

ВЛИЯНИЕ РАДИАЦИОННОГО ФАКТОРА В НЕДЕТЕРМИНИРОВАННЫХ ДОЗАХ НА МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ НЕЙРОНОВ СЕНСОМОТОРНОЙ КОРЫ ПОЛУШАРИЙ БОЛЬШОГО МОЗГА КРЫС

Н. В. Сгибнева, Н. В. Маслов, О. П. Гундарова,
А. Г. Кварацхелия, Н. В. Бельских*

ГБОУ ВПО «Воронежская государственная медицинская академия им. Н. Н. Бурденко»
Минздрава России, г. Воронеж, Россия

*Военный учебно-научный центр Военно-воздушных сил «Военно-воздушная академия им. проф. Н. Е. Жуковского и Ю. А. Гагарина», г. Воронеж, Россия

Приводятся результаты исследования влияния ионизирующего излучения в дозах, не вызывающих детерминировано обусловленных последствий, на нейроны V слоя сенсомоторной зоны коры полушарий большого мозга крыс. Наиболее объективная оценка результатов получена при помощи математического моделирования с использованием регрессионного анализа.

Ключевые слова: нейроны, сенсомоторная зона, кора полушарий большого мозга, ионизирующее излучение, малые дозы, метаматематическое моделирование.

© The authors, 2013

The Influence of Radiation in the Non-Deterministic Doses on Morphometric Characteristics of the Sensorimotor Cortical Neurons

The results of research of influence of ionizing radiation in doses do not cause deterministic conditional effects on neurons V layer sensorimotor zone of the cerebral cortex of the brain are performed. The most objective assessment of the results received with the help of mathematical modeling using regression analysis.

Keywords: neurons, sensorimotor zone, cortex of hemispheres of the brain, ionizing radiation, low doses, mathematical modeling.

Введение

В настоящее время у радиобиологов нет единого мнения о существовании пороговой дозы ионизирующего излучения для нервной системы, после воздействия которой возможно появление реакции на облучение [4, 12, 8, 11, 1, 5]. Проведенные эксперименты не всегда дают однозначные результаты в силу различных оценочных критериев.

Одним из наиболее весомых факторов лучевого поражения является гибель клеток. Для большинства тканей поражение незначительного количества клеток, не является критичным, так как существует резервный клеточный запас, который может заменить погибшие. Однако структурно-функциональная организация нервной ткани и в частности коры головного мозга такова, что гибель даже нескольких отдельных нейронов приводит к нарушениям, последствия, которых могут проявляться на организменном уровне. Эффекты гамма-облучения в коре полушарий головного мозга наиболее вероятно проявляются в виде напряжения различных структур нейронов, что выявляет-

ся в дальнейшем неспецифическими изменениями, на основе которых в определенных условиях возникают патологические процессы, приводящие к их гибели [7, 3, 10].

Так в эксперименте на собаках в ЦНС отмечались выраженные изменения, наиболее отчетливо проявляющиеся в коре больших полушарий и гипоталамусе. Отмечалось увеличение как количества измененных нервных клеток, так и степень выраженности этих изменений. Важно отметить нарастание изменений после прекращения облучения [2].

Материал и методы исследования

Неспецифическая реакция нервных клеток на гамма-облучение в низких дозах изучалась в ходе эксперимента, который был проведен на 96 белых беспородных крысах-самцах массой 210 ± 10 г, в возрасте 4 месяца. Облучение проводилось γ -фотонами ^{60}Co однократно и фракционировано (в течение рабочей недели) в дозе 50 сЗв, мощность дозы облучения находилась в диапазоне от 50 до 660 сГр/ч. Материал забирали на 1 сут, 6, 12 и

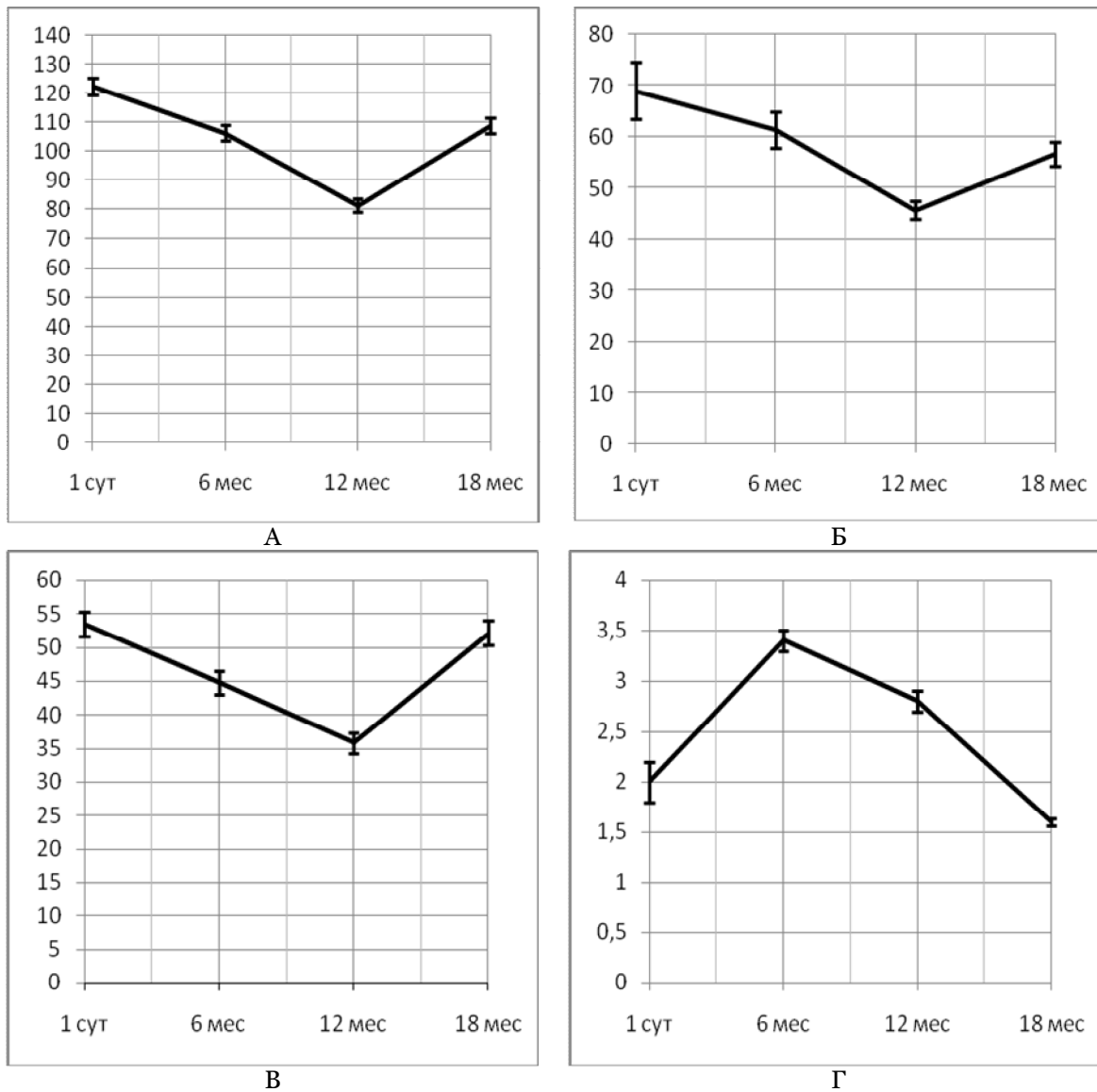


Рис. 1. Возрастная динамика площади сечения нейронов (А), цитоплазмы (Б), ядра (В), ядрышка (Г) нейронов V слоя сенсомоторной коры интактных крыс. Обозначения: по оси абсцисс – сроки исследования, по оси ординат – площадь в мкм².

18 мес пострадиационного периода. Протокол эксперимента в разделах выбора, содержания животных и выведения их из опыта составлен в соответствии с принципами биоэтики и правилами лабораторной практики (2003). Материалом служили нейроны V слоя сенсомоторной зоны коры полушарий большого мозга (поле FPa). После фиксации и соответствующего окрашивания измеряли площадь сечения нервных клеток, их цитоплазмы, ядра и ядрышка при помощи компьютерного комплекса анализаторов изображений на базе Leica DMR с использованием программы «Image J» 36 b Wayne Rosband National Institutes of Health, USA. Результаты обрабатывались статистически.

Результаты и их обсуждение

У животных в группе биологического контроля на протяжении сроков исследования отмечены однонаправленные изменения площади сечения нейронов, их цитоплазмы, ядра и ядрышка.

Наиболее заметные изменения (рис. 1) наблюдались через 12 мес после начала эксперимента в виде уменьшения значений вышеперечисленных параметров. Это свидетельствует о наступлении наиболее активного периода в жизни животных, когда задействуется большинство ресурсов нервной клетки. Подтверждением этому служит преобладающая зависимость между размерами цитоплазмы, яд-

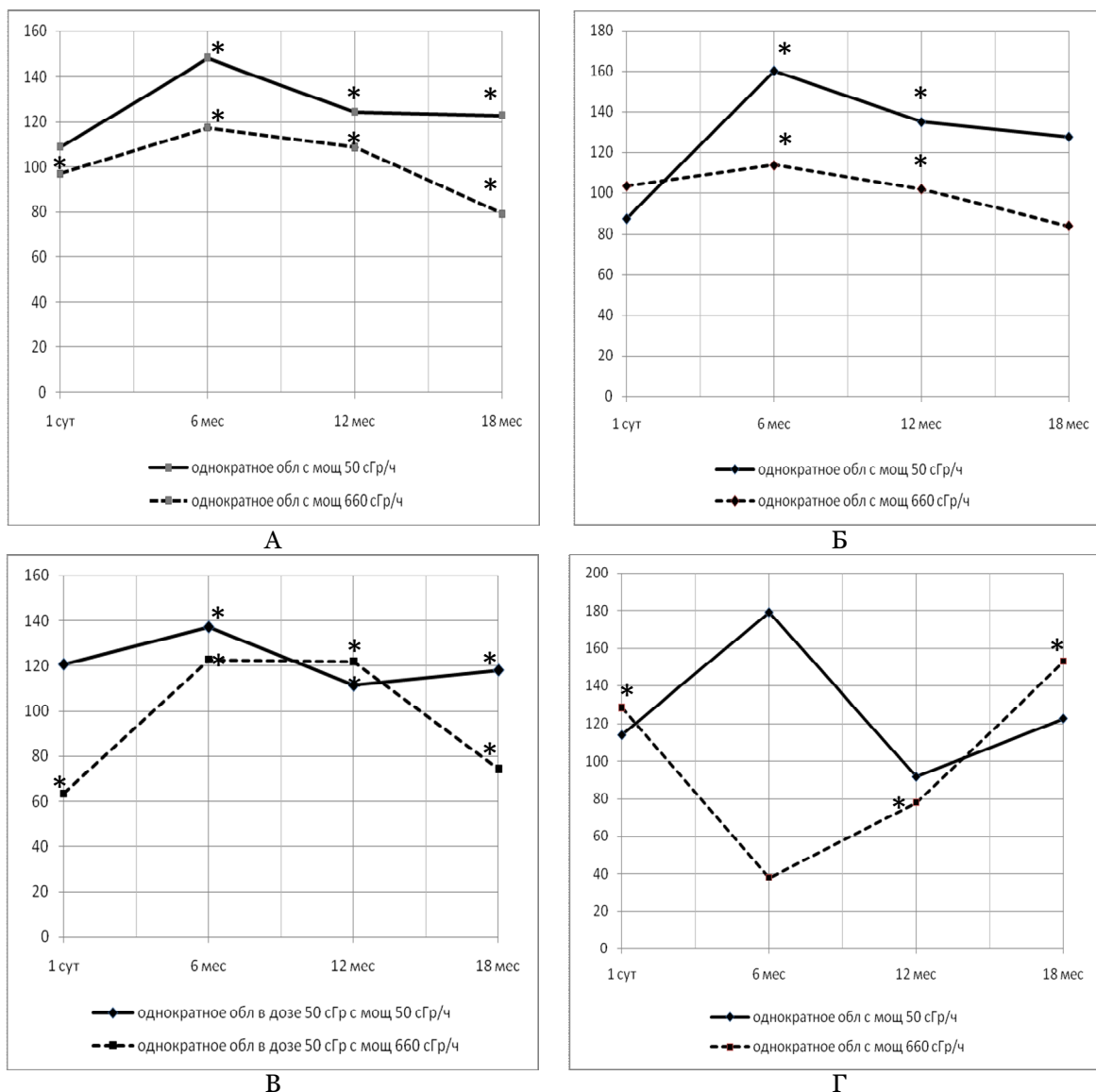


Рис. 2. Динамика площади сечения нейронов (А), цитоплазмы (Б), ядра (В), ядрышка (Г) нейронов после однократного облучения в дозе 50 сЗв с мощностью дозы 50 и 660 сГр/ч. Обозначения: по оси абсцисс – сроки пострадиационного периода, по оси ординат – показатели в % к контролю, * – показатели, достоверно отличающиеся от контроля ($p < 0,05$).

ра и ядрышка. К концу срока наблюдения практически все исследованные параметры приближаются к исходным значениям.

Состояние ядрышек на протяжении эксперимента сохраняет диаметрально противоположные значения размерам цитоплазмы и ядра. Максимальное увеличение их размеров отмечается к 6 мес. наблюдения, что является своеобразной компенсаторной реакцией на возросшую потребность нейронов в структурных компонентах (рис. 2).

Современный взгляд на проблему малых радиационных воздействий учитывает принцип системного ответа клетки на повреждение радиационных

мишеней (принцип регуляции клеточного гомеостаза) [5]. Для более объективной оценки полученных результатов нейроморфологического исследования показатели были подвергнуты математическому моделированию. Модель изменения показателей морфофункционального состояния нервных клеток с помощью регрессионного анализа, алгоритм которого достаточно подробно представлен в монографиях [6, 9] была представлена следующим уравнением:

$$ЗП = a_0 + a_1x + a_2y + a_3xy + a_4x^2 + a_5y^2,$$

где x – мощность облучения; y – время, после наступления, которого снимались

показания; xy , x^2 , y^2 – взаимные влияния параметров x , y и нелинейное влияние каждого из этих параметров; a_0 , a_1 , a_2 , a_3 , a_4 , a_5 – соответствующие коэффициенты регрессии; $ЗП$ – зависимый показатель. При построении регрессионных моделей учитывались только параметры для коэффициентов с уравнением значимости $p < 0.05$. В результате получено семейство уравнений регрессии для группы животных, облученных однократно в дозе 50 сЗв с различной мощностью дозы облучения.

Установлено, что размер площади сечения цитоплазмы нервных клеток зависит от всех рассматриваемых факторов, в том числе и от сочетанного действия мощности дозы облучения и времени пострадиационного периода. Такой фактор, как время оказывает более сильное влияние на изменение площади цитоплазмы, чем облучение, что подтверждено абсолютными значениями коэффициентов, которые выше значений коэффициентов при аргументе мощности дозы облучения.

Уравнение регрессии, описывающее изменение площади цитоплазмы выглядит следующим образом:

$$\begin{aligned} \text{Цитоплазма} = & 0,42484 + 1,23875x + \\ & + 1,91937y - 0,28171xy - 1,08915x^2 - \\ & - 4,92497y^2 + 3,12282y^2 \end{aligned}$$

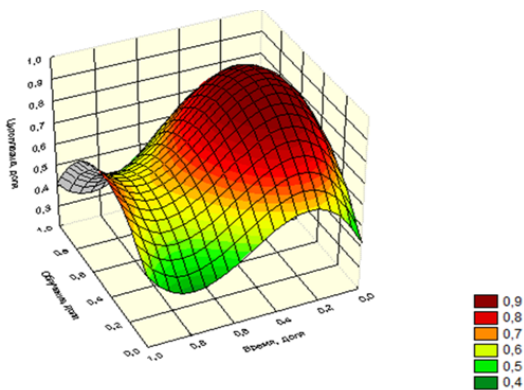


Рис. 3. Зависимость площади сечения цитоплазмы нейронов от мощности дозы облучения и времени пострадиационного периода.

Из графика (рис. 3) видно, что показатели площади цитоплазмы на протяжении сроков исследования имеют два экстремума, на образование которых влияют оба фактора. Причем время оказывает большее влияние на динамику изменения параметров цитоплазмы по сравнению с влиянием фактора облучения. Изменение цитоплазмы во времени можно условно

разделить на два этапа: вначале происходит резкое увеличение цитоплазмы, а затем постепенное уменьшение и вновь увеличение. Влияние такого фактора, как облучение вызывает только в начальном диапазоне некоторое увеличение площади цитоплазмы, в дальнейшем показатели достигают некоторого максимума и в конце исследования показатели уменьшаются.

Уравнение регрессии, описывающее изменение площади ядра выглядит следующим образом:

$$\begin{aligned} \text{Размер ядра} = & 0,281213 + 0,570712y - \\ & - 0,081049x^2 - 0,578777y^2 \end{aligned}$$

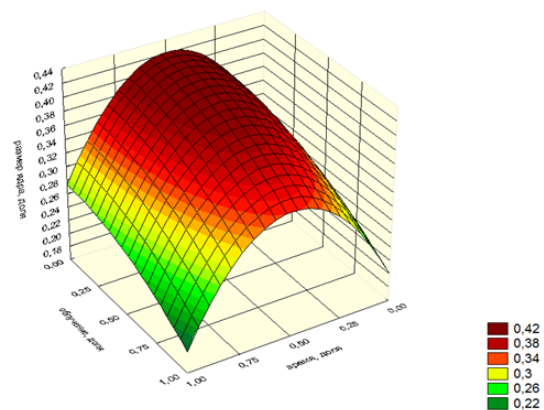


Рис. 4. – Зависимость площади сечения ядер нейронов от мощности дозы облучения и времени пострадиационного периода.

Из представленного уравнения регрессии видно, что площадь сечения ядер зависит от обоих рассматриваемых факторов (x , y), а сочетание xy не значимо. Коэффициент детерминации составляет всего $R^2 = 0,38$, при слабой связи между аргументами, коэффициент корреляции $r = 0,14$. Из графика (рис. 4) видно, что максимальные значения размера ядер соответствуют средним диапазонам значений времени и начальному диапазону мощности облучения. Такой фактор, как время имеет более сильное влияние на динамику изменения рассматриваемого параметра.

Уравнение регрессии, описывающее изменение площади ядрышек выглядит следующим образом:

$$\begin{aligned} \text{Размер} = & 0,283864 + 0,591876y - 0,075574x^2 - \\ & - 0,611159y^2 \end{aligned}$$

Из представленного уравнения регрессии видно, что изменение площади ядрышек зависит от всех рассматриваемых

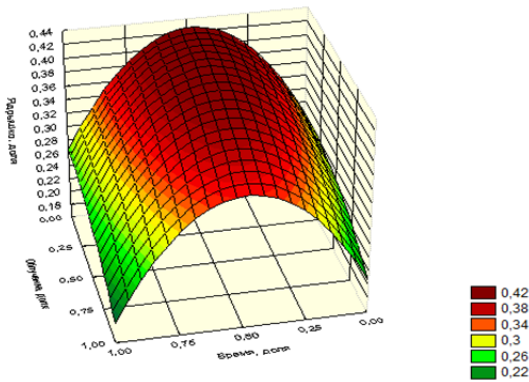


Рис. 5. Зависимость площади сечения ядрышек нейронов от мощности дозы облучения и времени пострadiационного периода.

мых факторов, кроме их совместного действия (χy). Более сильное влияние имеет такой фактор, как время. Коэффициент диагностической значимости модели всего $R^2=0,39$, а корреляция между аргументами слабая $r=0,16$. Из графика (рис. 5) видно, что максимальные значения размеров ядрышек соответствуют средним диапазонам значений времени и начальному диапазону мощности дозы облучения. Время более сильно влияет на динамику изменений рассматриваемого показателя.

Заключение

Проведенные исследования показали, что из всех подвергнутых изучению параметров, наибольшей устойчивостью к радиационному воздействию обладает площадь сечения цитоплазмы нейронов. Ядра нейронов после однократного облучения в дозе 50 сЗв с мощностью дозы 50 сГр/ч, имеют тенденцию к набуханию, что свидетельствует о напряжении в их структуре, связанном с действием ионизирующего излучения. Морфометрическое исследование позволило установить, что данный вид облучения уже в начале исследования вызывает напряжение в ядрышках нейронов, которое проявляется увеличением их размеров.

Облучение с большей мощностью дозы (660 сГр/ч) вызывает более выраженные изменения всех изученных параметров. Математическое моделирование радиационных эффектов в головном мозге адекватно отражает выявленные изменения, позволяет дифференцировать реактивные изменения от возрастных и может быть использовано для их прогнозирования при дозо-временных параметрах,

выходящих за рамки исследования и экстраполяции на человека.

Список литературы

1. *Василенко И. Я.* Малые дозы ионизирующей радиации / И.Я. Василенко // Медицинская радиология. 1991. № 1. С. 48.
2. *Григорьев Ю. Г.* Отдаленные эффекты хронического воздействия ионизирующего излучения и электромагнитных полей применительно к гигиеническому нормированию / Ю.Г. Григорьев, А.В. Шафиркин, В.Н. Никитина // Радиобиология. 2003. Т. 43, № 5. С. 565–578.
3. *Гундарова О. П.* Оценка психоневрологического статуса ликвидаторов радиационных аварий: монография / О.П. Гундарова, В.П. Федоров, Р.В. Афанасьев. Воронеж.: ИПЦ “Научная книга”, 2012. 232 с.
4. *Ильин Л. А.* Реалии и мифы Чернобыля / Л.А. Ильин. Москва: Alara Limited, 1996. 124 с.
5. *Кудряшов Ю. Б.* Основные принципы радиобиологии / Ю.Б. Кудряшов // Радиационная биология. Радиоэкология. 2001. Т. 41, № 5. С. 531–547.
6. Математические методы фармакологии, токсикологии и радиобиологии : монография / А.М. Кармишин [и др.]. – Воронеж: “Истоки”, 2009. 255 с.
7. *Маслов Н. В.* Влияние малых доз ионизирующего излучения на активность дегидрогеназ в нейронах теменной коры головного мозга крыс / Н.В. Маслов, А.Г. Кварацхелия, О.П. Гундарова, Н.В. Сгибнева // Журнал анатомии и гистопатологии. 2013. Т. 2, № 1 С. 31–34.
8. *Рябухин Ю. С.* Низкие уровни ионизирующего излучения и здоровье: системный поход (аналитический обзор) / Ю.С. Рябухин // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2000. Т. 45, № 4. С. 5–20.
9. *Сгибнева Н.В.* Морфофункциональное состояние сенсомоторной коры после малых радиационных воздействий / Н.В. Сгибнева, В.П. Федоров. Воронеж: ИПЦ “Научная книга”, 2013. 256 с.
10. Структурно-функциональная характеристика нейронов средних слоев коры теменной доли головного мозга крыс при действии малых доз ионизирующего излучения : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Н.В. Маслов. Москва, 2012. 23 с.
11. *Ушаков И. Б.* Кислород. Радиация. Мозг: структурно-функциональные паттерны : монография / И.Б. Ушаков, В.П. Федоров. – Воронеж: ИПЦ “Научная книга”, 2011. 330 с.
12. Эффективность антистрессовых реабилитационных мероприятий у ликвидаторов в отдаленный период после аварии на Чер-

нобыльской АЭС / А.Ф. Цыб [и др.] // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2006. Т. 51, № 3. С. 45–48.

13. **Ярмоненко С. П.** Малые дозы – “большая беда” / С.П. Ярмоненко // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 1996. Т. 41, № 2. С. 32–39.

Информация об авторах

Сгибнева Наталья Викторовна – к.б.н., ассистент кафедры нормальной анатомии человека ГБОУ ВПО “Воронежская государственная медицинская академия им. Н. Н. Бурденко” Минздрава России. 394036 г. Воронеж, ул. Студенческая, д. 10.

Маслов Николай Владимирович – к.м.н., ассистент кафедры нормальной анатомии человека ГБОУ ВПО “Воронежская государственная меди-

цинская академия им. Н. Н. Бурденко” Минздрава России. 394036 г. Воронеж, ул. Студенческая, д. 10.

Гундарова Ольга Петровна – ассистент кафедры нормальной анатомии человека ГБОУ ВПО “Воронежская государственная медицинская академия им. Н. Н. Бурденко” Минздрава России. 394036 г. Воронеж, ул. Студенческая, д. 10.

Кварацхелия Анна Гуладиевна – к.б.н., ассистент кафедры нормальной анатомии человека ГБОУ ВПО “Воронежская государственная медицинская академия им. Н. Н. Бурденко” Минздрава России. 394036 г. Воронеж, ул. Студенческая, д. 10.

Бельских Наталья Владимировна – к.х.н., доцент кафедры экологии и безопасности жизнедеятельности Военного учебно-научного центра Военно-воздушных сил “Военно-воздушная академия им. проф. Н. Е. Жуковского и Ю. А. Гагарина”.

Поступила в редакцию 14.11.2013 г.