

ПОСТНАТАЛЬНЫЙ ОНТОГЕНЕЗ НЕЙРОНОВ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПОСЛЕ РАДИАЦИОННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

Гундарова О.П., Кварацхелия А.Г.

*«Воронежский государственный медицинский
университет им. Н.Н. Бурденко»,
г. Воронеж, Россия*

Федоров В.П.

*ФГБОУ ВО «Воронежская государственная академия спорта»,
г. Воронеж, Россия*

Высокая медико-социальная значимость раннего старения головного мозга при воздействии ионизирующего излучения обуславливает необходимость изучения в пострадикационном периоде соответствующих структурно-функциональных перестроек. Эксперимент проведен на 180 половозрелых белых беспородных крысах-самцах, подвергшихся радиационному воздействию в дозах от 10 до 100 сГр и исследованных на протяжении всей жизни с помощью нейроморфологических и статистических методик. Установлено, что при облучении животных в дозах и режимах, соответствующих таковым у ликвидаторов аварии на ЧАЭС, изменения нейронов префронтальной коры соответствуют таковым при физиологическом старении мозга. На первый план среди изменений нейронов выступают их тинкториальные свойства, отражающие все функциональное разнообразие нейронной популяции. Значимое изменение количества таких нейронов, хотя и является функциональным, может изменять активность всего головного мозга и влиять на психоневрологический статус облученных лиц.

***Ключевые слова:** ионизирующее излучение, кора головного мозга, раннее старение мозга, структурно-функциональная перестройка нейронов.*

POSTNATAL ONTOGENESIS OF CORTICAL NEURONS AFTER RADIATION EXPOSURE

Gundarova O.P., Kvaratskhelia A.G.

*Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko,
Voronezh, Russia*

Fedorov V.P.

*Voronezh State Academy of Sports,
Voronezh, Russia*

The high medical and social significance of early aging of the brain under the influence of ionizing radiation makes it necessary to study the corresponding structural and functional rearrangements in the radiation period. The experiment was carried out on 180 sexually mature white mongrel male rats exposed to radiation in doses from 10 to 100 sGr and studied throughout

their subsequent lives using neuromorphological and statistical techniques. It was found that the irradiation of animals in doses and modes corresponding to those of the liquidators of the Chernobyl accident, the revealed changes in the neurons of the prefrontal cortex practically correspond to those with physiological aging of the brain. Among the changes in nerve cells, their tinctorial properties come to the fore, reflecting the entire functional diversity of the neural population. A significant change in the number of such neurons, although functional, can change the activity of the entire brain and affect the neuropsychiatric status of irradiated individuals.

Keywords: *ionizing radiation, cerebral cortex, early aging of the brain, structural and functional restructuring of neurons.*

Введение. Возрастная структурно-функциональная перестройка головного мозга человека и животных при физиологическом старении достаточно подробно представлена в специальной литературе. Показано, что старение мозга сопровождается уменьшением его массы, истончением коры больших полушарий и мозжечка и различной степени выраженности атрофическими процессами. При этом наибольшие структурные изменения выявляются в префронтальной области коры, проявляющиеся в виде атрофии серого и белого вещества, а также снижения количество нейронов на площади ввиду их возрастной дегенерации. Отчетливо выражена возрастная структурно-функциональная перестройка нейронов также в гиппокампе и мозжечке [1, 5].

После Чернобыльской радиационной аварии у ликвидаторов ее последствий и пострадавшего населения стали выявляться различные психоневрологические нарушения, сохраняющиеся в течение всей жизни и приводящие к утрате работоспособности, снижению когнитивных функций, ранней инвалидизации и преждевременному старению [3, 4]. Высокая медико-социальная значимость таких нарушений деятельности центральной нервной системы обуславливает необходимость выявления соответствующих морфологических эквивалентов. Однако исследование морфологических изменений мозга при радиационном воздействии у человека в принципе невозможно, а немногочисленные случаи его радиогенной гибели отягощены целым каскадом вторичных изменений, связанных с сопутствующими облучению факторами, патогенезом и формой острой лучевой болезни, лечебными и диагностическими процедурами, психоэмоциональным состоянием пострадавшего и т.д. [3, 4]. В связи с этим радиационно-индуцированные изменения в головном мозге исследуют в экспериментах на лабораторных животных [2, 3].

Цель исследования. Исследовать динамику радиационно-индуцированных изменений нейронов коры больших полушарий головного мозга на протяжении всего пострадиационного периода жизни.

Материал и методы. Исследование выполнено на белых беспородных крысах-самцах (n – 180, возраст к началу эксперимента – 4 мес.), подвергшихся общему облучению γ -квантами ^{60}Co в дозах 10; 20; 50 и 100 сГр с мощностью дозы радиационного воздействия 50 сГр/ч. Кору больших

полушарий (поля RA^s и FP_p) забирали с соблюдением правил биоэтики через сутки, 6, 12, 18 и 24 месяца после воздействия и фиксировали в растворе Бекера и пропаноле, а также замораживали в твердой углекислоте. Каждой экспериментальной группе соответствовал адекватный возрастной контроль. На обзорных срезах, окрашенных гематоксилин-эозином и кризильвиолетом по Нисслию подсчитывали количество нейронов в поле зрения микроскопа и среди них – находящиеся в различном функциональном состоянии (покой – нормохромные), (возбуждение – светлые, гипохромные), (торможение – темные, гиперхромные), а также с признаками альтерации (пикноморфные и клеточные тени) в процентах от всей нейронной популяции. Суммарный белок в нейронах выявляли по Бонхегу, а нуклеиновые кислоты (цитоплазматическую и ядрышковую РНК, ядерную ДНК) – по методу S.K. Shea. На криостатных срезах по общепринятым методикам выявляли активность основных окислительно-восстановительных ферментов (СДГ, ЛДГ и Г-6-ФДГ). Морфометрические показатели структурных составляющих нервных клеток (цитоплазма, ядро, ядрышко) с последующим расчетом ядерно-цитоплазматического и ядрышко-ядерного индексов, а также содержание в нейронах суммарного белка, нуклеиновых кислот и продуктов гистохимических реакций при выявлении дегидрогеназ определяли с помощью компьютерной программы «Image J». Анализ результатов измерений проводили параметрическими методами статистики с помощью пакетов программ Statistica 6.1, MS Excel (уровень значимости 95%). Для оценки роли каждого из воздействующих факторов (облучение, прошедшее после облучения время, совместное воздействие факторов) в изменении нейроморфологических показателей применяли регрессионный анализ. Математическую модель изменений показателей нейронов представляли уравнением регрессии: $ПН = a_0 + a_1\gamma + a_2y + a_3\gamma y + a_4\gamma^2 + a_5y^2 + a_6\gamma^3 + a_7y^3$, где ПН – показатель нейрона; γ – доза радиационного воздействия; y – сроки после облучения; γy – взаимное влияние факторов γ и y ; γ^2 , y^2 , γ^3 , y^3 – нелинейное влияние каждого из факторов; a_0 , a_1 , a_2 , a_3 , a_4 , a_5 , a_6 , a_7 – соответствующие коэффициенты регрессии.

Результаты и обсуждение. Возрастные изменения нейронов различных отделов головного мозга лабораторных крыс описаны нами ранее [2, 3]. Здесь только отметим, что у контрольных животных в коре больших полушарий с возрастом изменялось соотношение нейронов нормо- гипо- и гиперхромного типов, уменьшался их размер, размер цитоплазмы, ядра, ядрышка и увеличивалось количество нервных клеток с альтеративными изменениями. Прослеживалась тенденция к снижению количества нейронов на площади среза, причем в моторной зоне коры это приводило к статистически значимому обеднению популяции больших пирамидных нейронов. Отмечалось также снижение в нервных клетках содержания общего белка и нуклеиновых кислот. На этом фоне энергетический обмен в головном мозге сохранял стабильность

и отмечалось даже повышение активности фермента пентозофосфатного пути окисления глюкозы (Г-6-ФДГ).

В данном исследовании установлено, что после радиационного воздействия в сенсорной зоне коры только в конце эксперимента статистически значимо снизилось количество нейронов без морфологических изменений за счет увеличения количества нейронов со сниженной функциональной активностью. Количество нервных клеток с необратимыми изменениями на протяжении всего эксперимента соответствовало таковому в возрастном контроле. В III слое моторной зоны коры (малые пирамидные нейроны) уже через сутки после радиационного воздействия снизилось количество неизмененных нервных клеток и увеличилось количество нейронов со сниженной функциональной активностью ($p < 0,05$). Через 6 мес. после начала эксперимента до 25 % увеличилось количество нейронов с повышенной функциональной активностью ($p < 0,05$). Количество нейронов с необратимыми изменениями во все сроки эксперимента практически соответствовало возрастному контролю. В V слое префронтальной коры (большие пирамидные нейроны) через сутки после облучения значительно увеличивалось количество клеток, находящихся в состоянии торможения функциональной активности (гиперхромные). Через 6 мес. наблюдения количество таких нейронов снижалось за счет увеличения количества нейронов с повышенной функциональной активностью (гипохромные). В итоге суммарное количество нейронов с измененной функциональной активностью через 18 мес. эксперимента составило 65 % популяции больших пирамидных нейронов, что статистически значимо превышало показатель возрастного контроля. Кроме этого увеличилось до 17 % количество нейронов с признаками альтерации. Однако, как правило, такие нервные клетки локализовались на площади среза, рассеянно не формировали очагов альтерации и статистически значимо не обедняли нейронную популяцию (рис. 1).

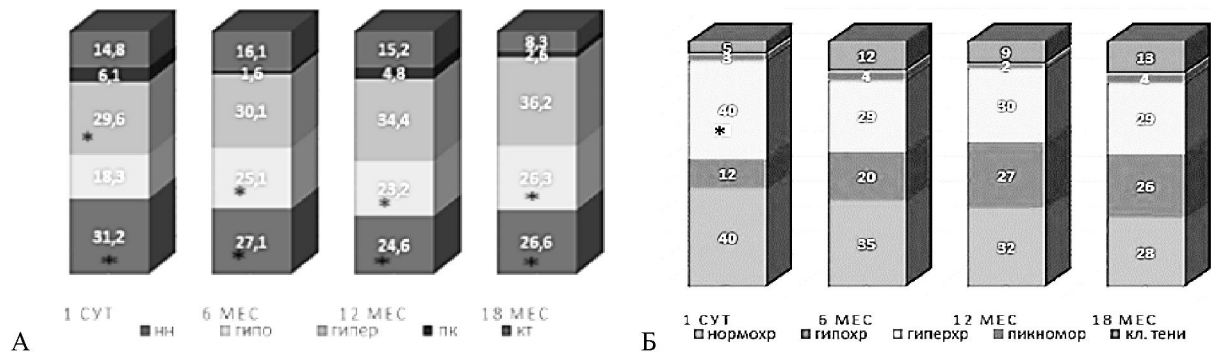


Рис. 1. Структурно-функциональная перестройка нейронов премоторной зоны коры больших полушарий головного мозга после γ -облучения в дозе 0,5 Гр; А – малые

пирамидные нейроны, Б – большие пирамидные нейроны в процентах от нейронной популяции; * - различия с возрастным контролем статистически достоверны

Таким образом, у облученных животных значимых патоморфологических изменений нервных клеток по сравнению с возрастным контролем не выявлено. Не установлена также дозовая или временная зависимость при облучении в диапазоне от 0,1 до 1,0 Гр. Во всех случаях выявлялись ундулирующие не зависящие от дозы облучения и сроков пострadiационного периода изменения соотношения функциональных типов нервных клеток. При этом наибольшие флюктуации от контрольных значений имели показатели, отражающие функциональную активность нейронов и в меньшей степени их дистрофические и дегенеративные проявления. Не выявлено статистически достоверных изменений и со стороны структурных составляющих нервных клеток (перикарион, ядро, ядрышко), а также содержащихся в них суммарного белка, ядерной ДНК, цитоплазматической и ядрышковой РНК, а также активности ферментов энергетического обмена. Изменения этих компонентов нейронов при радиационных воздействиях практически соответствовали возрастным преобразованиям. В отдельных доза-временных диапазонах изменения в нейронах приобретали пограничный характер, когда они уже не являлись нормой и в тоже время еще и не являлись патологией. Это свидетельствовало о нестабильности структурно-функциональной организации нервных клеток и напряженности их функционирования при данном воздействии, а не о радиационно-индуцированной патологии.

Однако при математическом моделировании выявлен достаточно высокий отклик ряда показателей состояния нейронов на рассматриваемые режимы радиационного воздействия. Ниже приведены регрессионные модели наиболее лабильных показателей нейронов коры больших полушарий, диагностическая значимость (R^2) и корреляция аргументов (r).

$$НХ=0,906-0,66\gamma-1,731\gamma+1,717\gamma^2+4,0492\gamma^2-1,142\gamma^3-2,374\gamma^3; (r=0,48; R^2=0,72)$$

$$АН= 0,296+0,354\gamma+2,252\gamma-0,237\gamma^2-5,379\gamma^2+3,413\gamma^3; (r=0,56; R^2=0,73).$$

$$ГН= 0,793-0,585\gamma+0,192\gamma\gamma+0,372\gamma^2-0,106\gamma^2; (r=0,18; R^2=0,42).$$

$$ГХН= 0,303+1,323\gamma+ 0,512\gamma-3,682\gamma^2-0,764\gamma^2+2,527\gamma^3; (r=0,37, R^2=0,61).$$

$$ОБН=0,76-1,28\gamma-0,57\gamma-0,18\gamma\gamma+2,78\gamma^2+1,56\gamma^2-1,47\gamma^3-1,09\gamma^3; (r=0,43; R^2=0,67).$$

$$\gamma РНК=0,927-2,438\gamma+5,87\gamma^2-3,747\gamma^3; (r=0,56; R^2=0,73).$$

$$\gamma РНК=0,741-0,95\gamma+0,426\gamma+2,08\gamma^2-1,65\gamma^2-1,248\gamma^3+1,12\gamma^3; (r=0,35; R^2=0,59).$$

$$\gamma ДНК= 0,871-0,16\gamma-1,99\gamma+4,9799\gamma^2+0,1499\gamma^3-3,241\gamma^3, (r=0,54; R^2=0,73).$$

Из уравнений регрессии следует, что количество нейронов нормохромных (НН) и с альтерацией (АН) зависит от дозы облучения, но время после воздействия оказывает более сильное влияние на данный показатель. Количество гипохромных (ГН) и гиперхромных (ГХН) нейронов больше зависело от дозы облучения, чем от прошедшего времени. Радиационное воздействие оказывает более сильное влияния на содержание общего белка в нейронах (ОБН), а также на динамику объема ядер. В тоже

время на содержание РНК в цитоплазме и ДНК в ядрах (*цРНК и яДНК*) большее влияние оказывало время пострадиационного периода. В целом радиационный фактор вызывал отклик у большинства нейроморфологических показателей, но выявляемые изменения со временем репарировались. Вполне вероятно, что определенная часть изменений оставалась не репарируемой и могла накапливаться, что и приводило к отдельным стохастическим экстремумам.

Заключение. При морфологическом исследовании головного мозга животных, облученных в дозах и режимах, соответствующих таковым у ликвидаторов аварии на ЧАЭС, выявленные изменения практически соответствуют таковым при физиологическом старении мозга. На первый план среди изменений нервных клеток выступают их тинкториальные свойства, отражающие все функциональное разнообразие нейронной популяции (покой, возбуждение, торможение функциональной активности). Значимое изменение количества таких нейронов, хотя и является функциональным, может изменять активность всего головного мозга и влиять на психоневрологический статус облученных лиц.

Литература

1. Грибанов, А. С. Старение головного мозга человека: морфофункциональные аспекты / А. С. Грибанов, Ю. С. Джос, И. Н. Дерябина, И. С. Депутат // Журнал неврологии и психиатрии. 2017. № 1-2. С. 3–7.
2. Гундарова, О. П. Мозжечок и радиация / О. П. Гундарова, В. П. Федоров, А. Г. Кварацхелия. М. : Научная книга, 2021. 312 с.
3. Ушаков, И. Б. Малые радиационные воздействия и мозг / И. Б. Ушаков, В. П. Федоров. Воронеж : Научная книга, 2015. 536 с.
4. Федоров, В. П. Церебральные эффекты у ликвидаторов Чернобыльской аварии / В. П. Федоров, И. Б. Ушаков, Н. В. Федоров. Саарбрюккен : LAP LAMBERT Academic Publishing, 2016. 390 с.
5. Фролькис, В. В. Старение мозга / В. В. Фролькис, В. В. Безруков, Л. Н. Богацкая [и др.]. Л. : Наука, 1991. 279 с.