

DOI: 10.18499/2225-7357-2020-9-2-17-25



УДК 611.817.1+547.963.32]:612.014.482

03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

© Коллектив авторов, 2020

Радиационно-индуцированные изменения содержания белка в нейронах головного мозга

О. П. Гундарова^{*}, В. П. Федоров², А. Г. Кварацхелия¹, Н. В. Маслов¹

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

²ФГБОУ ВО «Воронежский государственный институт физической культуры», Воронеж, Россия

Цель – оценить влияние различных режимов воздействия малых доз ионизирующего излучения на содержание белка в нейронах головного мозга.

Материал и методы. Исследование с соблюдением правил биоэтики выполнено на 300 крысах-самцах в возрасте 4 мес к началу эксперимента, подвергавшихся радиационному воздействию в суммарных дозах 0.1, 0.2, 0.5 и 1.0 Гр однократно или фракционированно (равными порциями в течение 5 дней) с мощностью дозы облучения 0.5 и 6.6 Гр/ч. После стандартных гистологических процедур нейроморфологическими методиками оценивали морфометрические и тинкториальные показатели нейронов головного мозга, а также динамику содержания белка в нейронах на всей продолжительности жизни животных. Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакетов программ Statistica 6.1, с использованием параметрических критериев и математическим моделированием.

Результаты. У контрольных и облученных животных на протяжении всей жизни происходят волнообразные изменения содержания белка в нейронах головного мозга с постепенным снижением показателей к окончанию пострadiационного периода. Регрессионный анализ показал, что облучение в изученных дозах оказывает нелинейное стохастическое влияние на содержание белка в нейронах, не имеет дозозависимости и не вызывает значимых органических изменений в головном мозге. В конце эксперимента, когда наблюдается гибель как облученных, так и контрольных животных содержание белка в нейронах статистически значимо уменьшается во всех группах, но в большей степени у животных, подвергшихся радиационному воздействию. При этом наибольшее снижение содержания белка отмечено в грушевидных нейронах коры мозжечка, а более резистентными к радиационному фактору по содержанию белка оказались нейроны коры теменной доли.

Заключение. Значимых радиационно-индуцированных изменений содержания и топомимии продуктов гистохимических реакций при выявлении белка в структурах нейронов головного мозга не выявлено. В конце эксперимента содержание белка в нейронах теменной коры облученных животных практически соответствовало таковому у животных возрастного контроля, а в других отделах мозга было статистически значимо снижено.

Ключевые слова: крысы, нейроны, ионизирующее излучение, регрессионный анализ, кора головного мозга, кора мозжечка.

Radiation-Induced Changes in Protein Content in the Brain Neurons

© O. P. Gundarova^{*}, V. P. Fedorov², A. G. Kvaratskheliya¹, N. V. Maslov¹, 2020

¹N.N. Burdenko Voronezh State Medical University, Voronezh, Russia

²Voronezh State Institute of Physical Training, Voronezh, Russia

The aim of research was to study radiation-induced changes in the protein content in the brain neurons after exposure to small doses of ionizing radiation.

Material and methods. The study was performed in compliance with the rules of bioethics. The study included 300 male rats, aged 4 months at the beginning of the experiment, that were exposed to radiation in total doses of 0.1; 0.2; 0.5 and 1 Gy given as a single dose or fractionated (equal portions for 5 days with a dose rate of 0.5 and 6.6 Gy/h). Morphometric and tinctorial parameters of neurons and the dynamics of protein content in the brain neurons over the entire life span of animals were assessed using neuromorphological methods. The results obtained were statistically processed using software packages Statistica 6.1, which included parametric criteria and mathematical modeling.

Results. In animals of the control group and in animals exposed to radiation wave-like changes in the protein content in the brain neurons occurred during the whole life; in animals exposed to irradiation parameters of these changes gradually decreased by the end of the irradiation period. Regression analysis showed that irradiation in the studied doses had a nonlinear stochastic effect on the protein content in neurons, had no dose-time dependence and did not result in significant organic changes in the brain neurons. At the end of the experiment, with the death of both irradiated and control animals, the protein content in neurons was statistically significantly reduced in all groups, but to a greater extent in irradiated animals. Moreover, the greatest decrease in protein content was observed in the pear-shaped neurons of the cerebellar cortex, and the parietal cortex neurons were more resistant to the radiation factor in terms of protein content.

Conclusion. No significant radiation-induced changes in the content and topochemistry of histochemical reaction products were revealed when detecting protein in the structures of brain neurons. At the end of the experiment, the protein content in the neurons of the parietal cortex of the irradiated animals practically correlated to that in animals of age control, and was statistically significantly reduced in other parts of the brain.

Key words: rats, neurons, radiation ionizing, regression analysis, cerebral cortex, cerebellar cortex.

*Автор для переписки:

Гундарова Ольга Петровна
Воронежский государственный медицинский университет
им. Н.Н. Бурденко, ул. Студенческая, 10, Воронеж,
394036, Российская Федерация

*Corresponding author:

O'lga Gundarova
N.N. Burdenko Voronezh State Medical University, ul. Studencheskaya, 10, Voronezh, 394036, Russian Federation
E-mail: episheva65@mail.ru

Введение

В последние годы из-за повышенного радиационного фона значительно возрос интерес исследователей к состоянию белкового и сопряженного с ним нуклеинового обмена различных органов и систем организма [2, 5, 9, 14, 17, 19, 25, 27]. Хотя большинство исследований выполняется на клетках крови [15, 16, 18, 20, 26], не остаются без внимания и нейроны головного мозга [1, 10, 23, 28, 29, 32]. Известно, что на долю белков головного мозга приходится до 40% его сухой массы, и при радиационных воздействиях до 20% поглощенной энергии расходуется именно на повреждение структуры белков [6, 7, 12, 30, 31, 33, 34]. Поэтому метаболизм белка и нуклеиновых кислот в нейронах головного мозга при повышенном радиационном фоне представляет большое практическое значение. Это связано со значительным ростом у ликвидаторов последствий чернобыльской радиационной аварии, облученных даже в регламентированных дозах, психоневрологических заболеваний, занимающих ведущее место в их инвалидизации [3, 4, 11, 13, 14]. Непосредственного изучения содержания и распределения этих метаболитов в нейронах головного мозга после радиационных воздействий не проводилось. Как правило, такие данные частично описаны в работах при изучении изменений нервных и нейроглиальных клеток [4, 10, 13, 35]. В связи с этим имеющихся данных пока недостаточно для корректной оценки радиационно-индуцированных изменений белкового обмена в патологии головного мозга, наблюдаемой у ликвидаторов последствий радиационных аварий.

Целью работы явилась оценка влияния различных режимов воздействия малых доз ионизирующего излучения на содержание белка в нейронах головного мозга.

Материал и методы исследования

Эксперимент спланирован и проведен в ГНИИИ Военной медицины МО РФ. На проведение эксперимента получено разрешение локального этического комитета. В работе ис-

пользовано 300 белых беспородных крыс-самцов в возрасте 4 мес к началу эксперимента, которые были разделены на 9 экспериментальных и 1 контрольную группы (по 30 особей в каждой). Животных 1–4-й групп подвергали общему гамма облучению однократно в дозах 0.1; 0.2; 0.5 и 1.0 Гр соответственно, с мощностью дозы облучения 0.5 Гр/ч. Животных 5–8-й групп облучали фракционировано (равными порциями в течение пяти дней) в суммарных дозах 0.1; 0.2; 0.5 и 1.0 Гр соответственно, с мощностью дозы облучения 0.5 Гр/ч. Животных 9-й группы облучали в дозе 0.5 Гр однократно с мощностью дозы облучения 6.6 Гр/ч. Контролем (10-я группа) служили крысы, подвергавшиеся ложному облучению и исследованные в те же сроки что и облученные. Животных выводили из эксперимента декапитацией под эфирным наркозом с соблюдением норм и правил проведения экспериментов с участием животных в соответствии с принципами биоэтики и правилами лабораторной практики (Приказ МЗ РФ № 267 от 19.06.2003, об утверждении правил лабораторной практики). Объектом исследования служили теменная (поле РА^s), лобная (поле FPA) кора и кора червя мозжечка (culmen). Материал забирали через 1 сут, 6, 12, 18 и 24 мес наблюдения, фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина и 80% пропаноле. После стандартных гистологических процедур на парафиновых срезах толщиной 5 мкм, окрашенных крезилом фиолетовым по методу Ниссля, исследовали морфофункциональные характеристики нейронов по динамике их морфометрических и тинкториальных показателей. Суммарный белок нейронов выявляли окрашиванием реактивом сулема-бромфеноловый синий по методу Бонхега. Содержание белка в нервных клетках определяли по величине оптической плотности конечных продуктов гистохимических реакций в видимой части спектра с помощью плагина компьютерной программы ImageJ. 36 b Wayne Rasband National Institutes of Health, USA.

У каждого животного (n=6) количество нейронов, необходимых для определения нейроморфологических показателей, определяемое методом аккумулированных средних составляло от 400 до 500, что соответствовало 25–30 полям зрения микроскопа МИКМЕД-5 с об. 40. Изучаемые показатели имели распределения близкие к нормальным, так как среднее арифметическое, геометрическое и гармоническое значения незначительно отличались друг от друга, а также с модой и медианой; минимальные и максимальные значения примерно равноудалены от среднего

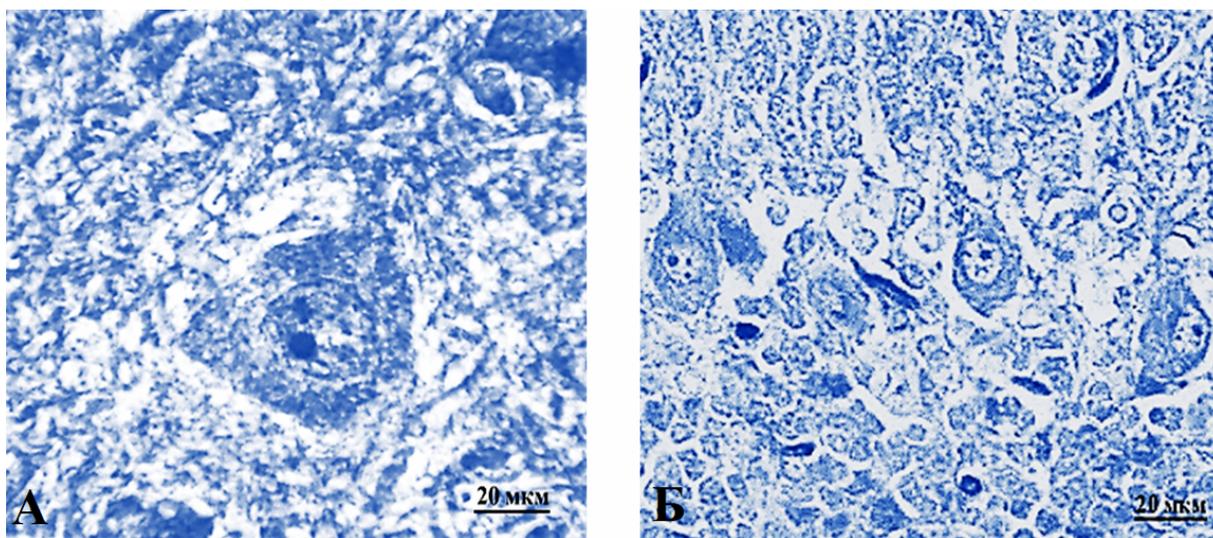


Рис. 1. Топохимия белка в теменной коре (А) и коре мозжечка (Б) контрольных животных. Окраска по методу Бонхега. Об. 40, ок 10.

значения и стандартизированные коэффициенты асимметрии и эксцесса по абсолютной величине меньше 2. При незначительном коэффициенте вариации показатели использовали параметрические методы обработки результатов. Описательную статистику с вычислением средних и доверительных интервалов осуществляли с помощью пакетов программ Statistica 6.1, MS Excel 2007 и использованием рангового однофакторного дисперсионного анализа ANOVA on Ranks. Нулевая гипотеза отвергалась при $p < 0.05$ (t-критерий Стьюдента). Учитывая, что характер и выраженность изменений в нейронах зависит как от дозы облучения, так и прошедшего после облучения времени проведен регрессионный анализ выявленных нейроморфологических показателей с целью установления приоритета каждого из воздействующих факторов на динамику изменений содержания в них белка. Алгоритм проведения экспериментов, обработки, исследования и анализа материала достаточно подробно представлен нами ранее [4, 8, 11, 13].

Результаты и их обсуждение

При окраске срезов головного мозга реактивом сулема–бромфеноловый синий по Бонхегу отмечалось достаточно равномерное окрашивание как нейронов, так и нейропиля в синий цвет различных оттенков. При этом в коре больших полушарий фон окраски был несколько темнее, чем в коре мозжечка. В нейронах отчетливо визуализировалась кариолема, а в ядрах – одно–два ядрышка и несколько интенсивно окрашенных глыбок. При этом ядра в нейронах мозжечка более светлые, чем в коре больших полушарий. Обращает на себя внимание зона просветления вокруг нейронов, что, видимо, связано с отсутствием в этой зоне у нервных волокон миелиновой оболочки. Топохимия распределения

белка в нейронах головного мозга контрольных животных представлена на рис. 1.

Изменения содержания белка в нейронах проявляются изменением интенсивности окраски, появлением в цитоплазме зон очагового, перинуклеарного или тотального просветления, сочетающиеся с участками более интенсивной окраски. В целом изменения содержания белка в нейронах соответствуют таковым на препаратах окрашенных по Ниссию. Данное исследование показало, что у животных с ложным облучением площадь сечения нейронов теменной коры и содержание в них белка в первые 6 мес эксперимента практически не изменялись. Через 12 мес площадь нейронов уменьшалась на 17% по отношению к контролю ($p < 0.05$), а через 18 мес – вновь соответствовала контролю. Содержание общего белка в нейронах контрольных животных к окончанию эксперимента статистически значимо снижалось на 30% (рис. 2).

По ранее опубликованным данным [8, 13], после однократного радиационного воздействия в дозе 0.1 Гр размеры нейронов теменной коры увеличивались, а после облучения в дозах 0.2 Гр и 1.0 Гр – уменьшались. Через 6 мес размеры нейронов после облучения в дозах 0.2 Гр и 1.0 Гр соответствовали возрастному контролю, а после воздействия в дозе 0.1 Гр – превышали его. В конце эксперимента после облучения в дозах 0.1 Гр и 0.2 Гр размеры нейронов соответствовали контролю, а после облучения в дозе 1.0 Гр были на 26% меньше. После фракционированного радиационного воздействия в дозах 0.1 Гр и 1.0 Гр размеры нейронов уменьшались, а после облучения в дозе 0.1 Гр оставалась на этом уровне до конца эксперимента. После облучения в дозе 1.0 Гр размер нейронов к концу наблюдения, как и при воздействии в дозе 0.2 Гр соответствовал контролю.

Содержание белка в нейронах теменной коры через сутки после однократного

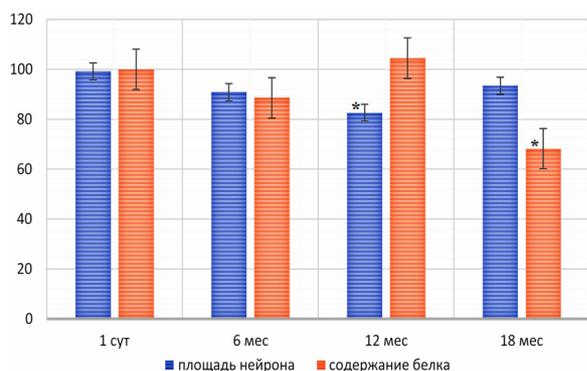


Рис. 2. Динамика изменений размера нейронов теменной коры и содержания в них белка у контрольных животных. Обозначения: по оси абсцисс – сроки после начала эксперимента; по оси ординат – размер нейронов и содержание белка в % к контролю; * – различия с контролем статистически значимы при $p < 0.05$, t -критерий Стьюдента для независимых выборок.

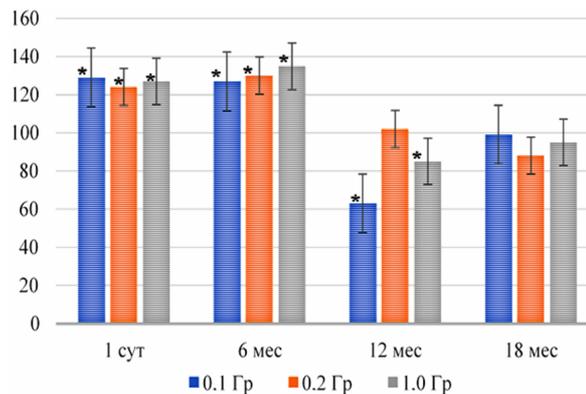


Рис. 3. Динамика изменений содержания общего белка в нейронах теменной коры после однократного облучения в различных дозах. Обозначения: по оси абсцисс – сроки пострадиационного периода; по оси ординат – содержание белка в % к контролю; * – различия с контролем статистически значимы при $p < 0.05$, t -критерий Стьюдента для независимых выборок.

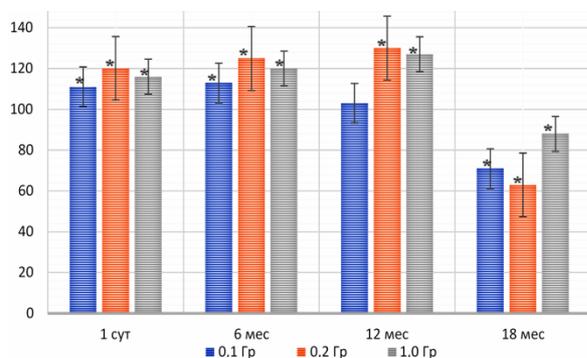


Рис. 4. Динамика изменений содержания общего белка в нейронах теменной коры после фракционированного облучения в различных дозах. Обозначения: по оси абсцисс – сроки пострадиационного периода; по оси ординат – содержание белка в % к контролю; * – различия с контролем статистически значимы при $p < 0.05$, t -критерий Стьюдента для независимых выборок.

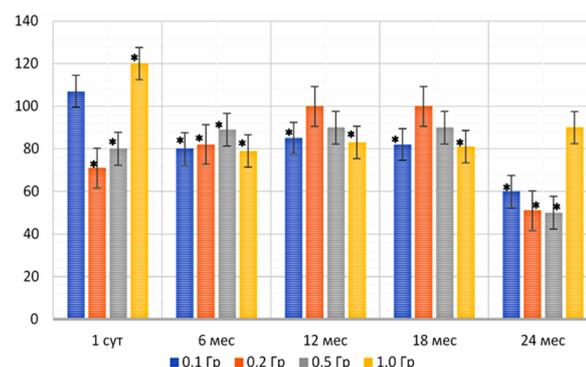


Рис. 5. Динамика изменений содержания общего белка в грушевидных нейронах мозжечка после однократного облучения в различных дозах. Обозначения: по оси абсцисс – сроки пострадиационного периода; по оси ординат – содержание белка в % к контролю; * – различия с контролем статистически значимы при $p < 0.05$, t -критерий Стьюдента для независимых выборок.

облучения по отношению к контролю увеличивалось на 25% ($p < 0.05$). Через 12 мес наблюдения после облучения в дозах 0.1 Гр и 1.0 Гр содержание белка в нейронах статистически значимо уменьшалось на 38% и 17% соответственно, а после воздействия в дозе 0.2 Гр – соответствовало контролю. К концу эксперимента при всех изучаемых дозах радиационного воздействия содержание суммарного белка в нейронах соответствовало нижней границе возрастного контроля (рис. 3).

При фракционированном радиационном воздействии содержание белка в нейронах в первые 12 мес наблюдения превышало контроль ($p < 0.05$), а к окончанию эксперимента статистически значимо уменьшалось по отношению к контролю при дозе облучения 0.1 Гр – на 29%, 0.2 Гр – на 37% и 1.0 Гр – на 12% (рис. 4).

Увеличение содержания белка в нейронах теменной коры после радиационного воздействия, вероятно, в большей мере связано

со снижением функциональной активности нейронов, которое сопровождается уменьшением их размеров и повышением тинкториальных свойств. Это согласуется с данными об увеличении количества нейронов со сниженной функциональной активностью (гиперхромных) в теменной коре при малых радиационных воздействиях [8, 10, 13].

По ранее опубликованным данным [4, 13], размеры грушевидных нейронов мозжечка контрольных животных с возрастом статистически значимо уменьшались [4, 13]. После однократного радиационного воздействия не зависимо от дозы облучения нервные клетки статистически значимо уменьшались в размерах по отношению к контролю, через 6 мес не отличались от него, а в дальнейшие сроки наблюдения после воздействия в дозах 0.2 Гр и 0.5 Гр соответствовали контролю, а после облучения в дозах 0.1 Гр и 1.0 Гр статистически значимо уменьшались. Через сутки после фракционированного воздействия независимо от дозы облучения размер нейронов

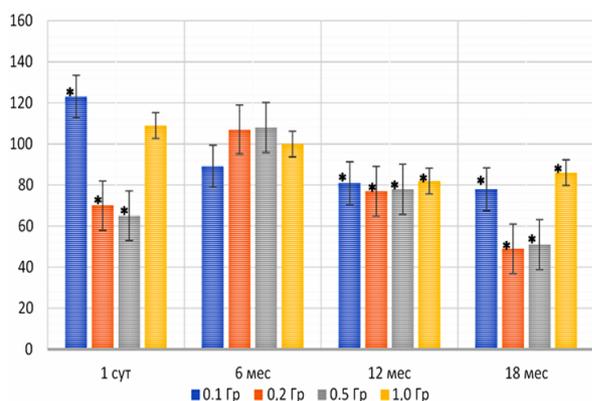


Рис. 6. Динамика изменений содержания белка в грушевидных нейронах мозжечка после фракционированного облучения в различных дозах. Обозначения: по оси абсцисс – сроки пострadiационного периода; по оси ординат – содержание белка в % к контролю; * – различия с контролем статистически значимы при $p < 0.05$, t -критерий Стьюдента для независимых выборок.

статистически значимо уменьшался, но через 12 мес наблюдения соответствовал возрастному контролю (кроме облучения в дозе 0.1 Гр) и оставался на этом уровне до конца пострadiационного периода.

Содержание белка в грушевидных нейронах через сутки после однократного облучения в дозе 0.1 Гр не изменялось, после облучения в дозах 0.2 Гр и 0.5 Гр – снижалось, а после воздействия дозы 1.0 Гр – увеличивалось (рис. 4). Через 6 мес содержание белка в нейронах при всех дозах воздействия радиации было статистически значимо меньше контроля и оставалось на этом уровне до окончания эксперимента (рис. 5).

Соответствие показателя содержания белка в нейронах возрастному контролю через 12 и 18 мес после облучения в дозе 0.2 Гр и через 24 ч после воздействия в дозе 1.0 Гр, видимо, свидетельствует о стохастическом эффекте реакции нейронов мозжечка на малые радиационные воздействия.

При фракционированном радиационном воздействии содержание белка в грушевидных нейронах через 1 сут после облучения в дозе 0.1 Гр увеличивалось, после воздействия в дозах 0.2 Гр и 0.5 Гр уменьшалось, после облучения в дозе 1.0 Гр – не изменялось. Через 6 мес наблюдения содержание белка в нейронах при всех дозах облучения практически соответствовало контролю, а в последующие сроки статистически значимо уменьшалось (рис. 6).

По ранее опубликованным данным [11, 13], размер больших пирамидных нейронов лобной коры контрольных животных с возрастом уменьшался, и через 12 мес после начала эксперимента был статистически значимо меньше исходного. Через сутки после однократного радиационного воздействия в дозе

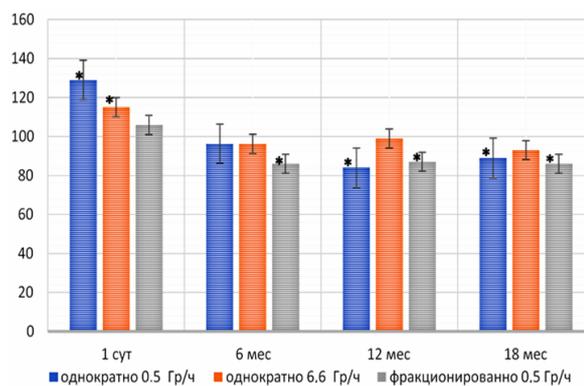


Рис. 7. Динамика содержания общего белка в нейронах лобной коры после однократного облучения в дозе 0.5 Гр с мощностью дозы облучения 0.5 и 6.6 Гр/ч и фракционированного облучения в дозе 0.5 Гр с мощностью дозы облучения 0.5 Гр/ч. Обозначения: по оси абсцисс – сроки наблюдения, по оси ординат – показатели в процентах к возрастному контролю; * – различия с контролем статистически значимы при $p < 0.05$, t -критерий Стьюдента для независимых выборок.

0.5 Гр с мощностью дозы облучения 0.5 Гр/ч размер нейронов не изменялся, а к окончанию эксперимента статистически значимо уменьшался на 24.5% по отношению к возрастному контролю. Содержание общего белка в нейронах через сутки наблюдения увеличивалось, через 6 мес – соответствовало контрольным значениям и к окончанию эксперимента было статистически значимо меньше, чем в контроле (рис. 6). При облучении с мощностью дозы 6.6 Гр/ч размер нейронов через 1 сут не изменялся, через 12 мес – увеличивался на 8.8%, а к окончанию эксперимента – составлял 79.3% ($p < 0.05$) от показателя возрастного контроля. При этом содержание белка в нейронах лобной коры через сутки после облучения с мощностью дозы 6.6 Гр/ч увеличивалось, а в последующие сроки наблюдения – соответствовало таковому у животных с ложным облучением (рис. 7).

По ранее опубликованным данным [11, 13], после фракционированного радиационного воздействия в дозе 0.5 Гр с мощностью дозы облучения 0.5 Гр/ч размеры нейронов через 6 мес статистически значимо увеличивались на 40%, а к окончанию эксперимента – соответствовали возрастному контролю. Содержание общего белка в нейронах лобной коры через сутки после облучения не изменялось, а через 6 мес уменьшалось и составляло 86.9% от контроля ($p < 0.05$). В последующие сроки пострadiационного периода содержание общего белка в нейронах было статистически значимо меньше контроля (рис. 6). При этом снижение содержания белка в нейронах через 6 мес и 12 мес наблюдения, вероятно, в большей мере связано с увеличением размеров нервных клеток при повышении их функциональной активности в ответ на радиационное воздействие, а в конце эксперимента –

со снижением интенсивности их метаболизма [4, 8, 10, 13].

Проведенные нами ранее исследования животных, подвергшихся общему внешнему воздействию ионизирующего излучения в дозах до 1.0 Гр [4, 10, 11, 13, 32], не выявили значимых структурно-функциональных изменений в нейронах головного мозга. В то же время нервные клетки обладают высокой неспецифической реактивностью к малым дозам ионизирующего излучения. При этом наблюдаются лишь стохастические нейроморфологические эффекты, которые, как правило, имеют функциональный характер. Такие изменения в большинстве случаев являются обратимыми, но в отдельные сроки пострadiационного периода способны нарушать баланс между процессами возбуждения и торможения в нервной системе и вызывать нестабильность структурно-функциональной организации нервных клеток. Увеличение в пострadiационном периоде количества нейронов с деструктивными изменениями не приводит к значимому уменьшению количества нервных клеток на площади среза. Кроме того, деструктивно измененные нейроны встречаются изолированно, а не группами, т.е. не формируют очагов с органической патологией. Вполне возможно, что на фоне других вредных и опасных факторов среды или при увеличении дозы радиационного воздействия в головном мозге могут развиваться и патологические изменения [10, 13]. Ранее также было установлено, что с возрастом у животных, подвергшихся ложному облучению в нейронах изученных отделов головного мозга, происходит значимое снижение содержания общего белка, причем в большей степени в лобной коре [13, 32]. При этом показатели содержания белка в отдельные сроки наблюдения не коррелируют с размерами нейронов и, видимо, связаны с изменениями белкового метаболизма [7, 8, 10]. Так как характер и выраженность изменений в нейронах зависит от дозы облучения и времени пострadiационного периода проведен регрессионный анализ выявленных нейроморфологических показателей с целью установления приоритета каждого из воздействующих факторов на динамику изменений содержания в них белка.

Математическую модель динамики изменений содержания белка в нейронах головного мозга при радиационных воздействиях в малых дозах представляли в виде уравнения регрессии:

$$\text{Белок нейронов} = a_0 + a_1x + a_2y + a_3xy + a_4x^2 + a_5y^2 + a_6x^3 + a_7y^3,$$

где 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; a_0 , a_1 , a_2 и т.д. – соответствующие коэффициенты регрессии. Уравнение

регрессии, показывающее радиационно-индуцированные изменения содержания общего белка в грушевидных нервных клетках коры мозжечка в зависимости от дозы однократного радиационного воздействия (x) и времени после облучения (y) имеет вид:

$$\begin{aligned} \text{Белок грушевидных нейронов коры} \\ \text{мозжечка} = 0.757 - 1.255x - 0.547y - \\ - 0.175xy + 2.781x^2 + 1.561y^2 - 1.473x^3 - 1.078y^3. \end{aligned}$$

Диагностическая значимость модели ($R^2=0.66$) и корреляция эффекта с исследуемыми аргументами средняя ($r=0.44$). Из уравнения регрессии следует, что изменение содержания белка в нейронах мозжечка зависит как от дозы облучения (x), так и прошедшего времени (y), но более сильное влияние на содержание белка оказывает доза облучения. Динамика содержания в грушевидных нейронах белка при фракционированном облучении также больше зависит от дозы облучения. Уравнение регрессии имеет вид:

$$\begin{aligned} \text{Белок} = 0.765 - 0.888x - \\ - 0.211y + 0.837x^2 + 0.248y^2. \end{aligned}$$

Диагностическая значимость модели средняя ($R^2=0.65$), а корреляция содержания белка в нейронах с исследуемыми факторами умеренная ($r=0.42$).

Для показателей динамики изменений содержания белка в нейронах теменной коры как при однократном, так и фракционированном облучении математическая модель оказалась неадекватной, так как при ее построении коэффициенты регрессии были незначимыми ($p>0.05$). На показатель оказывал различной степени влияние только один аргумент (x) или (y), что хорошо видно из соответствующих уравнений.

Содержание белка в нейронах теменной коры при однократном облучении = $0.656 + 0.736y - 2.095y^2 + 1.0931y^3$.

Коэффициент диагностической значимости модели $R^2=0.70$, а связь между эффектом и прошедшим временем умеренная – коэффициент корреляции $r=0.49$. Из уравнения следует, что однократное радиационное воздействие практически не влияет на исследуемый показатель, а его изменения зависят от прошедшего после облучения времени. При фракционированном облучении содержание белка в нейронах теменной коры зависит только от дозы облучения, что видно из соответствующего уравнения регрессии.

Содержание белка в нейронах при фракционированном облучении = $0.638 + 2.248x - 11.71x^2 + 9.44x^3$.

Коэффициент диагностической значимости модели $R^2=0.70$, а связь между эффектом и рассматриваемыми факторами умеренная – коэффициент корреляции $r=0.49$.

Уравнение регрессии, описывающее динамику воздействия изучаемых факторов на изменение содержания белка в нейронах лобной коры в зависимости от мощности дозы облучения, выглядит следующим образом:

$$\text{Белок нейронов лобной коры} = 0.641 + 1.461y - 5.231y^2 + 3.399y^3.$$

Из уравнения следует, что изменения содержания белка в нейронах лобной коры зависят только от прошедшего после облучения времени, а мощность радиационного воздействия в изученном диапазоне не влияет на показатель. Коэффициент диагностической значимости модели высокий ($R^2=0.89$) и корреляция содержания белка с прошедшим временем сильная ($r=0.799$).

В целом регрессионный анализ подтвердил, что динамика содержания белка в нейронах головного мозга при исследованных режимах радиационного воздействия не имеет дозовой и временной зависимости, но в конце пострадиационного периода приводит к снижению изучаемых показателей. Аналогичные данные приведены и в работах других авторов [4, 8, 11]. Так в исследовании [4] показано что, через 18 мес после облучения в малых дозах у крыс наблюдается снижение содержания белка в нейронах коры мозжечка как по отношению к контролю, так и к более ранним срокам наблюдения.

Заключение

В результате исследования установлено, что как у контрольных, так и облученных животных на протяжении всей жизни происходят волнообразные изменения размеров нейронов головного мозга и содержания в них общего белка с постепенным снижением показателей к окончанию пострадиационного периода. Регрессионный анализ показал, что облучение в изученных дозах оказывает нелинейное стохастическое влияние на содержание белка в нейронах, не имеет дозовой и временной зависимости и не вызывает значимых органических изменений в нейронах головного мозга. В конце пострадиационного периода, когда наблюдается гибель животных, содержание белка в нейронах статистически значимо уменьшается во всех группах, но в большей степени – у животных, подвергавшихся радиационному воздействию. При этом наибольшее уменьшение содержания белка отмечено в грушевидных нейронах коры мозжечка, а более резистентными к радиационному фактору по содержанию белка оказались нейроны коры теменной доли. Значимых различий в изменении содержания белка в нейронах при изученных режимах облучения не установлено.

Конфликт интересов

Авторы заявляют о отсутствии конфликтов интересов.

Список литературы / References

1. *Батмунх М., Баярчимэг Л., Бугай А.Н., Васильева М.А., Колесникова Е.А.* Моделирование индукции и репарации повреждений ДНК в клетках гиппокампа при действии тяжелых заряженных частиц. Современные вопросы радиационной генетики. Дубна: ОИЯИ; 2019:20–1 [Batmunkh M, Bayarchimeg L, Bugay AN, Kolesnikova EA, Vasilyeva MA. Simulation of DNA damage induction and repair in hippocampal cells after exposure to accelerated heavy charged particles. *Sovremennyye voprosy radiatsionnoy genetiki*. Dubna: OIYaI, 2019: 20–1] (in Russian).
2. *Бирюков А.П., Котеров А.Н.* Роль радиобиологии при оценке радиационного риска. Медико-биологические проблемы жизнедеятельности. 2010;1:25–30 [Biryukov AP, Koterov AN. The radiobiological contribution to radiation safety. *Medical and biological problems of life activity*. 2010;1:25–30] (in Russian).
3. *Григорьев Ю.Г.* Первые недели после аварии на Чернобыльской АЭС (личные оценки). Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2016;61(3):24–9 [Grigoriev YuG. The First Weeks after the Chernobyl Accident (Personal Assessment). *Medical radiology and radiation safety*. 2016;61(3):24–9] (in Russian).
4. *Гундарова О.П., Федоров В.П., Зуев В.Г.* Оценка психоневрологического статуса ликвидаторов радиационных аварий. Воронеж: Научная книга; 2012 [Gundarova O.P., Fedorov V.P., Zuev V.G. *Otsenka psikhonevrologicheskogo statusa likvidatorov radiatsionnykh avarii*. Voronezh: Nauchnaya kniga; 2012] (in Russian).
5. *Жижина Г.П.* Влияние малых доз низкоинтенсивной ионизирующей радиации на структуру и функции ДНК. Радиационная биология. Радиоэкология. 2011;51(2):218–28 [Zhizhina GP. Effect of Small Doses of Low-Intensity Ionizing Radiation on the DNA Structure and Functions. *Radiation Biology. Radioecology*. 2011;51(2):218–28] (in Russian).
6. *Ильин Л.А., Кириллов В.Ф., Коренков И.П.* Радиационная гигиена. М., 2010 [Il'in LA, Kirillov VF, Korenkov IP. *Radiatsionnaya gigiena*. Moscow, 2010] (in Russian).
7. *Мазурик В.К.* Радиационно-химические, молекулярные и биохимические основы биологического действия излучений. В кн.: Радиационная медицина. Под общ. ред. Л.А. Ильина. Т.1. Теоретические основы радиационной медицины. М.: Изд. АТ; 2004:122–89 [Mazurik VK. *Radiatsionno-khimicheskie, molekulyarnye i biokhimicheskie osnovy biologicheskogo deistviya izlucheniya*. V kn.: *Radiatsionnaya meditsina*. Pod obshch. red. L.A. Il'ina. T.1. *Teoreticheskie osnovy radiatsionnoi meditsiny*. Moscow: Izd. AT; 2004:122–89] (in Russian).
8. *Маслов Н.В., Федоров В.П., Зуев В.Г.* Морфофункциональное состояние теменной коры при действии малых доз ионизирующего излучения. Воронеж: Научная книга; 2012 [Maslov NV, Fedorov VP, Zuev VG. *Morfofunktsional'noe sostoyanie temennoy kory pri deistvii malykh doz ioniziruyushchego izlucheniya*. Voronezh: Nauchnaya kniga; 2012] (in Russian).
9. *Озеров И.В., Осипов А.Н.* Кинетическая модель репарации двунитевых разрывов ДНК в первичных фибробластах человека при действии

- редкоионизирующего излучения с различной мощностью дозы. Компьютерные исследования и моделирование. 2015;7(1):159–76 [Ozerov IV, Osipov AN. Kinetic model of DNA double-strand break repair in primary human fibroblasts exposed to low-LET irradiation with various dose rates. *Computer Research and Modeling*. 2015;7(1):159–76] (in Russian).
10. Петров А.В., Федоров В.П. Морфогенетические механизмы изменчивости центральной нервной системы при действии ионизирующего облучения. Вестник Российской военно-медицинской академии. 2008;3:135–6 [Petrov AV, Fedorov VP. Morfogeneticheskie mekhanizmy izmenchivosti tsentral'noi nervnoi sistemy pri deistvii ioniziruyushchego oblucheniya. *Herald of the Russian Military Medical Academy*. 2008;3:135–6] (in Russian).
 11. Сгибнева Н.В., Федоров В.П. Морфофункциональное состояние сенсомоторной коры после малых радиационных воздействий. Воронеж: Научная книга; 2013 [Sgibneva NV, Fedorov VP. Morfofunktsional'noe sostoyanie sensomotornoj kory posle malykh radiatsionnykh vozdeistvii. *Voronezh: Nauchnaya kniga*; 2013] (in Russian).
 12. Стожаров А.Н., Аветисов А.Р., Квиткевич Л.А. Радиационная медицина. Минск, 2009 [Stozharov AN, Avetisov AR, Kvitkevich LA. *Radiatsionnaya meditsina*. Minsk, 2009] (in Russian).
 13. Ушаков И.Б., Федоров В.П. Малые радиационные воздействия и мозг. Воронеж: Научная книга; 2015 [Ushakov IB, Fedorov VP. *Malye radiatsionnye vozdeistviya i mozg*. Voronezh: Nauchnaya kniga; 2015] (in Russian).
 14. Холодова Н.Б. Метаболические и дисциркуляторные изменения в головном мозге в отдаленные сроки после облучения малыми дозами ионизирующего излучения. Журнал неврологии и психиатрии. 2008;108(6):70–1 [Kholodova NB. The metabolic and discirculatory changes in the brain in the remote period after irradiation with small doses. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 2008;108(6):70–1] (in Russian).
 15. Acharya SS, Fendler W, Watson J, Hamilton A, Pan Y, Gaudiano E, et al. Serum microRNAs are early indicators of survival after radiation-induced hematopoietic injury. *Science Translational Medicine*. 2015 May 13;7(287):287ra69–287ra69. doi: 10.1126/scitranslmed.aaa6593
 16. Boichuk S, Dunaev P, Galemnikova A, Bikinieva F, Nurgatina I, Mustafin I, et al. Inhibition of FGFR2-Signaling Attenuates a Homology-Mediated DNA Repair in GIST and Sensitizes Them to DNA-Topoisomerase II Inhibitors. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020 Jan 5;21(1):352. doi: 10.3390/ijms21010352
 17. Egger AL, Inman RB, Cox MM. The Rad51-dependent Pairing of Long DNA Substrates Is Stabilized by Replication Protein A. *Journal of Biological Chemistry*. 2002 Aug 6;277(42):39280–8. doi: 10.1074/jbc.M204328200
 18. Guida MS, El-Aal AA, Kafafy Y, Salama SF, Badr BM, Badr G. Thymoquinone Rescues T Lymphocytes from Gamma Irradiation-Induced Apoptosis and Exhaustion by Modulating Pro-Inflammatory Cytokine Levels and PD-1, Bax, and Bcl-2 Signaling. *Cellular Physiology and Biochemistry*. 2016;38(2):786–800. doi: 10.1159/000443034
 19. Hada M, Georgakilas AG. Formation of Clustered DNA Damage after High-LET Irradiation: A Review. *Journal of Radiation Research*. 2008;49(3):203–10. doi: 10.1269/jrr.07123
 20. Hagiwara Y, Oike T, Niimi A, Yamauchi M, Sato H, Limsirichaikul S, et al. Clustered DNA double-strand break formation and the repair pathway following heavy-ion irradiation. *Journal of Radiation Research*. 2018 Nov 22;60(1):69–79. doi: 10.1093/jrr/try096
 21. Jacob NK, Cooley JV, Yee TN, Jacob J, Alder H, Wickramasinghe P, et al. Identification of Sensitive Serum microRNA Biomarkers for Radiation Biodosimetry. *Camphausen K, editor. PLoS ONE*. 2013 Feb 25;8(2):e57603. doi: 10.1371/journal.pone.0057603
 22. James A, Wang Y, Raje H, Rosby R, DiMario P. Nucleolar stress with and without p53. *Nucleus*. 2014 Aug 5;5(5):402–26. doi: 10.4161/nucl.32235
 23. Kakoti S, Yamauchi M, Gu W, Kato R, Yasuhara T, Hagiwara Y, et al. p53 deficiency augments nucleolar instability after ionizing irradiation. *Oncology Reports*. 2019 Sep 27; 2293–2302. doi: 10.3892/or.2019.7341
 24. Lee M, Lipfert J, Sanchez H, Wyman C, Dekker NH. Structural and torsional properties of the RAD51-dsDNA nucleoprotein filament. *Nucleic Acids Research*. 2013 May 22;41(14):7023–30. doi: 10.1093/nar/gkt425
 25. Niimi A, Yamauchi M, Limsirichaikul S, Sekine R, Oike T, Sato H, et al. Identification of DNA double strand breaks at chromosome boundaries along the track of particle irradiation. *Genes, Chromosomes and Cancer*. 2016 May 16;55(8):650–60. doi: 10.1002/gcc.22367
 26. Sankaranarayanan K, Chakraborty R. Ionizing radiation and genetic risks. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 2000 Oct;453(2):183–97. doi: 10.1016/S0027-5107(00)00106-8
 27. Sneed JL, Grossi SM, Tappin I, Hurwitz J, Heyer W-D. Reconstitution of recombination-associated DNA synthesis with human proteins. *Nucleic Acids Research*. 2013 Mar 27;41(9):4913–25. doi: 10.1093/nar/gkt192
 28. Tang FR, Loke WK, Khoo BC. Low-dose or low-dose-rate ionizing radiation-induced bioeffects in animal models. *Journal of Radiation Research*. 2016 Dec 27;58(2):165–82. doi: 10.1093/jrr/rrw120
 29. Trott KR, Rosemann M. Molecular mechanisms of radiation carcinogenesis and the linear, nonthreshold dose response model of radiation risk estimation. In: *The Effects of Low and Very Low Doses of Ionizing Radiation on Human Health*. Ed. by WONUC. Amsterdam – New-York: Elsevier Sciences B.V. 2000:65–77.
 30. United Nations. UNSCEAR 2006. Report to the General Assembly, with Scientific Annexes. Annex A. Epidemiological studies of radiation and cancer. United Nations. New York. 2008: 17–322.
 31. United Nations. UNSCEAR 2006. Report to the General Assembly, with Scientific Annexes. Annex C. Non-targeted and delayed effects of exposure to ionizing radiation. United Nations. New York. 2009: 1–79.
 32. Ushakov I, Fedorov V, Komarevtsev V.

- Comparative Evaluation of Neuromorphological Effects Under Single and Fractionated Irradiation in Small Doses. Biomedical Journal of Scientific & Technical Research. 2019 Jan 18;13(2):1–3. doi: 10.26717/bjstr.2019.13.002389
33. Wong K-K, Chang S, Weiler SR, Ganesan S, Chaudhuri J, Zhu C, et al. Telomere dysfunction impairs DNA repair and enhances sensitivity to ionizing radiation. Nature Genetics. 2000 Sep;26(1):85–8. doi: 10.1038/79232
34. Xue X, Raynard S, Busygina V, Singh AK, Sung P. Role of Replication Protein A in Double Holliday Junction Dissolution Mediated by the BLM-Topo III α -RMI1-RMI2 Protein Complex. Journal of Biological Chemistry. 2013 Mar 30;288(20):14221–7. doi: 10.1074/jbc.m113.465609
35. Zou Y, Liu Y, Wu X, Shell SM. Functions of human replication protein A (RPA): from DNA replication to DNA damage and stress responses. Journal of cellular physiology [Internet]. 2006;208(2):267–73. doi: 10.1002/jcp.20622
-

Поступила в редакцию 2.03.2020
Принята в печать 17.06.2020

Received 2.03.2020
Accepted 17.06.2020

Для цитирования: Гундарова О.П., Федоров В.П., Кварацхелия А.Г., Маслов Н.В. Радиационно-индуцированные изменения содержания белка в нейронах головного мозга. Журнал анатомии и гистопатологии. 2020; 9(2): 17–25. doi: 10.18499/2225-7357-2020-9-2-17-25

For citation: Gundarova O.P., Fedorov V.P., Kvaratskheliya A.G., Maslov N.V. Radiation-induced changes in protein content in the brain neurons. Journal of Anatomy and Histopathology. 2020; 9(2): 17–25. doi: 10.18499/2225-7357-2020-9-2-17-25
