

DOI: 10.18499/2225-7357-2019-8-3-26-xx

УДК 611.817.1+547.963.32]:612.014.482

03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

© О.П. Гундарова, Е.А. Двурекова, В.П. Федоров, 2019

## Радиационно-индуцированные изменения нуклеиновых кислот нейронов мозжечка

О. П. Гундарова<sup>1\*</sup>, Е. А. Двурекова<sup>2</sup>, В. П. Федоров<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Воронежский государственный институт физической культуры» Воронеж, Россия

**Цель** – исследование радиационно-индуцированных изменений нуклеиновых кислот нейронов коры мозжечка после воздействия малых доз ионизирующего излучения.

**Материал и методы.** Исследование выполнено на 150 крысах-самцах в возрасте 4 мес. к началу эксперимента, подвергшихся однократному воздействию гамма-квантами <sup>60</sup>Co в дозах от 0.1 до 1.0 Гр. Нейроморфологическими методиками оценивали морфометрические и тинкториальные показатели нейронов мозжечка, а также динамику нуклеиновых кислот в нейронах ганглионарного и зернистого слоев коры в течение всей продолжительности жизни животных. Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакетов программ Statistika 6.1, использованием параметрических критериев, математическим моделированием и определением прогноза их развития.

**Результаты.** У контрольных и облученных животных на протяжении всей жизни происходят волнообразные изменения содержания нуклеиновых кислот в нейронах мозжечка с постепенным уменьшением показателей к окончанию пострадиационного периода. При этом изменения ДНК в ядрах и РНК в ядрышках, как правило, связаны с изменениями их размеров, а изменения цитоплазматической РНК, видимо, связаны с различными физиологическим состоянием нейронов (покоем, возбуждением, торможением). Регрессионный анализ показал, что облучение в изучаемых дозах оказывает на нейроморфологические показатели нелинейное стохастическое влияние, не имеет дозо-временной зависимости и не вызывает значимых органических изменений в нейронах мозжечка. В конце пострадиационного периода, когда наблюдается гибель как облученных, так и контрольных животных содержание нуклеиновых кислот в нейронах статистически значимо уменьшается во всех группах, причем в большей степени у облученных животных.

**Заключение.** Значимых радиационно-индуцированных изменений содержания и топохимии продуктов гистохимических реакций при выявлении нуклеиновых кислот в структурах нейронов коры мозжечка не выявлено. Однако в конце эксперимента содержание нуклеиновых кислот в нейронах у облученных животных уменьшается в большей степени, чем у животных возрастного контроля ( $p < 0.05$ ).

**Ключевые слова:** крысы; РНК; ДНК; кора мозжечка; нейроны; ионизирующее излучение; регрессионный анализ.

### Radiation-Induced Changes in the Nucleic Acids of Cerebellar Neurons

© O. P. Gundarova<sup>1\*</sup>, E. A. Dvurekova<sup>2</sup>, V. P. Fedorov<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Burdenko Voronezh State Medical University, Voronezh, Russia

<sup>2</sup>Voronezh State Institute of Physical Training, Voronezh, Russia

**The aim** of research was to study radiation-induced changes in nucleic acids of cerebellar cortex neurons after exposure to small doses of ionizing radiation.

**Material and methods.** The study included 150 male rats aged 4 months at the beginning of the experiment that were subjected to a single exposure of <sup>60</sup>Co  $\gamma$ -rays dosage 0.1–1.0 Gy. Neuromorphological methods evaluated morphometric and tinctorial parameters of cerebellar neurons, as well as the dynamics of nucleic acids in neurons of the ganglion and granular layers of the cortex over the entire life span of animals. The results were statistically processed using Statistika 6.1 software, parametric criteria, mathematical modeling, and defining the potential for their development.

**Results.** The animals of the control and experimental groups manifested wave-like changes in the content of nucleic acids in the cerebellar neurons throughout their life with a gradual decrease in parameters by the end of the post-radiation period. Moreover, DNA changes in the nuclei and RNA changes in the nucleoli were typically associated with changes in their size; however, changes in the cytoplasmic RNA were apparently associated with different physiological conditions of neurons (rest, excitation, inhibition). Regression analysis showed that irradiation in the studied doses had a nonlinear stochastic effect on neuro-morphological parameters, revealed no dose-time dependence and did not cause significant organic changes in cerebellar neurons. At the end of the post-radiation period, with the death of animals in both – experimental and control groups, the content of nucleic acids in neurons statistically significantly decreased in all groups, and this process was more pronounced in the group of irradiated animals.

**Conclusion.** No significant radiation-induced changes were detected in the content and topochemistry of the products of histochemical reactions with the detection of nucleic acids in the structures of neurons of the cerebellar cortex. However, at the end of the experiment, the content of nucleic acids in neurons in irradiated animals decreased more significantly than in animals of age control ( $p < 0.05$ ).

**Keywords:** rats; RNA; DNA; cerebellar cortex; neurons; radiation, ionizing; regression analysis.

**Автор для переписки:**

Гундарова Ольга Петровна  
Воронежский государственный медицинский университет  
им Н.Н. Бурденко, ул. Студенческая, 10, г. Воронеж,  
394036, Россия  
E-mail: episheva65@mail.ru  
**Corresponding author:**  
Olga Gundarova  
Burdenko Voronezh State Medical University, ul. Stude-  
ncheskaya, 10, Voronezh, 394036, Russia  
E-mail: episheva65@mail.ru

**Введение**

Важнейшей радиационной мишенью клеток являются нуклеиновые кислоты. Уже в первых обзорах проблемы [3, 8] показано, что под действием ионизирующего излучения нарушается синтез ДНК, структура ДНК-матрицы, затем – синтез РНК. Отмечено стимулирующее действие облучения в дозах до 1.0 Гр на активность ДНКаз и РНКаз головного мозга [8, 17, 18]. По этим показателям предпринимались попытки оценить зависимости «доза–эффект», скорость восстановления и сравнительную радиоустойчивость мозговых структур. Установлено снижение содержания ДНК и РНК в первые сутки после облучения кроликов в дозе 6.0 Гр как в спинном, так и в головном мозге. Также показано полное восстановление разрывов нитей ДНК нейронов мозжечка крыс в течение 38 ч после гамма-облучения головы в дозе 50 Гр [3]. Сразу после облучения головы в дозах от 4 до 17 Гр в нейронах мозжечка наблюдалось снижение количества ДНК с коэффициентом седиментации 300S. При этом установлена положительная корреляционная связь между степенью постлучевой дегградации ДНК и пикнозом ядер клеток. В серии последующих исследований показана линейная зависимость между поглощенной дозой и числом разрывов нитей ДНК для нейронов, глиальных и эндотелиальных клеток головного мозга при дозах облучения до 18 Гр. Однако большинство разрывов нитей ДНК подвергались репарации уже в течение 30 мин после радиационного воздействия. Более выраженные ранние эффекты разрывов нитей ДНК и снижение скорости ее синтеза получены после облучения развивающегося мозга. Так подавление синтеза ДНК в мозжечке крысят зарегистрировано уже через 10 ч после облучения в дозе 1.5 Гр, а у 10-дневных животных – лишь через 18 ч. Интересно, что влияние облучения на синтез ДНК в мозжечке было более выражено, чем в других отделах мозга, но пока недостаточно данных для интерпретации вклада изменений ДНК в развитие радиocereбральных эффектов [3].

Предполагают, что ответ клеток на облучение определяется изменением экспрессии генов, модулирующих внутриклеточные программы функционирования [12]. При действии малых доз ионизирующего излучения наблюдаются одно- и двунитевые разрывы

ДНК, кластерные повреждения нитей ДНК, модификация оснований, инверсия генов и конформационные модификации ДНК. Последствия этих повреждений (изменения активности генов, индукция репаративных процессов или апоптоза, адаптивный ответ) отличаются от результатов действия радиации в больших дозах [2, 5, 26, 27]. Вместе с тем регламентация малых доз радиации основывается на экспериментальных исследованиях полноты репарации (ДНК), а также на индукции опухолей у лабораторных животных [1, 7, 16, 23, 29]. Это установлено, как правило *in vitro*, но на уровне целого организма остается практически не изученным. Такие исследования необходимы для оценки последствий облучения в малых дозах и оценки уже имеющихся и перспективных методов лучевой терапии [4, 13, 25]. Вместе с тем прямых доказательств радиационно-индуцированной наследуемой патологии у человека не установлено, а экспериментальные исследования показали некорректность интерпретаций результатов опытов на клеточных культурах для возможной ситуации *in vivo* [6, 15, 28]. В связи с этим до настоящего времени для человека не установлены радиационно-индуцируемые наследуемые генетические патологии. В частности, эпидемиологические исследования последствий атомных бомбардировок в Японии не выявили доказательств наследуемой патологии для потомков хибакуси [1, 7, 30, 32].

В последние годы литература о радиационно-индуцированном изменении нуклеиновых кислот в нейронах головного мозга стремительно пополняется многочисленными работами. Однако принципиально новых данных не получено, а морфологические исследования распределения нуклеиновых кислот в нейронах головного мозга практически не проводятся [9, 10, 11]. Целью данного исследования явилось изучение состояния нуклеиновых кислот в нейронах коры мозжечка крыс после облучения в дозах от 0.1 до 1.0 Гр на протяжении всей продолжительности жизни.

**Материал и методы исследования**

Эксперимент проведен в Государственном научно-исследовательском испытательном институте военной медицины МО РФ и одобрен локальным этическим комитетом. В основу эксперимента положены дозы радиационного облучения, полученные ликвидаторами последствий чернобыльской катастрофы, профессиональное долголетие и состояние их здоровья на протяжении всей последующей жизни. Исследование выполнено на 150 белых беспородных крысах-самцах в возрасте 4 мес. (соответствует среднему возрасту ликвидаторов 27–28 лет), которых однократно облучали гамма квантами ( $^{60}\text{Co}$ ) в дозах 0.1; 0.2; 0.5 и 1.0 Гр с мощностью дозы

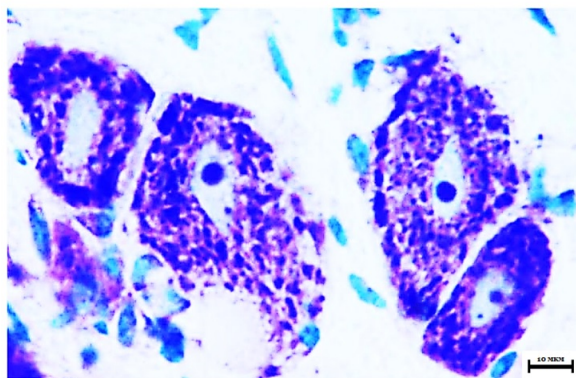


Рис. 1. Топохимия нуклеиновых кислот в нервных и глиальных клетках коры червя мозжечка: ДНК в ядрах и РНК в цитоплазме и ядрышках. Окраска по методу Shea. Ув. 2000.

радиационного воздействия 50 сГр/ч. На протяжении всего эксперимента животные находились в условиях вивария без ограничения доступа к воде и пище. При работе с экспериментальными животными и выводе их из эксперимента учитывались требования Европейской конвенции по защите позвоночных, используемых для экспериментальных или иных научных целей (Страсбург, 1986). Для проведения эксперимента сформировано 20 экспериментальных групп животных (по 6 особей в каждой), подвергавшихся гамма-облучению и 5 контрольных групп (по 6 животных в каждой), подвергавшихся ложному облучению и исследованных в те же сроки что и облученные животные. Участки коры червя мозжечка (culmen) забирали через 1 сут. (время возможной первичной реакции на облучение), 6 (возраст профессиональной работоспособности ликвидаторов 39–40 лет), 12 (предельный возраст для военнослужащих того времени 45–50 лет), 18 и 24 мес. после начала эксперимента. Выбор доз облучения и сроков исследования обусловлен техническим заданием, связанным с возможной экстраполяцией полученных данных на ликвидаторов последствий аварии на Чернобыльской АЭС.

Животных выводили из эксперимента декапитацией под эфирным наркозом. Материал фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, 80% пропанолем или замораживали в твердой углекислоте. После стандартных гистологических процедур на парафиновых срезах, окрашенных крезилем фиолетовым по методу Ниссля, оценивали динамику морфометрических и тинкториальных показателей нейронов. Выявление нуклеиновых кислот проводили на криостатных и парафиновых срезах, окрашенных по методу S. Shea (1970), с соответствующим контролем РНКазой и ДНКазой. В результате в цитоплазме и ядрышке нейронов выявляется РНК, а в нуклеоплазме ядер – ДНК, окрашиваемые в различные цвета. Как правило, структуры, содержащие РНК, окрашиваются в интенсивно сиреневый цвет, а структуры содержащие

ДНК – в сине-зеленый, что позволяет легко их дифференцировать (рис. 1). Варианты окраски при выявлении нуклеиновых кислот могут варьировать в зависимости от методов фиксации и проведения гистохимических процедур, но всегда ДНК и РНК окрашиваются в различные цвета. Оценку содержания цитоплазматической и ядерной РНК проводили в грушевидных нейронах, а ядерной ДНК – в грушевидных и зернистых нейронах коры червя мозжечка после фиксации в пропанолем на парафиновых срезах.

Морфометрические исследования (размеры цитоплазмы, ядра и ядрышка), а также содержание РНК в цитоплазме и ядрышках, и ДНК в ядрах нейронов проводили с помощью компьютерной программы Image J (USA). Количество нейронов у каждого животного, необходимых для определения нейроморфологических показателей, определяемое методом аккумулированных средних, составляло от 300 до 400. В итоге рассматриваемые показатели имеют распределения близкие к нормальным, так как среднее арифметическое, геометрическое и гармоническое значения незначительно отличаются друг от друга, а также с модой и медианой; минимальные и максимальные значения примерно равноудалены от среднего значения и стандартизированные коэффициенты асимметрии и эксцесса по абсолютной величине меньше 2. При незначительном коэффициенте вариации показателей в данном случае возможно использование параметрических методов обработки результатов. Описательную статистику с вычислением средних и доверительные интервалы осуществляли с помощью пакетов программ Statistica 6.1, MSExcel 2007 и MathCad 14 с последующим математическим моделированием нейроморфологических показателей, определением прогноза их развития и экстраполяцией на человека. Алгоритм проведения эксперимента, обработки, исследования и статистического анализа материала достаточно подробно представлен нами ранее [11].

## Результаты и обсуждение

Проведенные нами ранее исследования полной продолжительности жизни животных, подвергшихся внешнему воздействию ионизирующего излучения в дозах до 1.0 Гр, не выявили значимых органических изменений в нейронах головного мозга. В то же время нервные клетки обладают высокой неспецифической реактивностью к воздействию 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 пострадиационного

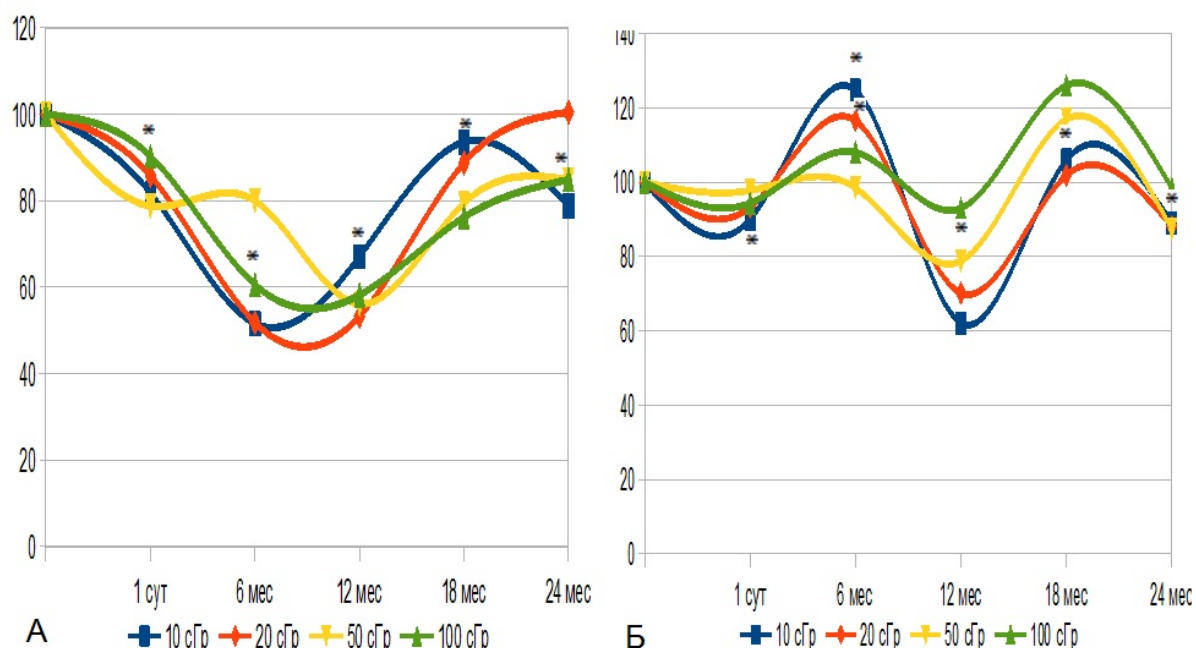


Рис. 2. Динамика изменений площади цитоплазмы (А) и содержания РНК в цитоплазме клеток Пуркинье после малых радиационных воздействий. Обозначения: по оси абсцисс – время после радиационного воздействия; по оси ординат – размер цитоплазмы и содержание цитоплазматической РНК (в % к контролю); статистически значимые различия обозначены \* (см. табл. 1).

периода способны нарушать баланс между процессами возбуждения и торможения в нервной системе, а ряде случаев и нестабильность структурно-функциональной организации нервных клеток. Вполне возможно, что на фоне других вредных и опасных факторов среды или увеличения дозы радиационного воздействия в нервной системе могут развиваться и патологические изменения [9, 10, 11].

Настоящее исследование показало, что после радиационного воздействия размеры нейронов и, в частности, размер перикариона клеток Пуркинье уменьшался на протяжении 6 мес. пострадиационного периода, спустя 12 мес. размер цитоплазмы увеличивался и при облучении в дозе 0.2 Гр в конце наблюдения соответствовал возрастному контролю (рис. 2). Динамика площади цитоплазмы грушевидных нейронов после однократного радиационного воздействия в малых дозах на протяжении всего пострадиационного периода представлена в табл. 1.

В первые сутки после облучения в цитоплазме нейронов содержание РНК уменьшалось, причем при дозе облучения 0.1 Гр оно было статистически значимым. Через 6 мес. наблюдения содержание РНК в цитоплазме при облучении в дозах 0.5 и 1.0 Гр соответствовало контролю, а при 0.1 и 0.2 Гр статистически значимо превышало его. При всех исследованных дозах радиационного воздействия через 12 мес. В пострадиационном периоде наблюдалось достоверное уменьшение содержания цитоплазматической РНК, причем в большей мере – при самой малой дозе ра-

диационного воздействия. Интересно, что в последующий срок наблюдения показатель содержания РНК в цитоплазме увеличивался и при облучении в дозах до 0.2 Гр соответствовал контролю, а при больших дозах статистически достоверно превышал его. К окончанию эксперимента содержание РНК в цитоплазме нейронов независимо от дозы облучения уменьшалось (рис. 2). Динамика содержания цитоплазматической РНК после однократного радиационного воздействия в малых дозах на протяжении всей последующей жизни представлена в табл. 1.

При всех дозах облучения через сутки после воздействия кариометрические показатели грушевидных нейронов мозжечка снижались, причем в большей степени при дозе 1.0 Гр. Не зависимо от дозы облучения кариометрические показатели нейронов через 6 и 12 мес. наблюдения были меньше возрастного контроля ( $P < 0.05$ ). Примечательно, что при радиационном воздействии в дозе 0.1 Гр размер ядер нейронов через 12 мес. после начала эксперимента соответствовал таковому в контроле, а через 18 мес. статистически значимо уменьшался, тогда как при других воздействиях кариометрические показатели через 18 мес. практически соответствовали возрастному контролю. К окончанию эксперимента кариометрические показатели нейронов при дозах облучения 0.1, 0.2 и 1.0 Гр превышали возрастной контроль. Примечательно, что при дозе 0.5 Гр в эти сроки наблюдения размер ядер нервных клеток был меньше, по сравнению с контролем, что свидетельствует о

Таблица 1

**Динамика нуклеиновых кислот в нейронах коры мозжечка после радиационного воздействия в малых дозах (экстинкции,  $M \pm m$ )**

Время после облучения	Доза облучения, Гр	РНК нейронов ганглионарного слоя		ДНК нейронов	
		Цитоплазма	Ядрышко	Ядра нейронов ганглионарного слоя	Ядра нейронов зернистого слоя
1 сут	контроль	3.0±0.02	3.1±0.04	2.2±0.09	2.4±0.01
	0.1	2.7±0.04*	2.7±0.03*	2.4±0.03	2.1±0.02*
	0.2	2.8±0.04	2.7±0.03*	2.0±0.05*	2.4±0.01
	0.5	2.9±0.06	2.8±0.03*	2.4±0.05	2.3±0.02
	1.0	2.8±0.06	3.1±0.06	2.0±0.02*	2.2±0.01*
6 мес.	контроль	2.0±0.01	2.1±0.01	1.9±0.02	1.8±0.03
	0.1	2.5±0.08*	2.3±0.06*	2.0±0.04	2.0±0.05*
	0.2	2.4±0.04*	2.2±0.02*	2.0±0.03	1.9±0.02
	0.5	2.0±0.01	2.0±0.03	2.0±0.08	1.7±0.02
	1.0	2.2±0.07	2.2±0.09*	1.9±0.04	1.8±0.04
12 мес.	контроль	2.1±0.04	2.2±0.05	1.9±0.02	1.6±0.05
	0.1	1.3±0.02*	1.3±0.01*	1.3±0.01*	1.1±0.01*
	0.2	1.5±0.03*	2.1±0.04	2.1±0.03	1.6±0.01*
	0.5	1.7±0.03*	1.5±0.07*	1.5±0.03*	1.3±0.01*
	1.0	2.0±0.02	1.9±0.08*	1.7±0.08	1.4±0.04*
18 мес.	контроль	2.6±0.07	2.7±0.10	2.4±0.06	2.2±0.04
	0.1	2.7±0.04	2.8±0.06	2.5±0.04	2.4±0.03*
	0.2	2.7±0.05	2.6±0.07	2.5±0.41	2.1±0.05
	0.5	3.1±0.05*	2.9±0.07	2.2±0.07*	2.0±0.07*
	1.0	3.0±0.04*	2.9±0.07	2.8±0.49*	2.4±0.04
24 мес.	контроль	2.2±0.02	2.0±0.06	1.9±0.06	1.8±0.03
	0.1	1.9±0.07*	1.8±0.06*	1.7±0.08	1.5±0.03*
	0.2	1.7±0.01*	1.6±0.02*	1.5±0.01*	1.4±0.01*
	0.5	1.7±0.02*	1.7±0.10*	1.5±0.03*	1.4±0.04*
	1.0	1.9±0.03*	1.7±0.04*	1.6±0.04*	1.6±0.05*

Примечание: \* – статистически значимые различия по сравнению с контролем ( $p < 0.05$ ).

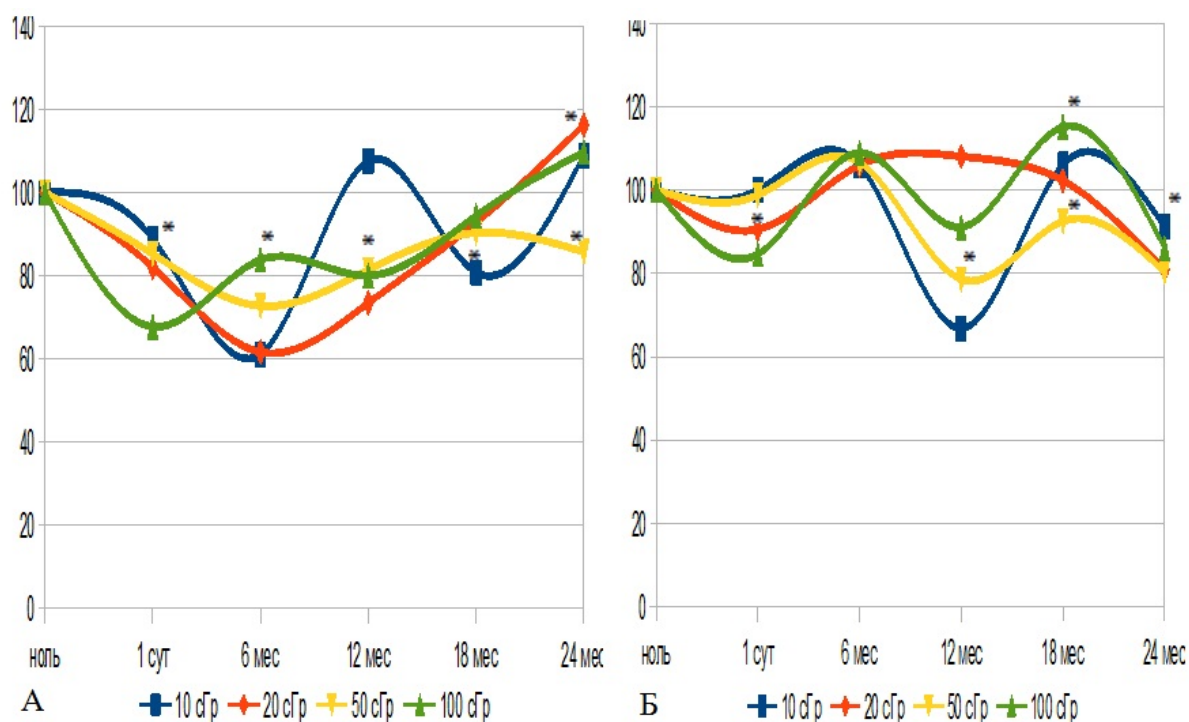


Рис. 3. Динамика изменений площади сечения ядер (А) и содержания ДНК (Б) в клетках Пуркинье после облучения в малых дозах. Обозначения: по оси абсцисс – время после радиационного воздействия; по оси ординат – размер ядер и содержание ядерной ДНК (в % к контролю); статистически значимые различия обозначены \* (см. табл. 1).



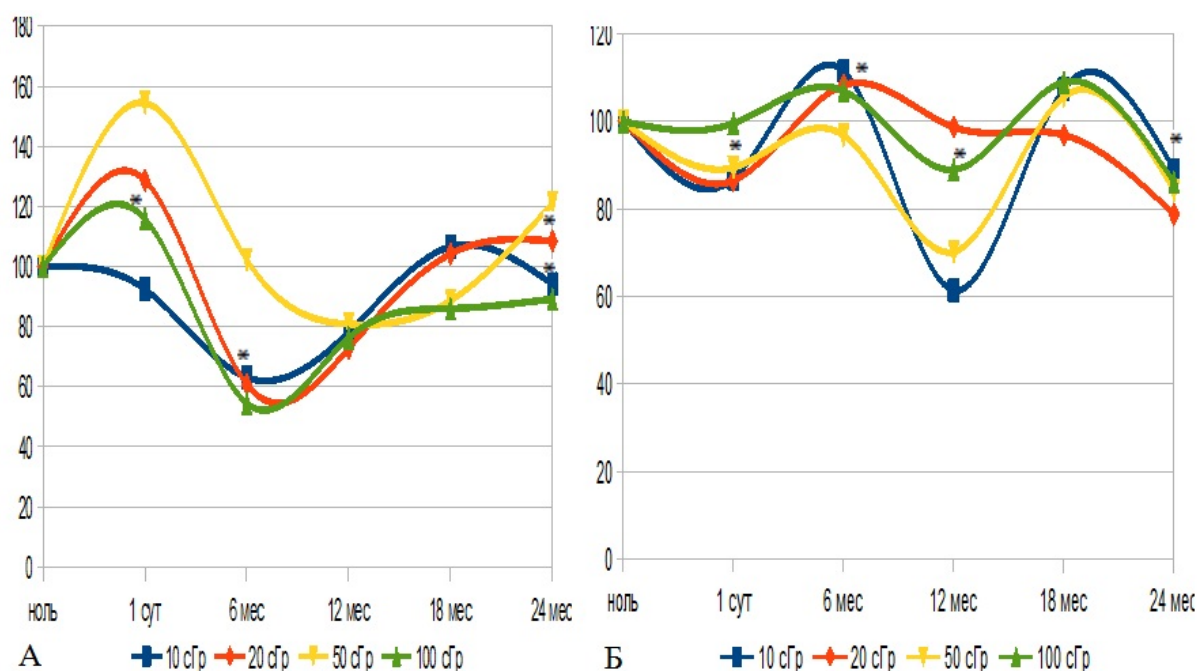


Рис. 4. Динамика изменений площади сечения ядрышек (А) и содержания РНК (Б) в ядрышках клеток Пуркинье после малых радиационных воздействий. Обозначения: по оси абсцисс – время после радиационного воздействия; по оси ординат – размер ядрышек и содержание ядрышковой РНК (в % к контролю); статистически значимые различия обозначены \* (см. табл. 1).

нелинейном стохастическом их изменении при действии малых доз ионизирующего излучения (рис. 3).

Через сутки после радиационного воздействия в дозах 0.1 и 0.5 Гр содержание ДНК в ядрах грушевидных нейронов мозжечка соответствовало контролю, а при других изученных дозах облучения снижалось. Через 6 мес. пострadiационного периода содержание ядерной ДНК независимо от дозы радиационного воздействия практически соответствовало контролю и оставалось на этом уровне при дозах 0.2 и 1.0 Гр и через 12 мес. наблюдения. При дозах облучения 0.1 и 0.5 Гр содержание ядерной ДНК уменьшалось. Через 18 мес. после начала эксперимента динамика изменений содержания ДНК в ядрах нейронов носила разнонаправленный характер. При дозах облучения 0.1 и 0.2 Гр показатели практически не отличались, при 0.5 Гр были меньше, а при 1.0 Гр – больше показателей возрастного контроля. Через 24 мес. пострadiационного периода показатели содержания ядерной ДНК уменьшались (рис. 3). Аналогичные изменения ядерной ДНК наблюдались и у нейронов зернистого слоя. Динамика содержания ДНК в ядрах нейронов ганглионарного и зернистого слоев коры червя мозжечка после общего однократного радиационного воздействия в дозах от 0.1 до 1.0 Гр представлена в табл. 1.

Размер ядрышек грушевидных нейронов мозжечка через сутки после радиационного воздействия в дозах 0.2, 0.5 и 1.0 Гр увеличивался, а при дозе 0.1 Гр практически соответствовал контролю. Через 6 мес. экспери-

мента размер ядрышек нейронов при дозе облучения 0.5 Гр соответствовал контролю, а при других исследованных дозах снижался. Через 12 мес. данный показатель увеличивался и практически не отличался от возрастного контроля. Через 18 мес. наблюдения изменения размеров ядрышек при различных дозах облучения были не однонаправленными: при облучении до 0.2 Гр показатель не отличался от возрастного контроля, при 0.5 и 1.0 Гр достоверно снижался. Через 24 ч размер ядрышек нейронов при дозах облучения 0.1 и 1.0 Гр был статистически достоверно меньше возрастного контроля, а при дозах облучения 0.2 и 0.5 Гр превышал его (рис. 4).

После облучения в дозе 1.0 Гр содержание РНК в ядрышках грушевидных нейронов мозжечка не изменялось, а при меньших дозах радиационного воздействия – снижалось. Через 6 мес. при дозе облучения 0.5 Гр содержание ядрышковой РНК нейронов соответствовало контролю, а при других дозах облучения превышало его. Через 12 мес. содержание РНК в ядрышках при дозе облучения 0.2 Гр соответствовало контролю, а при других дозах было статистически значимо снижено. Через 18 мес. независимо от дозы радиационного воздействия содержание РНК в ядрышках нейронов соответствовало контролю, а через 24 мес. после начала эксперимента снижалось (рис. 4). Содержание нуклеиновых кислот в нейронах коры мозжечка после облучения в малых дозах в течение всей продолжительности жизни представлено в табл. 1. Из таблицы следует, что изменения нуклеиновых кислот в пострadiационном периоде имеют стохастиче-

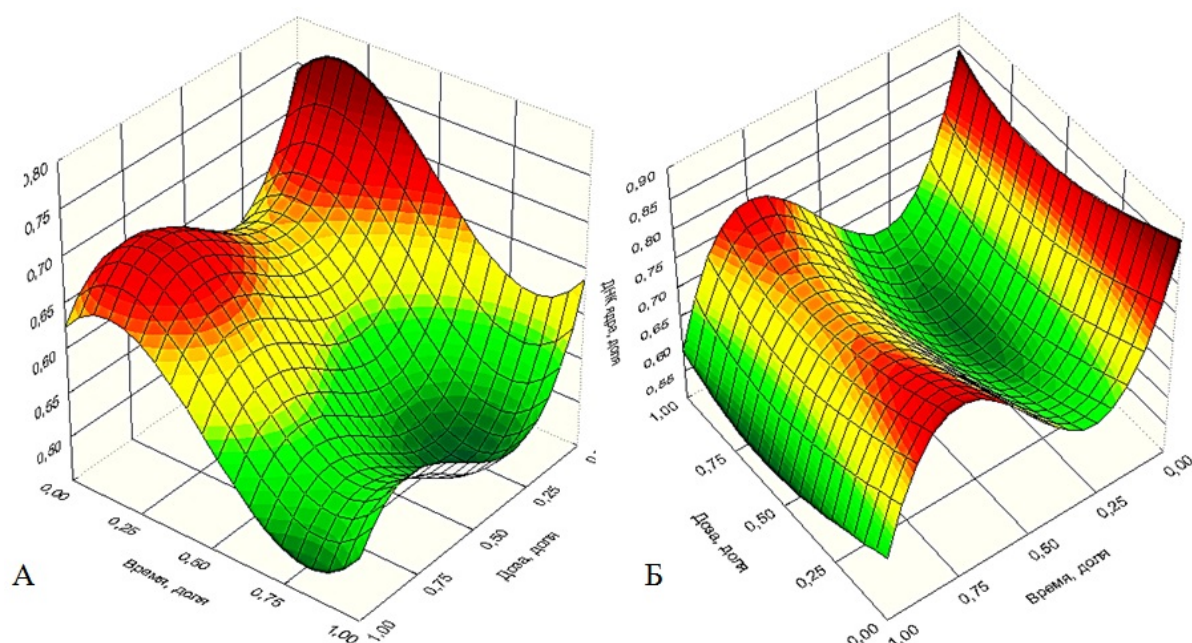


Рис. 5. График зависимости динамики размера ядер (А) и содержания в ядрах ДНК (Б) нейронов ганглионарного слоя коры мозжечка от дозы радиационного воздействия и времени прошедшего после облучения.

ческий волнообразный характер, не зависящий от дозо-временных параметров. Через 24 мес. после начала эксперимента, когда наблюдается гибель как облученных, так и контрольных животных, содержание цитоплазматической и ядрышковой РНК, а также ядерной ДНК в нейронах статистически значимо снижается во всех экспериментальных группах, причем в большей степени у облученных животных.

С использованием регрессионного анализа проведено математическое моделирование результатов исследования динамики нуклеиновых кислот клеток Пуркинье мозжечка в пострадиационном периоде. Получено уравнение регрессии математической модели:

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

где  $\Pi$  – изучаемый показатель,  $x$  – доза облучения в Гр;  $y$  – время, прошедшее после облучения;  $xy$  – взаимное влияние дозы облучения и времени пострадиационного периода;  $x$ ,  $y$  и  $x^2$ ,  $y^2$ ,  $x^3$ ,  $y^3$  – нелинейное влияние на показатель дозы радиационного воздействия и времени пострадиационного периода. При составлении уравнений для коэффициентов регрессии учитывались только показатели с уровнем значимости  $p > 0.05$ . Алгоритм расчетов достаточно подробно приведен нами в работах [11].

Уравнения регрессии, описывающие радиационно-индуцированные изменения кариометрических показателей клеток Пуркинье (1) и динамику содержания ядерной ДНК (2), имеют вид:

$$\Pi = 0.742 - 0.954x + 0.427y + 2.083x^2 - 1.649y^2 - 1.248x^3 + 1.119y^3 \quad (1)$$

$$\Pi = 0.872 - 0.179x - 1.994y + 4.979y^2 + 0.149x^3 - 3.241y^3 \quad (2)$$

Графическая функция моделей представлена на рис. 5.

Диагностическая значимость математической модели для размера ядер нейронов средняя ( $R^2=0.59$ ), а связь аргументов слабая ( $r=0.35$ ). Для динамики содержания ядерной ДНК диагностическая значимость модели высокая ( $R^2=0.74$ ), а связь аргументов средняя ( $r=0.55$ ). Из уравнений регрессии видно, что динамика исследуемых показателей зависит от дозы радиационного воздействия и времени пострадиационного периода. При этом на динамику кариометрических показателей большее влияние оказывает доза облучения, а на динамику ядерной ДНК – время пострадиационного периода.

Для показателей содержания РНК в цитоплазме и ядрышках клеток Пуркинье уравнение регрессии не получено, так как их динамика достоверно зависела только от одного аргумента – времени пострадиационного периода. Доза облучения на всем пострадиационном периоде оказывала на эти показатели нелинейное стохастическое влияние.

## Заключение

У контрольных и облученных животных на протяжении всей жизни происходят волнообразные изменения содержания нуклеиновых кислот в нейронах коры мозжечка с постепенным снижением показателей к окончанию срока наблюдений. При этом динамика содержания РНК в цитоплазме больше отражает функциональную активность нервных клеток, а динамика содержания ядерной ДНК и

ядрышковой РНК, как правило, связаны с изменениями их размеров. Значимых изменений содержания и топохимии продуктов гистохимических реакций при выявлении нуклеиновых кислот в структурах нейронов в пострадиационном периоде не обнаружено. Регрессионный анализ подтвердил, что однократное общее облучение в малых дозах оказывает на изучаемые нейроморфологические показатели нелинейное стохастическое влияние, не вызывающее значимых органических изменений в нейронах коры червя мозжечка. В конце эксперимента (24 мес. пострадиационного периода), когда наблюдается гибель как облученных, так и контрольных животных содержание нуклеиновых кислот в нейронах коры червя мозжечка статистически значимо уменьшается во всех экспериментальных группах, причем в большей мере у облученных животных.

### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

### Список литературы / References

1. 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 role of radiobiology in the assessment of radiation risk // Medical and biological problems of life. 2010; 1: 25–30] (in Russian).
2. Газиев А.И. Фрагменты ДНК из гибнувших клеток можно рассматривать как мобильные генетические элементы, индуцирующие мутагенез // Актуальные проблемы радиобиологии и астробиологии. Генетические и эпигенетические эффекты ионизирующих излучений. Дубна, 2016: 13–4 [Gaziev AI. Fragmenty DNK iz gibnuvshikh kletok možno rassmatrivat' kak mobil'nye geneticheskie elementy, indutsiruyushchie mutagenez // Aktual'nye problemy radiobiologii i astrobiologii. Geneticheskie i epigeneticheskie efekty ioniziruyushchikh izluchenij. Dubna, 2016: 13–4] (in Russian).
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 [Davydov BI, Ushakov IB. Ioniziruyushchie izlucheniya i mozg: povedencheskie i strukturno-funktsional'nye pattern // Itogi nauki i tekhniki. Radiatsionnaya biologiya. Moscow: VINITI, 1987. 336] (in Russian).
4. Евдокимовский Э.В., Абдуллаев С.А., Митрошина И.Ю., Губина Н.Е. Облучение головного мозга влияет на число копий мтДНК и ее транскриптов в необлученных тканях мышей // Актуальные проблемы радиобиологии и астробиологии. Генетические и эпигенетические эффекты ионизирующих излучений. Дубна, 2016: 19–20 [Evdokimovskij EV, Abdullaev SA, Mitroshina IYu, Gubina NE. Obluchenie golovnoy mozga vliyaet na chislo kopij mtDNK i ee transkriptov v neobluchennykh tkanyakh myshej // Aktual'nye problemy radiobiologii i astrobiologii. Geneticheskie i epigeneticheskie efekty ioniziruyushchikh izluchenij. Dubna, 2016: 19–20] (in Russian).
5. Жижина Г.П., Заварыкина Т.М., Фаткуллина Л.Д., Голощанов А.Н., Бурлакова Е.Б. Действие малых доз ионизирующей радиации и фенозана на структуру ДНК и мембран клеток мышей // Актуальные проблемы радиобиологии и астробиологии. Генетические и эпигенетические эффекты ионизирующих излучений. Дубна, 2016: 20–3 [Zhizhina GP, Zavarykina TM, Fatkullina LD, Goloshchapov AN, Burlakova EB. Dejstvie malyx doz ioniziruyushchej radiatsii i fenozana na strukturu DNK i membran kletok myshej // Aktual'nye problemy radiobiologii i astrobiologii. Geneticheskie i epigeneticheskie efekty ioniziruyushchikh izluchenij. Dubna, 2016: 20–3] (in Russian).
6. Котеров А.Н. Ограничения при распространении закономерностей для клеток in vitro на область радиационной медицины // Мед. радиология и радиац. безопасность. 2009; 54(5): 5–14 [Koterov AN. Restrictions on the distribution of laws for cells in vitro in the field of radiation medicine // Med. radiology and radiation safety. 2009; 54(5): 5–14] (in Russian).
7. Котеров А.Н. Малые дозы и малые мощности доз ионизирующей радиации: регламентация диапазонов, критерии их формирования и реалии XXI века // Мед. радиология и радиац. безопасность. 2009; 54(3): 5–26 [Koterov AN. Small doses and low power doses of ionizing radiation: regulation of ranges, criteria for their formation and the realities of the XXI century // Med. radiology and radiation safety. 2009; 54(3): 5–26] (in Russian).
8. Рева А.Д. Ионизирующие излучения и нейрхимия. М.: Атомиздат, 1974: 240 [Reva AD. Ioniziruyushchie izlucheniya i nejrokhimiya. Moscow: Atomizdat, 1974: 240] (in Russian).
9. Ушаков И.Б., Федоров В.П., Гундарова О.П. Нейроморфологические корреляты малых радиационных воздействий // Мед.-биол. и соц.-психол. пробл. безопасности в чрезв. ситуациях. 2016; 1: 71–8 [Ushakov IB., Fedorov VP., Gundarova OP. Neuromorphological correlates of small radiation effects // Medico-biological and socio-psychological problems of safety in emergency situations. 2016; 1: 71–8] (in Russian).
10. Ушаков И.Б., Федоров В.П. Нейроморфологические корреляты пролонгированных радиационных воздействий // Мед.-биол. и соц.-психол. пробл. безопасности в чрезв. ситуациях. 2018; 3: 85–95 [Ushakov IB., Fedorov VP. Neuromorphological correlates of prolonged radiation exposure // Medico-biological and socio-psychological problems of safety in emergency situations. 2018; 3: 85–95] (in Russian).
11. Федоров В.П., Ушаков И.Б., Федоров Н.В. Церебральные эффекты у ликвидаторов Чернобыльской аварии. Саарбрюккен: LAP LAMBERT Academic Publishing, 2016: 390 [Fedorov VP, Ushakov IB, Fedorov NV. Cerebral effects in the liquidators of the Chernobyl accident. Saarbruecken: LAP LAMBERT Academic Publishing, 2016: 390] (in Russian).
12. Шуленкина Л.В., Михайлов В.Ф., Рева Н.Ф. Содержание микроРНК и мРНК генов в периферической крови больных раком предстатель-



- ной железы при формировании осложнений органов малого таза после лучевой терапии // Актуальные проблемы радиобиологии и астро-биологии. Генетические и эпигенетические эффекты ионизирующих излучений. Дубна, 2016: 76–8 [Shulenina LV, Mikhajlov VF, Reva NF. Soderzhanie mikroRNK i mRNK genov v perifericheskoy krovi bol'nykh rakom predstatel'noj zhelezy pri formirovanii oslozhnenij organov malogo taza posle luchevoj terapii // Aktual'nye problemy radiobiologii i astrobiologii. Geneticheskie i epigeneticheskie efekty ioniziruyushchikh izluchenij. Dubna, 2016: 76–8] (in Russian).
13. 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.
  14. Goodhead DT. Fifth Warren K. Sinclair keynote address: issues in quantifying the effects of low-level radiation. *Health Physics*. 2009 Nov;97(5):394–406.
  15. 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.
  16. 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.
  17. Kuikka JT. Low-dose radiation risk and the linear no-threshold model. *International Journal of Low Radiation*. 2009;6(2):157. doi: 10.1504/ijlr.2009.028534
  18. Marcus CS. Destroying the Linear No-threshold Basis for Radiation Regulation. *Dose-Response*. 2016 Oct 31;14(4):155932581667349. doi:10.1177/1559325816673491
  19. Mothersill C, Seymour C. Relevance of radiation-induced bystander effects for environmental risk assessment. *Radiats Biol Radioecol*. 2002;42(6):585–7.
  20. Prise KM, Schettino G, Vojnovic B, Belyakov O, Shao C. Microbeam Studies of the Bystander Response. *Journal of Radiation Research*. 2009;50(Suppl.A):A1–6.
  21. Prise KM. Studies of bystander effects in human fibroblasts using a charged particle microbeam. *International Journal of Radiation Biology*. 1998 Jan;74(6):793–8.
  22. Sankaranarayanan K. Ionizing radiation and genetic risks II. Nature of radiation-induced mutations in experimental mammalian in vivo systems. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*. 1991 Jul;258(1):51–73.
  23. Sahu A, Singhal U, Chinnaiyan AM. Long Non-coding RNAs in Cancer: From Function to Translation. *Trends in Cancer*. 2015; 1(2):93–109. doi: 10.1016/j.trecan.2015.08.010
  24. Schettino G, Folkard M, Michael BD, Prise KM. Low-Dose Binary Behavior of Bystander Cell Killing after Microbeam Irradiation of a Single Cell with Focused CKX Rays. *Radiation Research*. 2005 Mar;163(3):332–6.
  25. Shaun N, Thomas B. Introduction to life and death. In: Apoptosis and cell cycle control in cancer. Basic mechanisms and implications for treating malignant disease. UK. BIOS Scientific publishers Ltd. 1996; 1–16.
  26. Scott BR, Potter CA. Stochastic Threshold Exponential (TE) Model for Hematopoietic Tissue Reconstitution Deficit after Radiation Damage. *Dose-Response*. 2014 Jan 10;12(3):dose-response.1. doi: 10.2203/dose-response.13-041.scott
  27. Tanooka H. Threshold dose problems in radiation carcinogenesis: a review of non-tumour doses. *International Journal of Low Radiation*. 2004;1(3):329. doi: 10.1504/ijlr.2004.005432
  28. Trott KR., Rosemann M. Molecular mechanisms of radiation carcinogenesis and the linear, non-threshold dose response model of radiation risk estimation. *Radiation and Environmental Biophysics*. 2000 Jun 16;39(2):79–87. doi: 10.1007/s004110000047
  29. United Nations. UNSCEAR 2000. Report to the General Assembly, with Scientific Annex. G. Biological effects at low radiation doses. New York. 2000; 73–175.
  30. United Nations. UNSCEAR 2000. Report to the General Assembly, with Scientific Annex. Annex F. DNA repair and mutagenesis. United Nations. New York. 2000; 1–72.
  31. 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.
  32. 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.

Поступила в редакцию 1.07.2019

Принята в печать 4.09.2019

Received 1.07.2019

Accepted 4.09.2019

Для цитирования: Гундарова О.П., Двурекова Е.А., Федоров В.П. Радиационно-индуцированные изменения нуклеиновых кислот нейронов мозжечка. Журнал анатомии и гистопатологии. 2019; 8(3): 26–34. doi: 10.18499/2225-7357-2019-8-3-26-34

For citation: Gundarova O.P., Dvurekova E.A., Fedorov V.P. Radiation-induced changes in the nucleic acids of Cerebellar neurons. *Journal of Anatomy and Histopathology*. 2019; 8(3): 26–34. doi: 10.18499/2225-7357-2019-8-3-26-34