованного.

Достоверность различий между сравниваемыми группами оценивали с помощью критерия Стьюдента.

**Результаты исследований и их обсуждение.** Полученные данные показали, что по типу поверхностной архитектоники эритроциты можно было подразделить на четыре группы: дискоциты, переходные, предгемолитические и дегенеративно измененной формы (рисунок).

Установлено, что в отличие от контроля у детей, облученных внутриутробно, почти половина эритроцитов была представлена последними тремя формами. Количество дискоцитов — клеток в виде двояковогнутого диска с симметричными углублениями поверхностной мембраны и гладкой клеточной поверхностью — во все сроки наблюдений было более низким, чем в контроле. Так, среди циркулиру-



Разнообразные формы эритроцитов периферической крови у ребенка К., облученного внутриутробно (дискоциты, переходные, предгемолитические и дегенеративно измененные формы эритроцитов). Ув.  $\times 2400$

ющих в сосудистом русле эритроцитов дискоциты составляли: в 1988 г. —  $48,13 \pm 2,48$  %, в 1993 г. —  $49,52 \pm 2,20$  %, в 1996 г. —  $53,49 \pm 1,29$  %, в 1998 г. —  $51,05 \pm 1,20$  %, в 2001 г. —  $48,64 \pm 1,14$  % и в 2003 г. —  $56,88 \pm 1,73$  %, в контроле —  $75,77 \pm 1,74$  % ( $p < 0,001$ ).

Количество переходных форм эритроцитов (дискоциты с единичными и множественными выростами, дискоциты с гребнем и эритроциты в виде «тутовой ягоды»), способных при определенных благоприятных физиологических условиях к обратной трансформации в дискоциты, у внутриутробно облученных детей составило соответственно: в 1988 г. —  $17,66 \pm 1,24$  %, в 1993 г. —  $22,25 \pm 1,35$  %, в 1996 г. —  $16,33 \pm 0,78$  %, в 1998 г. —  $18,57 \pm 1,11$  %, в 2001 г. —  $16,66 \pm 1,39$  % и в 2003 г. —  $21,70 \pm 0,61$  %. Во все сроки наблюдений число переходных форм эритроцитов было более высоким, чем в контроле —  $12,54 \pm 1,15$  % ( $p < 0,05-0,001$ ).

Число необратимо трансформированных, функционально неполноценных предгемолитических форм эритроцитов, к которым относятся сферические, куполоподобные формы и эритроциты в виде «спущенного мяча», в 1988 г. достигало  $29,70 \pm 2,17$  %, в 1993 г. —  $21,94 \pm 2,11$  %, в 1996 г. —  $27,23 \pm 0,96$  %, в 1998 г. —  $28,01 \pm 1,01$  %, в 2001 г. —  $30,47 \pm 1,15$  %, в 2003 г. —  $19,74 \pm 0,35$  %, что достоверно пре-

вышло данные детей контрольной группы —  $11,19 \pm 0,89 \%$  ( $p < 0,05-0,001$ ).

Дегенеративно измененные форм эритроцитов у детей основных групп составляли: в 1988 г. —  $4,51 \pm 0,68 \%$ , в 1993 г. —  $6,99 \pm 1,13 \%$ , в 1996 г. —  $2,95 \pm 0,36 \%$ , в 1998 г. —  $1,37 \pm 0,29 \%$ , в 2001 г. —  $4,23 \pm 0,73 \%$  и в 2003 г. —  $1,68 \pm 0,46 \%$ , а в контроле их число равнялось  $0,50 \pm 0,30 \%$  ( $p < 0,05-0,001$ ).

Полученные данные свидетельствуют о выраженном полиморфизме, неоднородности и перераспределении популяции красных клеток крови по типу поверхностного рельефа. Наблюдается снижение дискоцитов, являющихся наиболее оптимальной для газообмена формой эритроцитов, и увеличение количества трансформированных эритроцитов, находящихся на разных стадиях старения и дегенерации.

Нарушения рельефа поверхности и формы эритроцитов крови у детей основных групп прослеживались во все сроки наблюдений и не зависели от возраста.

Таким образом, в периферической крови детей, облученных в период внутриутробного развития и проживающих на загрязненных территориях, наблюдается снижение количества дискоцитов, которые являются наиболее оптимальной для газообмена формой эритроцитов, и увеличение числа предгемолитических и дегенеративно измененных форм.

С точки зрения микроциркуляции, кислород-транспортной функции, способности к обратной трансформации видоизмененные формы эритроцитов менее полноценны и стойки, чем дискоциты, поэтому увеличение их в циркуляции — явление неблагоприятное, указывающее на ускоренное старение эритроцитов, циркулирующих в сосудистом русле.

Нарушение формы и рельефа поверхностной цитомембраны эритроцитов является признаком дестабилизации мембран не только этих клеток, но и отражает повреждение клеточных мембран организма в целом у детей, проживающих в условиях длительного воздействия малых доз ионизирующего излучения.

**Выводы.** У детей, облученных внутриутробно, во все периоды детства по сравнению с контролем снижено количества дискоцитов,

являющихся наиболее оптимальной для газообмена формой эритроцитов, и увеличено число переходных, предгемолитических и дегенеративно измененных клеток. Изменения структуры поверхностной цитомембраны эритроцитов у детей, проживающих в условиях длительного воздействия малых доз ионизирующего излучения, указывают на дестабилизацию клеточных мембран, которая носит стойкий характер, сохраняясь во все сроки послеаварийного периода Чернобыльской катастрофы.

**SUMMARY.** In the dynamics of the Chernobyl postaccidental period the electron microscopy examinations of the superficial architectonics of peripheral blood erythrocytes have been performed in the children irradiated during the uterine development and at the following stages of the ontogenesis. The expressed morphological reorganization of the erythrocyte populations was revealed in the children irradiated in utero at all the stages of investigation: the number of diskocytes decreased and the number of transitory, predhemolytic and degenerative forms increased in comparison with the control. The disorders in the superficial relief and in the form of blood erythrocytes indicative of the disorganization and transformation of erythrocytes in the children irradiated in utero stipulate their functional inferiority.

**РЕЗЮМЕ.** В динаміці післяаварійного періоду Чернобыльської катастрофи проведено електронно-мікроскопічні дослідження поверхневої архітектоники еритроцитів периферичної крові у дітей, опромінених в період внутрішньоутробного розвитку та на наступних етапах онтогенезу. Встановлено, що у дітей, які зазнали внутрішньоутробного опромінення, на всіх етапах дослідження виявляється істотна морфологічна перебудова еритроцитарної популяції: знижено у порівнянні з контролем число дискоцитів та збільшена кількість перехідних, передгемолітичних та дегенеративних форм. Порушення поверхневого рельєфу та форми еритроцитів крові носять стійкий характер та свідчать про дестабілізацію клітинних мембран.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Поливода Б.И., Конев В.В., Попов Г.А. Биофизические аспекты радиационного поражения биомембран. — М.: Энергоатомиздат, 1990. — 155 с.
2. Барабой В.А., Орел П.Э., Карнаух И.М. Перекисное окисление и радиация. — К.: Наук. думка, 1991. — 256 с.
3. Зима Г.В., Древаль В.И. Влияние ионизирующего излучения в широком дозовом диапазоне на структурно-функциональные характеристики белковой и липидной компонент плазматических мембран

- эритроцитов // Радиационная биология. Радиоэкология. — 2000. — **40**, вып. 3. — С. 261—265.
4. Степанова Е.И., Давиденко О.А. Особенности поверхностного рельефа эритроцитов периферической крови внутриутробно облученных детей разного возраста // Мікроциркуляція та її вікові зміни : Матеріали II Міжнарод. наук. конф. — Киев, 2002. — С. 293—294.
  5. Нагасва Т.А., Балашева И.И., Саратиков А.С. и др. Метод сканирующей электронной микроскопии эритроцитов периферической крови в диагностике и лечении геморрагического васкулита у детей // Клиническая лабораторная диагностика. — 2001. — № 5. — С. 12—14.
  6. Новицкий В.В., Рязанцева Н.В., Антонечко Н.М. и др. Особенности поверхностного рельефа эритроцитов периферической крови у больных шизофренией // Клиническая лабораторная диагностика. — 2001. — № 4. — С. 43—46.
  7. Сарычева Т.Г., Стрелецкая Е.А., Козинец Г.И. Некоторые особенности эритроцитов при эритремии // Клиническая лабораторная диагностика. — 2001. — № 7. — С. 35—39.
  8. Козинец Г.И., Симоварт Ю. Поверхностная архитектура клеток периферической крови. — Таллин : Валгус, 1984. — 114 с.
  9. Степанова Е.И., Маевская З.А., Михайленко А.И. Ультраструктура поверхности лимфоцитов периферической крови у детей разного возраста // Лаб. дело. — 1984. — № 11. — С. 676—679.

Поступила 25.10.05