

РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ В НЕЙРОНАХ СЕНСОМОТОРНОЙ КОРЫ**Федоров Владимир Петрович***доктор мед. наук, профессор***Сгибнева Наталья Викторовна***кандидат биологических наук, старший преподаватель***Гундарова Ольга Петровна***ассистент**Воронежский Государственный Университет им. Н.Н. Бурденко***RADIATION-INDUCED CHANGES OF NUCLEIC ACIDS IN THE NEURONS OF SENSOMOTOR BARK****Fedorov Vladimir***doctor honey sciences, professor***Sgibneva Natalya***candidate of Biological sciences, senior Lecturer***Gundarova Olga***assistant**Voronezh State University N.N. Burdenko***Аннотация**

Цель: исследование изменений нуклеиновых кислот в нейронах головного мозга после воздействия малых доз ионизирующего излучения.

Материал и методы. Исследование выполнено на 150 крысах-самцах в возрасте 4 мес., подвергшихся гамма облучению в суммарных дозах 0,5 Гр. Стандартными методиками оценивали морфометрические показатели и динамику нуклеиновых кислот в нейронах на всей продолжительности жизни животных. Статистическую обработку проводили с помощью пакетов программ Statistika 6.1 и использованием параметрических критериев.

Результаты. Как у контрольных, так и облученных животных происходят волнообразные изменение содержания нуклеиновых кислот в нейронах мозга с постепенным снижением показателей к окончанию эксперимента. Изменения ДНК в ядрах и РНК в ядрышках связаны с изменениями их размеров, а РНК в цитоплазме, видимо, с функциональным состоянием. Облучение оказывает на нейроны стохастическое влияние и не имеет доза-временной зависимости.

Заключение. Значимых изменений содержания и топохимии продуктов гистохимических реакций при выявлении нуклеиновых кислот в нейронах мозга не выявлено. Однако в конце эксперимента содержание нуклеиновых кислот у облученных животных снижается в большей степени чем в контроле.

Abstract

Purpose: to study changes in nucleic acids in brain neurons after exposure to small doses of ionizing radiation.

Material and methods. The study was performed on 150 male rats at the age of 4 months, exposed to gamma radiation in total doses up 0,5 Gy. Standard methods evaluated morphometric indices and dynamics of nucleic acids in neurons over the entire life span of animals. Statistical processing was performed using Statistika 6.1 software packages and using parametric criteria.

Results. In both control and irradiated animals, wave-like changes in the content of nucleic acids in brain neurons occur with a gradual decrease in indicators by the end of the experiment. Changes in DNA in the nuclei and RNA in the nucleoli are associated with changes in their size, and RNA in the cytoplasm, apparently, with the functional state. Irradiation has a stochastic effect on neurons and has no dose-time dependence.

Conclusion Significant changes in the content and topochemistry of the products of histochemical reactions in the detection of nucleic acids in brain neurons were not detected. However, at the end of the experiment, the content of nucleic acids in irradiated animals decreases to a greater extent than in the control.

Ключевые слова: малые дозы радиации, головной мозг, нейроны, морфометрические показатели, цитоплазматическая и ядрышковая РНК, ядерная ДНК.

Keywords: small doses of radiation, brain, neurons, morphometric parameters, cytoplasmic and nucleolar RNA, nuclear DNA.

Важнейшей радиационной мишенью клеток являются нуклеиновые кислоты, в которых индуцируется экспрессия генов, модулирующих внутриклеточные программы функционирования. При этом наблюдаются одно- и двунитевые разрывы ДНК, кластерные повреждения нитей ДНК, модификация оснований, инверсия генов и конформационные модификации ДНК. [1, 4].

Однако экспериментальные исследования показали не корректность интерпретаций результатов опытов на клеточных культурах для возможной ситуации *in vivo* [1, 8]. Подавляющее количество работ по исследованию радиационно-индуцированных изменений нуклеиновых кислот выполнено на клетках крови [2, 4], однако в последние годы усилился интерес исследователей и

к другим соматическим клеткам, в частности к нейронам головного мозга [6, 8, 9, 10]. Уже в первых обзорах проблемы [3, 5] показано, что под действием ионизирующего излучения нарушается синтез ДНК, структура ДНК-матрицы, затем синтез РНК. Отмечено стимулирующее действие облучения в дозах до 1 Гр на активность ДНКаз и РНКаз головного мозга [3]. Также показано полное восстановление разрывов нитей ДНК нейронов мозжечка крыс в течение 38 ч после гамма облучения головы в дозе 50 Гр [3]. Выявлена линейная зависимость между поглощенной дозой и числом разрывов нитей ДНК для нейронов, головного мозга при дозах облучения до 18 Гр. Вместе с тем данных для интерпретации вклада изменений нуклеиновых кислот в радиационное поражение мозга пока явно недостаточно [6, 7, 9, 10].

Целью данной работы явилось исследование состояния нуклеиновых кислот в нейронах головного мозга крыс после облучения в малых дозах.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование выполнено на 150 белых беспородных крысах-самцах в возрасте 4 мес. массой 210±10 г. (соответствует среднему возрасту ликвидаторов 27-28 лет), которых облучали гамма квантами в суммарной дозе 0,5 Гр с мощностью дозы облучения 0,5; 1,0, 2,5 и 6,6 Гр/ч. Контролем служили животные, подвергшиеся ложному облучению и исследованные в те же сроки что и облученные. Объектом исследования служила лобная кора (поле FPa). Материал забирали через 1 сут (время, соответствующее возможной

первичной реакции на облучение), 6 мес. (возраст профессионального долголетия ликвидаторов-военнослужащих) 38–40 лет), 12 мес. (предельный возраст пребывания на военной службе 45–50 лет), 18 и 24 мес. (пожилой и старческий возраст) пострадиационного периода, т.е. исследование, проведено на полную продолжительность жизни. После стандартных гистологических процедур на парафиновых срезах, окрашенных кризидом фиолетовым по методу Ниссля, оценивали динамику морфометрических и тинкториальных показателей нейронов. Нуклеиновые кислоты выявляли по методу S. Shea с контролем РНКазой и ДНКазой. Морфометрические исследования (площадь сечения цитоплазмы, ядра и ядрышка), а также содержание ДНК в ядрах, РНК в цитоплазме и ядрышках нейронов проводили при помощи компьютерного анализатора изображений с помощью программы «Image J». Описательную статистику с вычислением средних и доверительных интервалов осуществляли с помощью пакетов программ Statistica 6.1 при уровне значимости 95 %.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Установлено, что размер цитоплазмы больших пирамидных нейронов после облучения с мощностью дозы 0,5 Гр/ч составляла 93,1%, а через 5 ч 73,2% по отношению к контролю. При этом содержание цитоплазматической РНК после облучения снизилось на 20, а через 5 ч на 41%. Через сутки размер цитоплазмы оставался меньше контроля, а содержание РНК соответствовало ему. Через 3 сут размер составлял от контроля 52%, а содержание РНК – 65,4% (рис. 1).

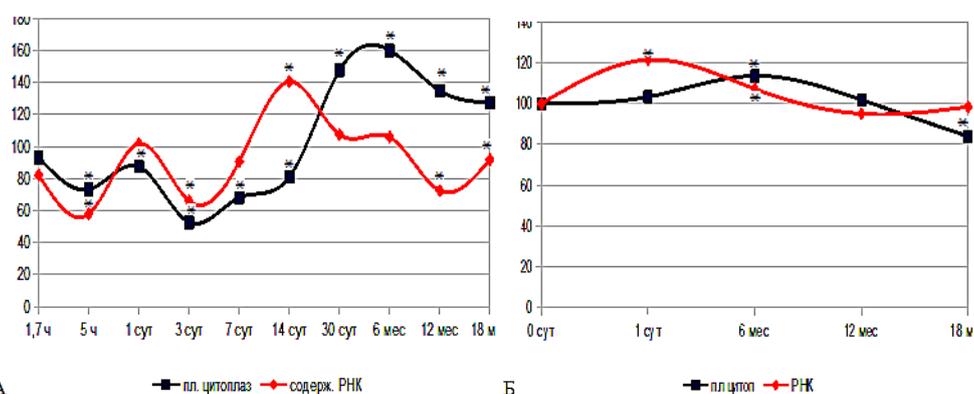


Рисунок 1. Динамика площади сечения цитоплазмы нейронов V слоя лобной коры и содержание в ней РНК после однократного облучения в дозе 0,5 Гр с мощностью дозы облучения 0,5 Гр/ч (А) и 6,6 Гр/ч (Б). Примечание: по оси абсцисс – сроки пострадиационного периода; по оси ординат – показатели в % к контролю. * - различия с контролем статистически достоверны.

После 30 сут эксперимента размер цитоплазмы превышал контроль на 48% и до конца наблюдения оставался повышенным. Содержание РНК через 14 сут превышало контроль на 41 %, а в последующие сроки снижалось. При увеличении мощности дозы облучения размер цитоплазмы через сутки не изменялся, а содержание в ней РНК увеличилось на 20%. Через 6 и 12 мес. показатели соответствовали контролю, а через 18 мес размер цитоплазмы уменьшился на 15 %, а содержание РНК в ней не изменялось (рис. 1).

Кариометрические исследования показали, что размер ядер нейронов V слоя лобной коры после облучения снижался и составлял по отношению к контролю 85%, через 5 ч увеличивалась и превышала контроль на 34,4% и через сутки на 20%. В последующие сроки показатель снижался, и наименьший размер ядра имели через 14 сут, составляя 58 % от возрастного контроля. Через 30 сут размер ядер соответствовал контролю, а в последующие сроки статистически значимо превышал его. Содержание ядерной ДНК в начале эксперимента статистически значимо снижалось и

составляло по сравнению с контролем 90%, через 5 ч 62%, через 1 сут 90% и через 3 сут 70%. После 3 сут наблюдения содержание ядерной ДНК увеличивалось и наибольшее значение (143%),

показатель имел через 14 сут. Через 30 сут и 6 мес. содержание ядерной ДНК соответствовало возрастному контролю, а в последующие сроки достоверно снижалось (рис. 2).

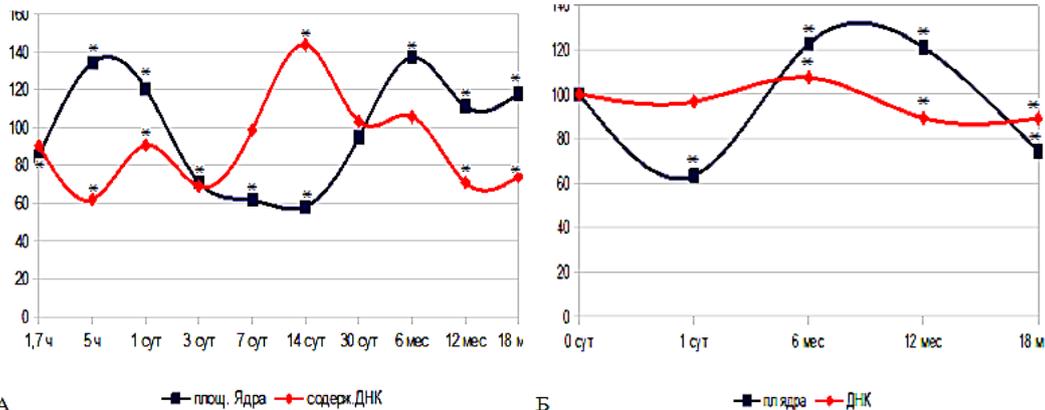


Рисунок 2. Динамика площади сечения ядер нейронов V слоя лобной коры и содержания в них ДНК после однократного облучения в дозе 0,5 Гр с мощностью дозы облучения 0,5 Гр/ч (А) и 6,6 Гр/ч (Б).

Примечание: по оси абсцисс – сроки пострадикационного периода, по оси ординат – площадь сечени ядер и содержание в них ДНК в % к контролю. * - различия с контролем статистически достоверны.

При увеличении мощности дозы радиационного воздействия до 6,6 Гр/ч размер ядер нейронов через сутки после облучения составил от контроля 63,5%, а содержание ядерной ДНК практически не изменилось. Через 6 мес. площадь ядер превысила контроль на 22,7%, а содержание ядерной ДНК - на 7,5%. Через 12 мес. размер ядер превышал возрастной контроль на 22,1%, через 18 мес. сатистически значимо уменьшился и составил от контроля 74,4%. После 6 мес. эксперимента содержание ДНК в ядрах нейронов снижалось (рис. 2).

После радиационного воздействия с мощностью дозы облучения 0,5 Гр/ч размер ядрышек нервных клеток лобной коры составляла от контроля – 95%, а через 5 ч увеличивался до

220%. Содержание ядрышковой РНК после облучения составляло 89%, а через 5 ч 65,1% по отношению к контролю. В последующие сроки размер ядрышек уменьшался и через 14 сут составлял 35,4% от контроля, а содержание в них РНК возрастало, достигая своего максимального значения 150%. Через 6 мес. площадь ядрышек превышала контроль на 79%; через 12 мес. соответствовала ему, а к концу наблюдения составила 123 % по отношению к контролю. Содержание РНК в ядрышках через 30 сут не изменялось, а через 6 мес. повышалось на 11 %. В последующие сроки наблюдения содержание ядрышковой РНК статистически значимо снижалось (рис. 3).

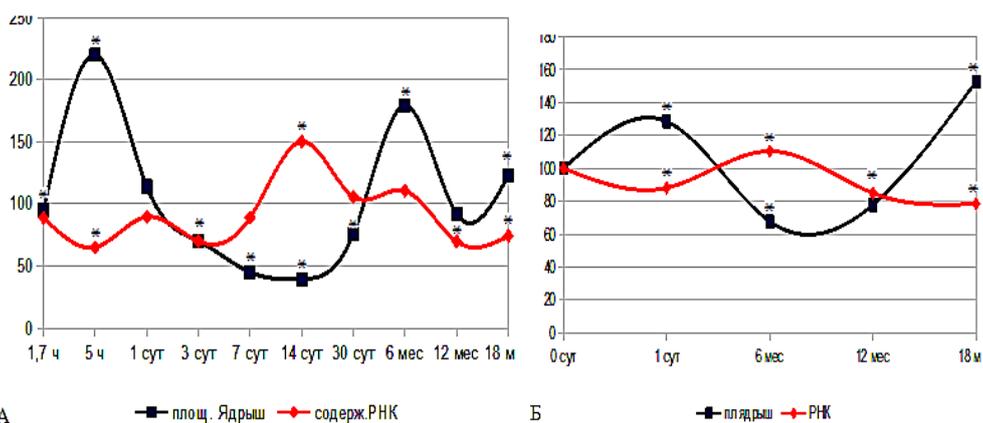


Рисунок 3. Динамика площади сечения ядрышек нейронов V слоя лобной коры и содержание в ядрышках РНК после однократного облучения в дозе 0,5 Гр с мощностью доы облучения 0,5 Гр/ч (А) и 6,6 Гр/ч (Б).

Примечание: по оси абсцисс – сроки пострадикационного периода, по оси ординат – показатели в % к контролю. * - различия с контролем статистически достоверны.

При увеличении мощности дозы радиационного воздействия до 6,6 Гр/ч площадь ядрышек через 1 сут после облучения увеличивалась на 28,5% от, а содержание в них РНК снижалось до 88,2% по отношению к

контролю. Через 6 мес. площадь ядрышек составляла 62% от контроля, а содержание РНК в них превышало контроль на 10,5%. Через 12 мес. площадь ядрышек составляла 77,8%, а содержание в них РНК 85% от уровня возрастного контроля. К

концу пострадиационного периода площадь ядрышек увеличивалась на 52,7%, а содержание РНК в них снижалось до 78,5% по отношению к возрастному контролю (рис. 3).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ литературы показал, что несмотря на значительное количество работ по исследованию влияния ионизирующего излучения на состояние нуклеиновых кислот, эксперименты, прослеживающие их изменения в нейронах головного мозга на всем пострадиационном периоде достаточно редкие [1, 6, 8]. Проведенные нами исследования показали, что как у контрольных, так и облученных животных на протяжении всей жизни происходят волнообразные изменения содержания нуклеиновых кислот в нейронах головного мозга с постепенным снижением показателей к окончанию пострадиационного периода. При этом изменения ДНК в ядрах и РНК в ядрышках больше связаны с изменениями их размеров, а изменения цитоплазматической РНК, видимо, связано с функциональным состоянием нейронов (покой, возбуждение, торможение). При увеличении мощности дозы облучения изменения нуклеиновых кислот в нейронах головного мозга имеют более выраженный характер. В конце пострадиационного периода, когда наблюдается гибель как облученных, так и контрольных животных содержание нуклеиновых кислот в нейронах головного мозга статистически значимо снижается во всех группах причем в большей степени у облученных животных.

Литература

1. Гундарова О.П., Двурекова Е.А., Федоров В.П. Радиационно-индуцированные изменения нуклеиновых кислот нейронов мозжечка // Журнал анатомии и гистопатологии. 2019. Т. 8. № 3. С. 26-34.
2. Даренская Н.Г. Реакция кроветворной системы // В кн.: Радиационная медицина. Под общ.

ред. Л.А. Ильина. Т.1. Теоретические основы радиационной медицины. М.: Изд. АТ. 2004. С. 295-308.

3. Давыдов Б.И., Ушаков И.Б. Ионизирующие излучения и мозг: поведенческие и структурно-функциональные паттерны // Итоги науки и техники. Радиационная биология. М.: ВИНТИ, 1987. 336 с.

4. Жижина Г.П. Влияние малых доз низкоинтенсивной ионизирующей радиации на структуру и функции ДНК // Радиационная биология. Радиоэкология. 2011. Т. 51. №2. С.218-228.

5. Рева А.Д. Ионизирующие излучения и нейрохимия. М: Атомиздат, 1974. 240 с

6. Сгибнева Н.В., Федоров В.П., Гундарова О.П., Маслов Н.В. Пластичность нейронов сенсомоторной коры в условиях повышенного радиационного фона // Мед. радиология и радиационная безопасность. 2017. Т.61. N 1. - С.20-26

7. Ушаков И.Б., Федоров В.П. Малые радиационные воздействия и мозг. Воронеж: Научная книга, 2015. 536 с.

8. Ушаков И.Б., Федоров В.П. Моделирование радиационно-индуцированных изменений ядерной ДНК нейронов головного мозга // В сб. матер. Российской конференции «Современные вопросы радиационной генетики» Дубна, июнь 2019 г. Дубна: ОИЯИ, 2019. С.102-104.

9. Ушаков И.Б., Федоров В.П., Сгибнева Н.В. Нейроморфологические корреляты мощности дозы радиационного воздействия // Медико-биологические и социально-психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях. 2019. № 4. С. 59-69.

10. Федоров В.П., Гундарова О.П., Сгибнева Н.В., Маслов Н.В. Радиационно-индуцированные и возрастные изменения нейронов мозжечка. // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2015. Т. 60. № 4. С. 12–18.

ПОЖИЛОЙ ПАЦИЕНТ НА СТОМАТОЛОГИЧЕСКОМ ПРИЕМЕ

Честных Елена Валерьевна

кандидат медицинских наук, доцент
Тверской государственной медицинской университет
г. Тверь

Зиньковская Елена Павловна

кандидат медицинских наук, доцент
Тверской государственной медицинской университет
г. Тверь

Захарова Елена Львовна

кандидат медицинских наук, ассистент
Тверской государственной медицинской университет
г. Тверь

Ситников Борис Алексеевич

студент
Тверской государственной медицинской университет
г. Тверь

OLDER PATIENT ON DENTAL CONSULTATION

Chestnyh Elena Valer`evna