

О.П. Гундарова¹, В.П. Федоров², А.Г. Кварацхелия¹, Н.В. Маслов¹

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ВЕРИФИКАЦИЯ ЭКСТРАПИРАМИДНЫХ НАРУШЕНИЙ ПРИ РАДИАЦИОННЫХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ

¹ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко», г. Воронеж, Россия

²ФГБОУ ВО «Воронежская государственная академия спорта», г. Воронеж, Россия

Ранним проявлением радиационного воздействия у пострадавших лиц являлись экстрапирамидные нарушения. Клинические их проявления у человека достаточно хорошо изучены, однако морфологические эквиваленты неврологических нарушений остаются практически не выясненными. В связи с тем, что изменения в головном мозге человека, после воздействия ионизирующего излучения изучать невозможно, проведено экспериментальное и математическое их моделирование на лабораторных крысах. Установлено, что количество нейронов с альтерацией существенно не отличалось от контроля, располагались они рассеянно и не формировали патологических очагов. Снижалось количество неизменных нейронов и увеличивалось количество нейронов с повышенной или сниженной функциональной активностью. Такие изменения являлись, как правило, преходящими, но значимое изменение их количества могло влиять на функциональную активность двигательных центров. Математическое моделирование выявило высокий отклик нейронов на облучение, но возникающие изменения быстро репарировались. Возможно, что часть их сохранялась и, накапливаясь, проявлялась стохастическими экстремумами. Это согласуется, с ундулирующим, прегредидентным и трудно поддающимся лечению, течением неврологических заболеваний.

Ключевые слова: ионизирующее излучение, экстрапирамидные центры, нейроны, радиационно-индуцированные изменения.

O.P. Gundarova¹, V.P. Fedorov, A.G. Kvaratskhelia, N.V. Maslov

MORPHOLOGICAL VERIFICATION OF EXTRAPYRAMIDAL DISORDERS IN RADIATION EXPOSURE

The early manifestation of radiation exposure in the affected individuals was extrapyramidal disorders. Their clinical manifestations in humans have been well studied, but the morphological equivalents of neurological disorders remain virtually unexplained. Due to the fact that it is impossible to study changes in the human brain after exposure to ionizing radiation, experimental and mathematical modeling of them was carried out on laboratory rats. It was found that the number of neurons with alterations did not differ significantly from the control, they were scattered and did not form pathological foci. The number of unchanged neurons decreased and the number of neurons with increased or decreased functional activity increased. Such changes were, as a rule, transient, but a significant change in their number could affect the functional activity of the motor centers. Mathematical modeling revealed a high response of neurons to radiation, but the resulting changes were quickly repaired. It is possible that some of them persisted and, accumulating, manifested themselves in stochastic extremes. This is consistent with the undulating, progressive and difficult-to-treat course of neurological diseases.

Keywords: *ionizing radiation, extrapyramidal centers, neurons, radiation-induced changes.*

Среди множества возникающих в последнее время медико-социальных проблем значительное место занимают последствия воздействия на биоту и человека ионизирующего излучения. Это связано с возможностью аварий на ядерных промышленных объектах, а также с реальной угрозой применения ядерного оружия [1, 2, 5]. В многочисленных публикациях данного направления показано, что радиационные воздействия вызывали ранние нарушения работоспособности и целый каскад соматических и психоневрологических проявлений, которые сохранялись у пострадавших на протяжении всей последующей жизни и имели ундулирующее, трудно поддающееся лечению прегрессирующее течение [3, 4]. Однако остаются практически не изученными радиационно-индуцированные морфологические изменения в головном мозге, что затрудняет диагностику и лечение заболеваний поставарийного периода. Недостаточное внимание в этом плане уделялось более древним в филогенетическом плане центрам экстрапирамидной системы.

Цель исследования. Исследовать морфологические изменения нейронов подкорковых двигательных центров при воздействии ионизирующего излучения в дозах, эквивалентных таковым у ликвидаторов последствий аварии на четвертом энергоблоке Чернобыльской АЭС.

Материал и методы. Исследование выполнено на 120 белых беспородных крысах-самцах в возрасте 4 мес., которых подвергали общему однократному облучению γ -квантами ^{60}Co в дозе 50 сГр. Каждой экспериментальной группе соответствовал адекватный возрастной контроль. Протокол эксперимента составлен в соответствии с Приказом МЗ РФ № 267 от 19.06.2003, об утверждении правил лабораторной практики. Животных выводили из эксперимента в первые часы (1,7 и 5 ч) и дни (1, 3, 7, 14 и 30 сут) после начала эксперимента. Хвостатое ядро и червь мозжечка фиксировали в растворе Бекера и пропанола, а также замораживали в твердой углекислоте. После стандартных процедур готовили гистологические срезы и по метод Ниссля окрашивали нервные и глиальные клетки крезилвиолетом. Общий белок нейронов выявляли по Бонхегу, а нуклеиновые кислоты (ядерную ДНК, цитоплазматическую и ядрышковую РНК) по методу S. Shea. Активность основных окислительно-восстановительных ферментов (СДГ, ЛДГ и Г-6-ФДГ) выявляли на криостатных срезах по традиционным в гистохимии методикам. На препаратах, окрашенных по Ниссля, подсчитывали в поле зрения микроскопа количество нейронов, а среди них - количество неизмененных, нейронов в состоянии повышенной или сниженной функциональной активности, а также нейронов с альтерацией в процентах от всей популяции. Для измерений площади сечения нейронов, их перикариона, ядра и ядрышка, а также оптической плотности продуктов гистохимических реакций использовали «Image J».

Описательную статистику результатов измерений с вычислением средних и доверительных интервалов проводили с помощью пакетов программ Statistica 6.1, MS Excel 2007 при уровне значимости 95% с последующим математическим моделированием значений полученных показателей. Модель динамики изменений состояния нейронов описывали уравнением регрессии:

$$П = k_0 + k_1f + k_2t + k_3ft + k_4f^2 + k_5t^2 + k_6f^3 + k_7t^3.$$
 ($П$ – показатель, f – воздействующий фактор; t – время после воздействия; ft – совместное воздействие; f^2, t^2, f^3, t^3 – нелинейное воздействие; k_0, k_1, k_2 и т.д. – коэффициенты регрессии).

Результаты и обсуждение. Возрастные изменения нейронов головного мозга описаны нами ранее [1, 2]. Здесь только отметим, что нейронная популяция подкорковых двигательных центров отличалась выраженным полиморфизмом. Наряду с неизменными и находящимися в состоянии возбуждения или торможения функциональной активности нейронами до 10 % клеток популяции имели альтернативные изменения. Наличие таких нейронов у контрольных животных надо учитывать при анализе результатов эксперимента.

После воздействия ионизирующего излучения количество неизмененных нейронов ганглионарного слоя коры мозжечка составляло 40,7 % всей популяции. Увеличилось количество нейронов, находящихся в повышенном функциональном состоянии ($p < 0,05$). Через 5 ч количество неизмененных нейронов значимо снизилось и до 50 % популяции увеличилось количество нейронов, находящихся в состоянии торможения функциональной активности. Через сутки количество нейронов со сниженной функциональной активностью значимо снизилось, а количество неизмененных и клеток с признаками альтерации увеличилось. Через 3 суток наблюдения вновь снизилось количество неизмененных нейронов, а увеличилось их количество с торможением функциональной активности ($p < 0,05$). Через 7 суток нормализовалось количество неизмененных, а также нейронов с торможением функциональной активности. В последующие сроки наблюдения (14 и 30 сут) соотношение функциональных типов грушевидных нейронов практически не отличалось от возрастного контроля. Примечательно, что количество нейронов ганглионарного слоя коры мозжечка с альтерацией во все сроки наблюдения не превышало уровень контроля (рис. 1А).

Сразу после воздействия ионизирующего излучения функционально значимых патоморфологических изменений нейронов хвостатого ядра не выявлялось. Через 5 ч наблюдения до 27 % увеличилось количество нейронов, находящихся в состоянии торможения функциональной активности. Снижалось также количество неизмененных нейронов и данный показатель оставался меньше контроля до окончания эксперимента (рис. 1Б).

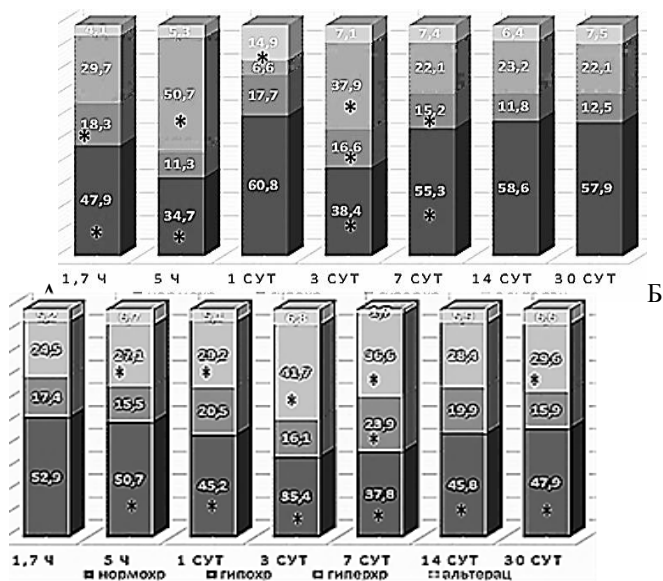


Рис.1. Соотношение функциональных типов грушевидных клеток мозжечка (А) и хвостатого ядра (Б) в посттравматическом периоде. На диаграммах снизу вверх обозначено: нейроны неизменные, в состоянии возбуждения и торможения функциональной активности, с признаками альтерации. * – различия с контролем статистически значимы

Количество нейронов с повышенной функциональной активностью повышалось только через 7 суток наблюдения, а в остальные сроки практически не отличалось от контрольных значений. Начиная с 5 ч и до окончания эксперимента количество нейронов в состоянии торможения функциональной активности было значимо повышено. Примечательно, что количество нейронов с альтерацией во все сроки наблюдения, также как и в мозжечке, существенно не отличалось от такового у контрольных животных (рис. 1Б).

Не выявлено значимых изменений и при исследовании морфометрических показателей основных структурных компонентов нервных клеток (цитоплазма, ядро, ядрышко), а также содержащихся в них общего белка, ядерной ДНК, цитоплазматической и ядрышковой РНК. Только в отдельные сроки наблюдения изменения заметно отличались от уровня контроля, но еще и не являлись патологией. Хотя такие пограничные изменения являлись преходящими, они свидетельствовали о нестабильности структурной организации нейронов экстрапирамидной системы и напряженности их функционирования.

Состояние энергетического обмена в нейронах экстрапирамидной системы после облучения изменялось не однонаправленно. Из рис. 2 А следует, что в грушевидных клетках после облучения снижалась активность ЛДГ и Г-6-ФДГ. Активность ЛДГ оставалась сниженной до 3 сут наблюдения, а в последующие сроки соответствовала контролю. Активность Г-6-ФДГ через 5 ч после облучения существенно возрастала ($p < 0,05$), а в последующем соответствовала контролю. Через сутки после облучения активность СДГ значимо снижалась, а после 7 сут соответствовала контролю. В хвостатом ядре сразу после облучения активность ферментов не изменялась. Через 5 ч

активность ЛДГ повышалась и через 14 суток превышала контроль на 35 %, но к окончанию эксперимента соответствовала уровню контроля. Активность Г-6-ФДГ до 14 сутки не изменялась, а в последующем ($p < 0,05$). Сукцинатдегидрогеназа на протяжении всего эксперимента практически не изменялась. Таким образом, после облучения кратковременно повышалась активность ферментов анаэробного пути окисления глюкозы, что свидетельствовало о напряженности энергетического обмена нейронов в ранние сроки пострадиационного периода.

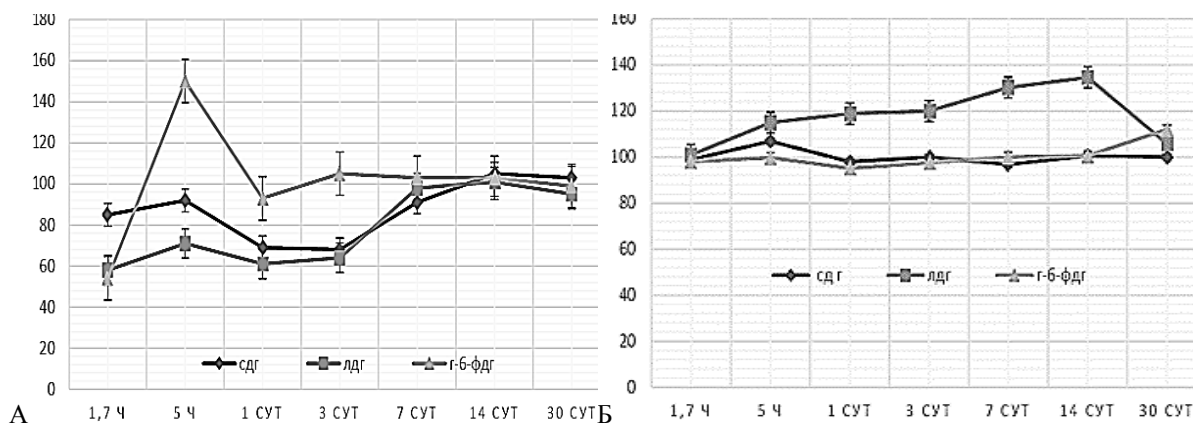


Рис.3. Изменения активности окислительно-восстановительных ферментов нейронов мозжечка (А) и хвостатого ядра (Б) в пострадиационном периоде. По оси абсцисс – сроки наблюдения, по оси ординат – активность ферментов в % к контролю.

При математическом моделировании результатов морфологического исследования получено семейство уравнений регрессии, из которых следует, что на изменения одних показателей нейронов большее влияние оказывало облучение, а на другие – прошедшее время. При этом нейроны демонстрировали достаточно выраженный отклик на ионизирующее излучение, однако со временем возникающие изменения репарировались.

$$\text{Нейроны неизменные} = 0.9052 - 0.6631f - 1.7324t + 1.7194f^2 + 4.0493t^2 - 1.1429f^3$$

$$\text{Нейроны с альтерацией} = 0.2988 + 0.3504f + 2.2481t - 0.2351f^2 - 5.3769t^2 + 3.4403f^3$$

$$\text{Нейроны гипохромные} = 0.790589 - 0.585933f + 0.19391ft + 0.37363f^2 - 0.10841t^2$$

$$\text{Нейроны гиперхромные} = 0.30353 + 1.3239f + 0.5132t - 3.6831f^2 - 0.762t^2 + 2.5262f^3$$

$$\text{Общий белок нейронов} = 0.7565 - 1.255f - 0.5468t - 0.1749ft + 2.781f^2 + 1.561t^2 - 1.077t^3$$

$$\text{Площадь ядра} = 0,7418 - 0,9541f + 0,4268t + 2,08336f^2 - 1,6498t^2 - 1,2477f^3 + 1,1191t^3$$

$$\text{ДНК ядра} = 0.8719 - 0.1789f - 1.9938t + 4.9798t^2 + 0.1499f^3 - 3.2408t^3$$

$$РНК \text{ цитоплазмы} = 0.92482 - 2.43777t + 5.88056t^2 - 3.74604t^3$$

Примечательно, что диагностическая значимость большинства моделей было достаточно высокой, а корреляция рассматриваемых аргументов с наблюдаемыми эффектами слабой. Однако заслуживает внимание значимая флюктуация количества нейронов с измененной функциональной активностью.

Заключение. Наблюдаемые изменения нейронов, хотя и являлись стохастическими, свидетельствовали о высокой их чувствительности к ионизирующему излучению в дозах эквивалентных таковым у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС. Эти изменения вызывали определенную структурную нестабильность нервных клеток и напряженность их функционирования. Изменения количества нейронов, находящихся, как в состоянии возбуждения, так и торможения функциональной активности, хотя и являлись обратимыми, могли существенно влиять на функционирование всей нервной системы. В пострadiационном периоде большая часть изменений репарировалась, а оставшиеся накапливались и со временем проявлялись различными стохастическими экстремумами. Это предположение согласуется с длительным ундулирующим течением психоневрологических расстройств у лиц, подвергшихся воздействию аварийно-повышенного радиационного фона.

Литература

1. Гундарова, О.П., Федоров В.П., Кварацхелия А.Г. Мозжечок и радиация. Москва: Научная книга, 2021. – 312 с.
2. Ушаков, И.Б., Федоров В.П. Малые радиационные воздействия и мозг. Воронеж: Научная книга, 2015. – 536 с.
3. Ушаков, И.Б., Федоров В.П., Померанцев Н.А. Радиация. Авиация. Человек (Очерки практической радиобиологии человека). – Москва: ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, 2024. – 388 с.
4. Федоров, В.П., Ушаков И.Б., Федоров Н.В. Церебральные эффекты у ликвидаторов Чернобыльской аварии. Саарбрюккен: LAP LAMBERT Academic Publishing, 2016. – 390 с.
5. Федоров, В.П. Риск церебральных нарушений при пролонгированных малых радиационных воздействиях // Вестник Российской Военномедицинской академии. – 2018. – Т. 63. № 3. – С. 111-113.