

УДК 612.014.482+616.891
© О. П. Гундарова, В. П. Федоров, 2014

ИЗУЧЕНИЕ БИОФИЗИЧЕСКИХ ОСНОВ РЕАКЦИИ НЕЙРОНОВ МОЗЖЕЧКА НА МАЛЫЕ РАДИАЦИОННЫЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ

О. П. Гундарова, В. П. Федоров*, А. Г. Кварацхелия

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

*ГБОУ ВПО «Воронежский государственный институт физической культуры»
Минспорта России, г. Воронеж, Россия

Установлено, что биофизической основой реакции нейрона на малые радиационные воздействия является изменение параметров и соотношения его основных структур (клеточного тела, цитоплазмы, ядра, ядрышка), а также тинкториальных свойств, связанных с изменениями содержания и структурной перестройкой пластических, метаболических и энергетических составляющих.

Ключевые слова: крысы, малые дозы радиации, нейроны мозжечка, биофизические основы реакции нейрона.

© O. P. Gundarova, V. P. Fedorov*, A. G. Kvaratskheliya, 2014
Voronezh N.N. Burdenko State Medical Academy
*Voronezh State Academy of Physical Culture

The Study of Biophysical Basis of Cerebellar Neurons Reaction for Small Radiation Exposure

It was found that the biophysical basis of the reaction of the neuron to the small radiation exposure is to change the parameters and the ratio of its main structures (cell body, cytoplasm, nucleus, nucleolus) and tinctorial properties associated with changes in the content and the restructuring of plastic, metabolic and energy components.

Keywords: rats, low doses of radiation, the neurons of the cerebellum, the biophysical basis of the reaction of the neuron.

Введение

Анализ психоневрологического статуса авиационных специалистов, принимавших участие в ликвидации последствий радиационной аварии на ЧАЭС в 1986 г, качества их жизни и профессионального долголетия [4] подтвердил многочисленные данные о значимом участии нервной системы в реакции организма на действие малых доз ионизирующего излучения [9, 11, 12]. Так у ликвидаторов в 4 раза выросла частота патологии, а в контрольной группе этот показатель увеличился только в 2,5 раза. Через 15 лет после аварии 35% ликвидаторов дисквалифицированы в связи с изменениями в нервно-психической сфере, в контрольной группе данный показатель составил 14%. При этом, остается неясной причина психоневрологических расстройств: связаны ли они с воздействием радиации или являются следствием психотравмирующих факторов, сопутствующих заболеваний, неблагоприятных условий труда и быта, а также возрастных изменений [1, 5, 6, 14]. Остаются не изученными и биофизические основы реакции нервных клеток на малые радиационные воздействия. Выявить вклад радиационного воздействия в поражение нервной системы,

определить наиболее радиочувствительные структуры и их дозо-временные зависимости в пострadiационном периоде, а также установить биофизические основы реакции нервных клеток на малые дозы радиации возможно только в экспериментах на животных [2]. В этих условиях можно исключить посторонние влияния, оставив лишь радиационный фактор, и использовать методики неприемлемые для человека.

Материал и методы исследования

Исследование выполнено на 270 беспородных крысах-самцах в возрасте 4 мес, что соответствовало 27 годам возраста ликвидаторов-вертолетчиков. Животных подвергали гамма-облучению в дозах 10, 20, 50 и 100 сЗв с мощностью дозы 50 сГр/ч. Для человека данные показатели соответствует дозам облучения в диапазоне от 5 до 50 сЗв. Материал забирали через 1 сут (время, соответствующее возможной первичной реакции на облучение), 6 мес (соответствует профессиональному долголетию ликвидаторов 38–40 лет), 12 мес (соответствует предельному возрасту для военнослужащих 45–50 лет), 18 и 24 мес. пострadiационного периода, т.е. исследование проведено на

полную продолжительность жизни животных. Каждой группе соответствовал адекватный возрастной контроль. Для исследования взяты нейроны коры мозжечка, который, составляя только 10% массы головного мозга, включает в себя более половины всех его нервных клеток. В радиобиологии эти нейроны, особенно клетки Пуркинье, считаются своеобразным индикатором чувствительности нервной системы к ионизирующему излучению. На препаратах, окрашенных по Нисслию, оценивались морфологические, тинкториальные и морфометрические показатели с последующим расчетом соответствующих индексов [3, 13, 15]. Статистическая обработка результатов проводилась с использованием методов математического анализа и обработки информации.

Протокол эксперимента в разделах выбора, содержания животных и выведения их из опыта был составлен в соответствии с принципами биоэтики и правилами лабораторной практики, которые представлены в «Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985) и приказе МЗ РФ № 267 от 19.06.2003 «Об утверждении правил лабораторной практики». При каждом режиме облучения имелась группа с мнимым облучением.

Результаты и их обсуждение

Процентное соотношение нервных клеток в группах возрастного контроля и при облучении представлено на диаграмме (рис. 1). Через сутки у контрольных животных содержание нормохромных нейронов составляло $58.8 \pm 0.9\%$, гипохромных – $18.4 \pm 0.1\%$, гиперхромных – $15.0 \pm 0.1\%$, а нейронов с деструктивными изменениями – $8.4 \pm 5.6\%$. Через 6 мес. увеличивалось количество деструктивно измененных нервных клеток и нейроцитов с низкими тинкториальными свойствами. Через 12 мес. количество нейронов с признаками деструктивных изменений уменьшалось, а численность нормохромных клеток возрастала. К концу эксперимента количество деструктивно измененных нейронов увеличивалось до $19.8 \pm 0.7\%$. Среди измененных нейронов преобладали гипохромные клетки. Они составляли $19.1 \pm 0.03\%$, а гиперхромных клеток было всего $9.1 \pm 0.1\%$.

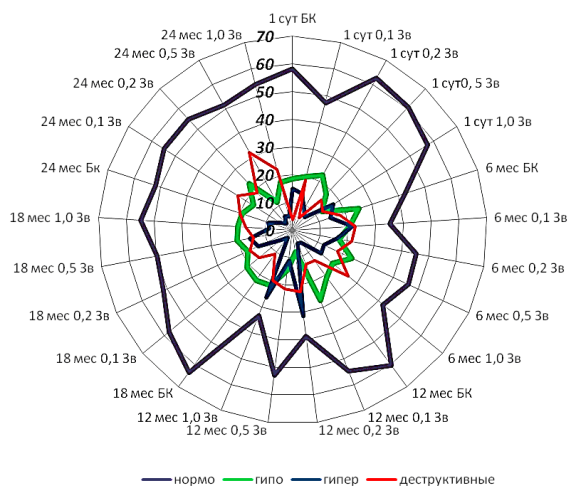


Рис. 1. Соотношение различных типов нейронов (в % от их общего количества) у контрольных и облученных животных. Обозначения: по часовой стрелке – доза облучения и время пострадиационного периода, БК – контрольные животные.

У облученных животных наибольший интерес представляет динамика содержания нормохромных нейронов. Через сутки после облучения в дозе 10 сГр их количество уменьшалось. Через 6 мес их наименьшая численность регистрировалась при воздействии радиации в дозах 10 и 100 сЗв за счет увеличения доли нервных клеток с деструктивными изменениями. Через 12 мес количество нормохромных нейронов с увеличением дозы радиационного воздействия уменьшалось, достигая самого низкого значения при облучении в дозе 100 сЗв. Однако, при облучении в дозе 50 сЗв линейность динамики показателя нарушалась. Через 18 мес количество нормохромных нейронов уменьшалось пропорционально дозе облучения, но при воздействии облучения в дозе 100 сЗв линейность также нарушалась. Среди измененных нейронов, как и в контроле, преобладали гипохромные клетки. В конце пострадиационного периода содержание нормохромных нервных клеток практически соответствовало возрастному контролю, а среди измененных клеток преобладали нейроны с признаками деструкции, причем при облучении в дозе 50 сЗв их численность была максимальной. При воздействии радиации в дозах 0.1 и 1.0 Зв содержание нейроцитов с деструктивными изменениями соответствовало уровню возрастного контроля. Таким образом, ни один из рассмотренных показателей состояния

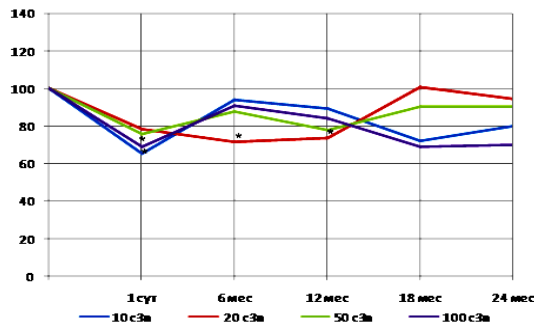


Рис. 2. Динамика площади сечения нейронов. Обозначения: по оси абсцисс – сроки пострадиационного периода; по оси ординат – площадь сечения, $\mu\text{м}^2$ (в % к контролю); * – различия с контролем достоверны ($p < 0.05$).

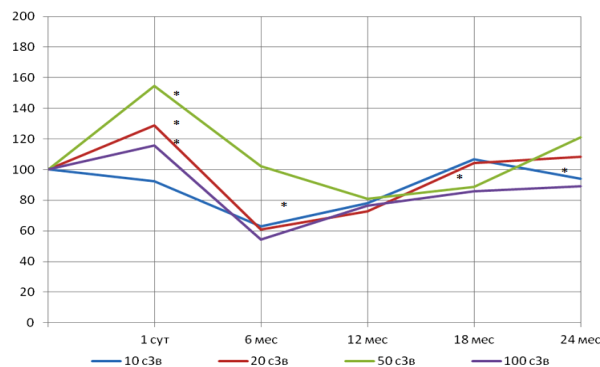


Рис. 4. Динамика размеров ядрышек нейронов. Обозначения: по оси абсцисс – сроки пострадиационного периода; по оси ординат – площадь сечения, $\mu\text{м}^2$ (в % к контролю); * – различия с контролем достоверны ($p < 0.05$).

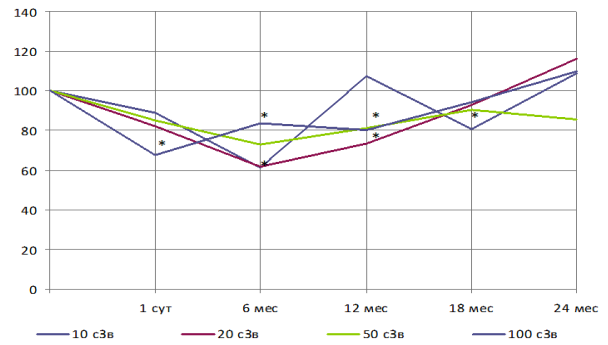


Рис. 3. Динамика площади сечения ядер нейронов. Обозначения: по оси абсцисс – сроки пострадиационного периода; по оси ординат – площадь сечения, $\mu\text{м}^2$ (в % к контролю); * – различия с контролем достоверны ($p < 0.05$).

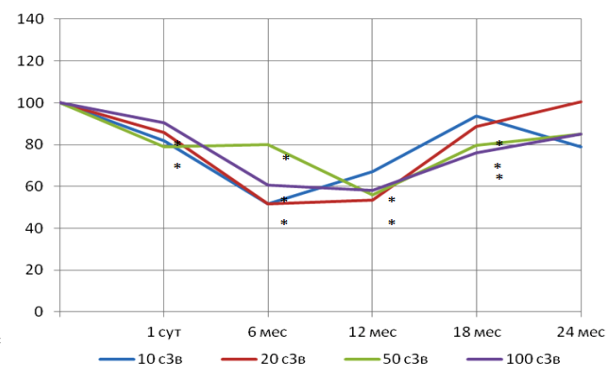


Рис. 5. Динамика размеров цитоплазмы нейронов. Обозначения: по оси абсцисс – сроки пострадиационного периода; по оси ординат – площадь сечения, $\mu\text{м}^2$ (в % к контролю); * – различия с контролем достоверны ($p < 0.05$).

нейронов не имел линейной зависимости как от дозы облучения (в интервале доз 0.1–1.0 Зв), так и времени пострадиационного периода.

Морфометрические исследования показали, что уже через сутки после однократного облучения нервные клетки не зависимо от дозы облучения уменьшались в размерах. Через 6 мес размеры клеток практически не отличались от таковых в группе возрастного контроля. Исключение составила группа животных, облученных в дозе 0.2 Зв. Через 18 мес при облучении в дозах 0.2 и 0.5 Зв размеры клеток приближались к контрольным показателям и оставались на этом уровне до конца сроков наблюдения. При облучении в дозах 0.1 и 1.0 Зв размер нейронов уменьшался как по отношению к контролю, так и другим экспериментальным группам ($p < 0.05$). Таким образом, в течение жизни как контрольных, так и облу-

ченных животных наблюдалось уменьшение размеров нервных клеток (рис. 2).

Через сутки после облучения размеры ядер нейронов имели тенденцию к снижению, причем значение этого показателя было достоверным при облучении в дозе 1.0 Зв. Через 6 мес размер ядра нейронов во всех экспериментальных группах был снижен, оставаясь на этом уровне и через 12 мес наблюдения, после чего имел тенденцию к нормализации. Исключение составила группа животных, облученных в дозе 0.1 Зв, у которых значения объема ядер приближались к контрольным показателям уже через 12 мес, через 18 мес. уменьшались, а к концу эксперимента увеличивались (рис. 3).

Размер ядрышек нейронов через сутки после облучения достоверно увеличивался, за исключением группы, подвергавшейся облучения в дозе 0.1 Зв. Через 6 мес ядрышки уменьшались в размере,

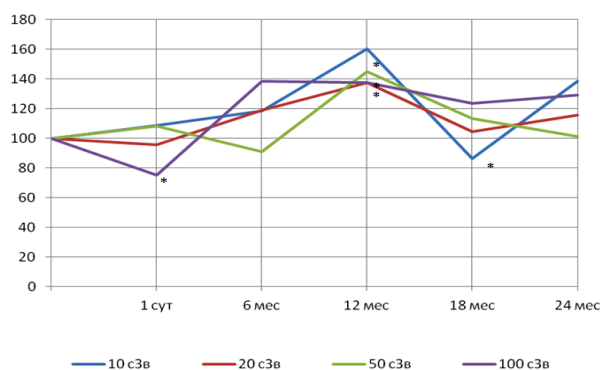


Рис. 6. Динамика ядерно-цитоплазматического индекса. Обозначения: по оси абсцисс – сроки пострadiaционного периода; по оси ординат – индекс (в % к контролю); * – различия с контролем достоверны ($p < 0.05$).

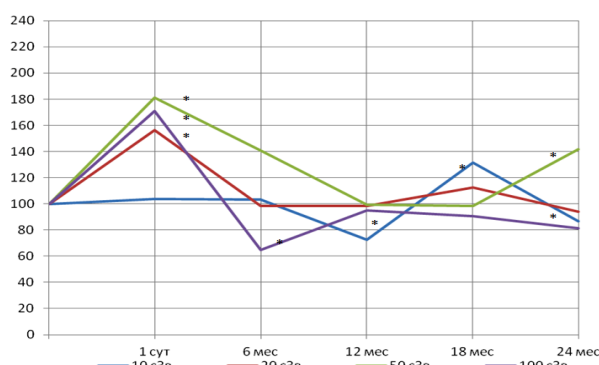
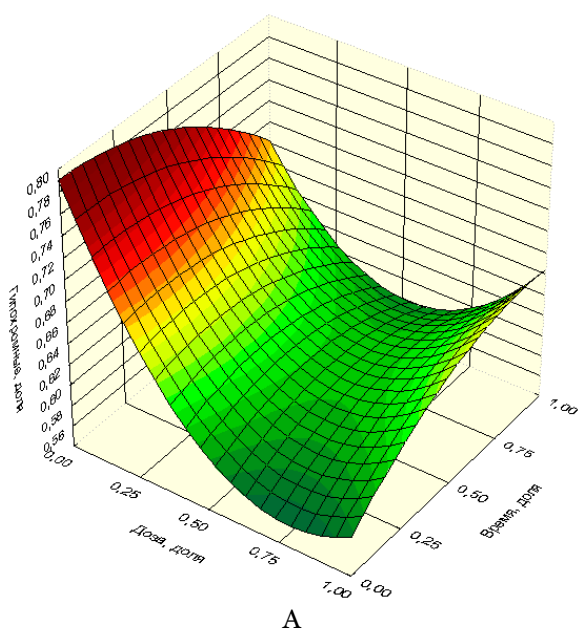
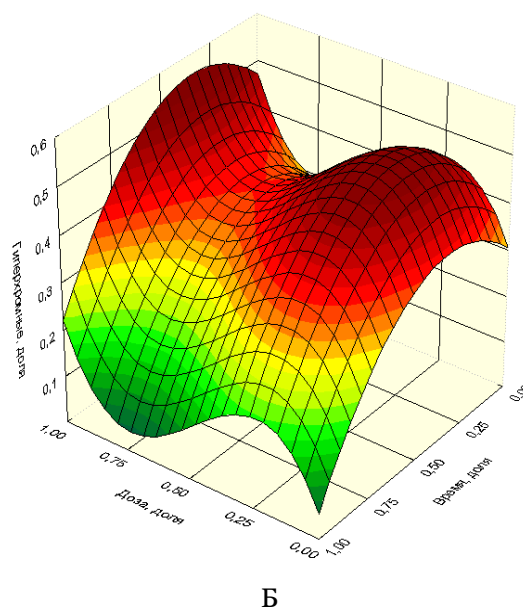


Рис. 7. Динамика ядрышко-ядерного индекса. Обозначения: по оси абсцисс – сроки пострadiaционного периода; по оси ординат – индекс (в % к контролю); * – различия с контролем достоверны ($p < 0.05$).



А



Б

Рис. 8. График зависимости значения гипохромных (А) и гиперхромных (Б) нейронов от дозы облучения и времени пострadiaционного периода.

кроме животных той группы, которую облучали в дозе 0.5 Зв; затем наблюдалась тенденция к их увеличению и при режимах облучения в дозах 0.1 и 0.2 Зв размеры ядрышек соответствовали показателям возрастного контроля. Через 18 мес размер ядрышек изменялся не однонаправленно. При воздействии в дозах 0.1 и 0.2 Зв он соответствовал контролю, в дозе 0.5 Зв – достоверно возрастал, в дозе 1.0 Зв – уменьшался. Площадь сечения цитоплазмы нейронов независимо от дозы облучения на всем протяжении пострadiaционного периода была меньше, чем в группе возрастного контроля (рис. 4, 5).

Через сутки после облучения ядерно-цитоплазматический индекс значительно изменялся только при облучении в дозе 100 сГр. Через 18 мес ЯЦИ отличался

от контрольных значений при воздействии радиации в дозах 10 и 100 сГр, к концу наблюдения показатели ЯЦИ соответствовали значениям контроля при воздействии дозы в 50 сГр, а при других дозах превышали их (рис. 6).

Ядрышко-ядерный индекс увеличивался через сутки после облучения, а затем уменьшался. Через 12 мес показатель соответствовал контролю, а к концу жизни изменения индекса носили разнонаправленный характер. При облучении в дозах 10 и 20 сЗв значения индекса соответствовали контролю, в дозе 50 сЗв – увеличивались, а при 100 сЗв – уменьшались (рис.7).

Для более объективной оценки полученных результатов проведено их математическое моделирование. Модель

динамики показателей состояния нервных клеток в зависимости от дозы облучения и времени пострadiационного периода представляли в виде уравнения регрессии:

$$ЗП = a_0 + a_1x + a_2y + a_3xy + a_4x^2 + a_5y^2 + a_6x^3 + a_7y^3,$$

где ЗП – зависимый показатель, x – доза облучения; y – время, после облучения; xy , x^2 , y^2 , x^3 , y^3 – взаимные влияния параметров, x , y и нелинейное влияние каждого из этих параметров. При построении регрессионных моделей учитывались только параметры для коэффициентов с уравнением значимости 95% ($P < 0.05$). В результате получено семейство уравнений регрессии, визуальная оценка которых показана на примере динамики гипохромных и гиперхромных нервных клеток (рис. 8). Видно, что изменение количества гипохромных нейронов в большей степени зависит от дозы облучения, чем от времени пострadiационного периода и сочетанного воздействия этих факторов. Уравнение регрессии выглядит следующим образом:

$$\begin{aligned} \text{Гипохромные нейроны} = & 0.790588 - \\ & -0.585932x + 0.193911xy + 0.373630x^2 - \\ & -0.108419y^2. \quad (r=0.17; R^2=0.41). \end{aligned}$$

Из графика (рис. 8, А) видно, что с увеличением дозы облучения происходит значимое снижение количества гипохромных нейронов и только в конце рассматриваемого диапазона доз это значение начинает увеличиваться. Действие такого фактора как время с его увеличением также уменьшает численность гипохромных нейронов. Изменение гиперхромных нейронов зависит от всех рассматриваемых факторов (x , y), кроме сочетанного их воздействия (xy). Причем более сильное влияние на изменение данного вида нейронов оказывает доза облучения. Уравнение регрессии выглядит следующим образом:

$$\begin{aligned} \text{Гиперхромные нейроны} = & \\ = & 0.30352 + 1.32398x + 0.51320y - 3.68309x^2 - \\ & -0.76213y^2 + 2.52620x^3. \quad (r=0.36, R^2=0.60). \end{aligned}$$

Из графика (рис. 8, Б) видно, что количество гиперхромных нейронов имеет один экстремум в зависимости от времени, который находится в начале диапазона значений. В зависимости от дозы облучения количество гиперхромных нейронов имеет два экстремума, что свидетельствует как об увеличении, так и уменьшении ко-

личества гиперхромных нейронов при протекании процесса в рассматриваемом диапазоне доз облучения. Динамика показателей имеет нелинейный характер с умеренным или слабым коэффициентом корреляции.

Заключение

Таким образом, проведенные исследования на полную продолжительность жизни животных показали, что нервная система обладает определенной чувствительностью к радиационному фактору. Выявленные изменения неспецифичны, протекают волнообразно и не имеют линейной дозовой или временной зависимости. При всех дозах и сроках пострadiационного периода преобладают пограничные изменения, отражающие различные варианты физиологической нормы нейронов. Такие изменения обратимы и в определенных условиях на их основе могут возникать различные формы альтеративных или адаптационных изменений. Все виды изменений встречаются как в контрольных, так и экспериментальных группах, отличаясь лишь процентным соотношением, что согласуется с данными других исследователей [8, 10, 16]. Практически все изучаемые показатели были более лабильными при самой малой исследуемой дозе – 10 сЗв, что согласуется с данными о преобладании раздражающего эффекта облучения над ионизирующим [7]. Биофизической основой реакции нейрона на малые радиационные воздействия является изменение параметров и соотношения его основных структур (клеточного тела, цитоплазмы, ядра, ядрышка), а также тинкториальных свойств, связанных с изменениями содержания и структурной перестройкой пластических, метаболических и энергетических составляющих.

Выявленные проходящие нейроморфологические эффекты мало согласуются с данными о росте нейропсихических заболеваний у ликвидаторов радиационной аварии. Видимо, рост числа заболеваний связан с комбинацией ионизирующего излучения с психотравмирующими факторами, обусловленными работой на радиационно-загрязненной территории, недостаточной подготовкой ликвидаторов в области радиобиологии, профессиональными и бытовыми вредностями, радиофобией и эгоистически-

рентными установками, а также нарастающим со временем влиянием инкорпорированных долгоживущих радионуклидов. Следовательно, профилактика психоневрологических нарушений и реабилитационные мероприятия для ликвидаторов должны быть направлены в первую очередь на повышение их профессиональной подготовки, решение медико-психологических и социально-гигиенических проблем, а также на снижение уровней воздействия вредных и опасных факторов летного труда и достойной компенсации рисков для здоровья.

Список литературы

1. *Алексанин С.С.* Особенности функционального состояния центральной нервной системы у участников ликвидации последствий аварии на Чернобыльской АЭС / С.С. Алексанин // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2007. Т. 52, № 5. С. 5–11.
2. *Бехтерева Н.П.* Здоровый и больной мозг человека: монография / Н.П. Бехтерева. Л.: Наука, 1988. 262 с.
3. *Григорьев Ю.Г.* Соматические эффекты хронического гамма-облучения: монография / Ю.Г. Григорьев. М.: Энергоатомиздат, 1986. 195 с.
4. *Гундарова О.П.* Оценка психоневрологического статуса ликвидаторов радиационных аварий: монография / О.П. Гундарова., В.П. Федоров, Р.В. Афанасьев. Воронеж: «Научная книга», 2012. 232 с.
5. *Гундарова О.П.* Возрастная структурно-функциональная перестройка коры мозжечка лабораторных крыс / О.П. Гундарова, Н.В. Маслов // Журнал анатомии и гистопатологии. 2013. Т. 2, № 3. С. 32–36.
6. *Гуськова А.К.* Основные итоги и источники ошибок в установлении радиационного этиопатогенеза неврологических синдромов и симптомов / А.К. Гуськова // Журнал неврологии и психиатрии. 2007. № 12. С. 66–70.
7. *Карпов В.Н.* Эффективная доза как раздражающее воздействие при фракционированном γ -облучении / В.Н. Карпов., И.Б.Ушаков, Б.И. Давыдов // Радиобиология. 1990. Т. 30, № 1. С. 107–112.
8. *Маслов Н.В.* Морфофункциональное состояние теменной коры при действии малых доз ионизирующего излучения: монография / Н.В. Маслов, В.П. Федоров, Р.В. Афанасьев. Воронеж: «Научная книга», 2012. 228 с.
9. *Севаньякаев А.В.* Актуальные проблемы современной радиобиологии в свете оценки и прогнозирования последствий аварии на Чернобыльской АЭС / А.В. Севаньякаев, А.Н. Деденков // Радиобиология. 1990. Т. 30, № 5. С. 579–583.
10. *Сгибнева Н.В.* Морфофункциональное состояние сенсомоторной коры после малых радиационных воздействий: монография / Н.В. Сгибнева, В.П. Федоров. Воронеж: «Научная книга», 2013. 252 с.
11. *Торубаров Ф.С.* Состояние нервной системы у пострадавших при аварии на Чернобыльской атомной электростанции / Ф.С. Торубаров, В.В. Благовещенская, П.В. Чесалин // Журнал невропатологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 1989. Т. 89, № 2. С. 48–52.
12. *Торубаров Ф.С.* Неврологические аспекты острой лучевой болезни человека (клинические наблюдения): руководство / Ф.С. Торубаров, З.Ф. Зверева. М., ФМБЦ им. А.И. Бурназяна, 2009. 208 с.
13. *Ушаков И.Б.* Нейроморфологические эффекты электромагнитных излучений: монография / И.Б. Ушаков, В.П. Федоров, В.Г. Зуев. Воронеж: Центрально-Черноземное книжное изд-во, 2007. 287 с.
14. *Ушаков И.Б.* Экология человека после Чернобыльской катастрофы: радиационный экологический стресс и здоровье человека: монография / И.Б. Ушаков, Н.И. Арлащенко, С.К. Солдатов. М.–Воронеж: Изд-во ВГУ, 2001. 723 с.
15. *Федоров В.П.* Экологическая нейроморфология. Классификация типовых форм морфологической изменчивости ЦНС при действии антропогенных факторов / В.П. Федоров, А.В. Петров, Н.А. Степанян // Журнал теоретической и практической медицины. 2003. Т. 1, № 1. С. 62–66.
16. *Федоренко Б.С.* Морфологические и цитогенетические нарушения у крыс, находящихся в условиях повышенного радиационного фона на протяжении длительного времени / Б.С. Федоренко // Авиакосмическая и экологическая медицина. 2002. Т. 36, № 1. С. 21–22.

Информация об авторах

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. sas36@mail.ru

Федоров Владимир Петрович – докт. мед. наук, профессор, профессор кафедры медико-биологических дисциплин ГБОУ ВПО «Воронежский государственный институт физической культуры» Минспорта России. 394036 г. Воронеж, ул. Карла Маркса, 49. fedor.vp@mail.ru

Кварацхелия Анна Гуладиевна – канд. биол. наук, ассистент кафедры нормальной анатомии человека ГБОУ ВПО «Воронежская государственная медицинская академия им. Н.Н. Бурденко» Минздрава России.

Поступила в редакцию 14.10.2014 г.