

**ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ**

© Ильичева В.Н., Ушаков Б.Н., 2012  
УДК 611.81+575.321]:57.008.5

**ХАРАКТЕРИСТИКА ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИ РАЗЛИЧНЫХ ОТДЕЛОВ  
КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ**

*В.Н. Ильичева, Б.Н. Ушаков\**

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

\*ФГУЗ «Всероссийский центр экспериментальной и радиационной медицины  
им. А.М. Никифорова» МЧС РФ, г. Санкт-Петербург

**В эксперименте на крысах-самцах изучались морфофункциональные изменения в новой, старой и древней коре головного мозга после однократного и фракционированного облучения в дозе 0,2 Гр. Проведено сравнение морфометрических показателей в изучаемых отделах головного мозга.**

**Ключевые слова:** старая, древняя кора головного мозга, крыса, облучение, морфофункциональные изменения.

Актуальным вопросом в современной радиобиологии является количественная оценка воздействия на организм радиационного фактора сравнительно небольшой интенсивности. Основой для дальнейших исследований послужили экспериментальные работы [1, 3, 6, 9]. Количественный анализ результатов влияния ионизирующей радиации в малых дозах на различные отделы ЦНС привлекает исследователей-радиобиологов. Новые рекомендации международной комиссии по радиологической защите (МКРЗ), касающиеся оценки риска радиационного воздействия на организм и определения суммарного вреда для здоровья, свидетельствуют о необходимости дальнейшего изучения зависимости «доза-эффект» как для ранних реакций организма, так и отдаленных последствий [7].

Сопоставление эффекта с дозой и временем позволяет оценить формирование восстановительных реакций и дает возможность определить время периода реабилитации. Последнее обстоятельство является существенным для прогнозирования возможных нарушений в работе анатомо-функциональных систем организма при различных условиях радиаци-

онного воздействия, а также для экстраполяции данных с животных на человека.

**Материал и методы**

Эксперимент спланирован и проведен на базе Государственного научно-исследовательского испытательного института военной медицины МО РФ (г. Москва). В его основу положены данные о лучевой нагрузке у военнослужащих-ликвидаторов аварии на ЧАЭС и состоянии их здоровья в ранние и отдаленные сроки пострадиационного периода. Эксперимент проведен на 100 половозрелых крысах-самцах массой 200-230 г, в возрасте 1,5-2 месяцев к началу эксперимента. Животные подвергались общему равномерному однократному и фракционированному гамма-облучению (спектр 1,2 МэВ) в дозе 0,2 Гр. Мощность дозы облучения составляла 50 сГр/ч. При фракционированном облучении суммарная доза поглощалась в течение 5 суток. Взятие материала производилось через 1 сут, 6, 12 и 18 мес после воздействия. Протокол экспериментов в разделах выбора, содержания животных и выведения их из опыта был составлен в соответствии с принципами биоэтики и правилами ла-

бораторной практики, которые представлены в «Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985) и приказе МЗ РФ №267 от 19.06.2003 г. «Об утверждении правил лабораторной практики». Дозиметрический контроль равномерности облучения осуществлялся клиническим дозиметром 27012, стержневая камера которого располагалась в поле облучения. Неравномерность дозового поля составила  $\pm 15\%$ . Материалом для исследования служили участки мозга, выделяемые согласно citoархитектоническим картам [2, 8, 10] – вторичная моторная кора (кора верхней лобной извилины (*cortex motoria secundaria*), прелимбическая (кора передней лимбической области (*cortex prelimbic*)), citoархитектонические поля CA<sub>1</sub>–CA<sub>4</sub> гиппокампа и зубчатая фасция, пириформная зона древней коры (*cortex piriformis*). Фиксацию мозга осуществляли 10% раствором формалина, приготовленном на 0,2 М фосфатном буфере и смесью Карнуа. Парафиновые срезы толщиной 4–5 мкм окрашивали гематоксилином Караци-эозином для обзорных целей, а для изучения citoархитектоники – метиленовым синим по Нисслию. У каждого животного в изучаемых отделах подсчитывали по 300 нейроцитов. Определяли форму клетки, равномерность окраски цитоплазмы, степень дифференцировки ядра и ядрышка, уровень базофилии вещества Ниссля. Полученные данные обрабатывались с помощью программ «Microsoft Excel 2003», «Statistica 6.0» for Windows. Статистический анализ количественных переменных основывался на вычислении средней величины, дисперсии, среднего квадратичного отклонения, ошибки среднего арифметического, коэффициентов ассиметрии и эксцесса. При этом учитывали характер закона распределения параметров: в условиях нормального распределения выборки для оценки вероятности различий использовали критерий Стьюдента, в остальных случаях – непараметрический критерий Вилкоксона. Объем материала, необходимого для ис-

следования, определяли методом аккумулярованных средних. Достоверными при этом считались различия с вероятностью более 0,95 ( $P < 0,05$ ).

Единый методический подход к классификации структурных изменений нервных клеток к настоящему времени не выработан, поэтому мы выделяли следующие типовые формы морфологической изменчивости нервных клеток: пограничную, альтеративную и адаптационную (компенсаторно-приспособительную). Количественный анализ морфологических изменений нейроцитов проводился согласно рекомендациям [4].

### Результаты и их обсуждение

Однократное облучение в дозе 0,2 Гр сопровождалось изменением количественного и качественного состава нервных клеток, начиная с первых суток. Так, в пириформной зоне древней коры и во всех изучаемых зонах старой достоверно снижается количество нормохромных нейроцитов ( $p < 0,001$ ), увеличивается объем ядра и нейроцита ( $p < 0,001$ ), при этом более половины из них с признаками периферического хроматолиза ( $p < 0,001$ ); снижается ядрышко-ядерный и увеличиваются ядерно-цитоплазматический и ядерно-клеточный индексы ( $p < 0,001$ ). Растет число пикноморфных нейроцитов, нейроглии ( $p < 0,001$ ) и гиперхромных нейроцитов. В последних увеличивается объем ядра и тела клетки ( $p < 0,001$ ), более половины из них характеризуются наличием периферического хроматолиза ( $p < 0,001$ ), увеличиваются ядерно-цитоплазматический, ядрышко-ядерный индексы ( $p < 0,001$ ). Более выраженные изменения наблюдаются в клетках верхней лобной извилины и передней лимбической области ( $p < 0,001$ ). К 1,5 годам пострадиационного периода в филогенетически старых отделах коры головного мозга показатели стремятся к контрольным значениям. Так количество нормохромных нейроцитов возрастает, а гиперхромных – убывает, при этом уменьшаются размер нейроцита, ядра и ядрышка, снижаются ядерно-цитоплазматический, ядрышко-ядерный индексы, преобладают очаговый и перинуклеар-

ный хроматолиз. Значительно уменьшается количество клеток-теней и нейроглии (среды которой преобладает микроглия). Соотношение различных форм нейроцитов в филогенетически более молодых зонах после воздействия изучаемого фактора существенно отличается от значений в контроле ( $p < 0,001$ ).

При фракционированном облучении в дозе 0,2 Гр в новой коре изменения более выражены: после первых суток снижается количество нормохромных нейроцитов и увеличивается численность гиперхромных, при этом объем нейрона, ядра и ядрышка уменьшены ( $p < 0,001$ ), более чем в 2/3 клеток обнаруживается периферический и очаговым хроматолиз ( $p < 0,01$ ), значительно снижены ядрышко-ядерный, ядерно-клеточный и ядерно-цитоплазматический индексы ( $p < 0,01$ ). Количество гипохромных нейроцитов увеличено по сравнению с контрольным уровнем ( $p < 0,01$ ), однако в отличие от гиперхромных форм, объем тела, ядра и ядрышка в этом типе клеток увеличен ( $p < 0,01$ ); преобладает периферический хроматолиз с участками микровакуолизации («вспененной») цитоплазмы ( $p < 0,001$ ), достоверно снижен ядрышко-ядерный индекс ( $p < 0,01$ ). Среди клеток нейроглии преобладает макроглия. Количество пикноморфных нейроцитов увеличено вдвое ( $p < 0,001$ ) по сравнению с исходным уровнем. К концу срока наблюдения (1,5 года) изменения приближаются к контрольным цифрам, увеличено количество нормохромных, гиперхромных, гипохромных нейроцитов с признаками перинуклеарного и очагового хроматолиза ( $p < 0,001$ ), ядерно-клеточный и ядерно-цитоплазматический индексы снижены ( $p < 0,01$ ). Достоверно снижено количество пикноморфных нейроцитов (5%;  $p < 0,01$ ). В древней и старой коре динамика сходна с описанной выше, однако изменения соотношения различных форм нейроцитов не столь выражены как в новой коре, а компенсаторные процессы в указанных зонах наступают в более ранние сроки (к 1 году после облучения), а к концу сроков наблюдения практически возвращаются к

исходному уровню.

Таким образом, при однократном и фракционированном облучении во всех изученных отделах ЦНС развиваются однотипные морфофункциональные изменения нейронов, но значительно отличающиеся интенсивностью проявления различных типов морфологической изменчивости. Это обстоятельство позволяет впервые выделить в пострadiационном периоде три стадии: начальных проявлений, выраженных изменений и восстановления.

В ранние сроки после облучения наблюдается стадия начальных проявлений, в которой преобладают пограничные изменения, развивающиеся по гипо- и гиперхромному типам. Эти изменения носят обратимый характер. В эту стадию происходит изменение в соотношении различных типов нейронов за счет уменьшения количества нормохромных клеток и увеличения числа гипер- и гипохромных нейроцитов. Одновременно наблюдается тенденция увеличения численности дистрофически и некротически измененных клеток. Дистрофические изменения развиваются по гидропическому типу. Гидропическая нейронодистрофия, как разновидность диспротеинозов сопровождается деструктивными изменениями органелл, их вакуолизацией и гипоплазией, деформацией ядра, снижением биоэнергетических и биосинтетических процессов. Выделяют два варианта гидропической нейронодистрофии – гипохромный и гиперхромный. Гипохромная гидропическая нейронодистрофия характеризуется различными формами хроматолиза: очаговым, центральным и периферическим, гидратацией ядра и цитоплазмы, распадом липопротеиновых мембран с образованием миелиноподобных комплексов. Гиперхромная гидропическая нейронодистрофия отличается гиперхроматозом цитоплазмы и ядра, сочетающегося с микровакуолизацией мембранных органелл. Оба варианта гидропической нейронодистрофии являются обратимыми и исчезают в ближайшие и отдаленные сроки после отмены действующего фактора.

Стадия начальных проявлений в

верхней лобной извилине и передней лимбической области наступает в ранние сроки после воздействия экспериментального фактора (1 сут). При этом изменения достоверны ( $p < 0,001$ ) и более выражены после фракционированного облучения, характерна гипохромная гидропическая нейронодистрофия с преобладанием очагового и периферического хроматолиза, уменьшением ядрышко-ядерного и увеличением ядерно-цитоплазматического и ядерно-клеточного показателей. Изменения параметров нейроцитов в пириформной зоне древней коры и старой коре в течение первых суток незначительны и не достигают значимого уровня. Спустя 6 месяцев после воздействия наступает период выраженных изменений во всех изученных зонах коры головного мозга: достоверно ( $p < 0,001$ ) увеличивается количество дистрофических и некротических форм нейроцитов, происходит уменьшение ядрышко-ядерного и увеличением ядерно-цитоплазматического и ядерно-клеточного показателей. Следует отметить преобладание гипохромной гидропической нейронодистрофии в древней и старой коре, тогда как в передней лимбической области и верхней лобной извилине преобладающей является гиперхромная гидропическая нейронодистрофия. Стадия восстановления в нейронах древней и старой коры происходит значительно быстрее: спустя 1 год достоверно увеличивается количество нормохромных нейроцитов, уменьшаются размеры ядра, ядрышка, снижается количество нервных клеток с признаками гипохромной гидропической нейронодистрофии. Этот процесс более пролонгирован в новой коре и становится достоверным лишь к концу сроков наблюдения. Следует отметить достоверно отсроченный процесс восстановления поврежденных нейроцитов при фракционированном режиме облучения.

#### Выводы

Выраженность изменений и время наступления компенсации поврежденных нейроцитов зависит от режима облучения, времени после воздействия и филогенетического возраста коры [5].

#### Литература

1. Григорьев Ю.Г. Радиационная безопасность космических полетов / Ю.Г. Григорьев. – М.: Атомиздат, 1975.
2. Курепина М.М. Мозг животных / М.М. Курепина. – М.: Наука, 1981. – 148 с.
3. Москалев Ю.И. Актуальные проблемы экспериментального лучевого канцерогенеза / Ю.И. Москалев // От радиобиологического эксперимента к человеку. – М.: Атомиздат, 1976. – 158 с.
4. Петров А.В. Морфологические формы адаптационной изменчивости нервных клеток при действии антропогенных факторов / А.В. Петров, В.П. Федоров // Новости клинической цитологии России. – 1998. – Т. 2, № 2. – С. 83-84.
5. Петров А.В. Актуальные проблемы нейроригистоморфологии. 1. Методологические аспекты / А.В. Петров, В.П. Федоров, Е.М. Болтенков // ЦНИЛ – вчера, сегодня, завтра: сб. науч. тр., посвящ. 85-летию ВГМА им. Н.Н. Бурденко и 40-летию со дня организации ЦНИЛ. – Воронеж, 2003. – С. 122-137.
6. Продолжительность жизни животных при однократном и длительном радиационном воздействии / Н.А. Запольская [и др] // Радиационная гигиена: сб. науч. тр. – Л.: ЛенНИИРГ, 1978. – Вып. 7.
7. Радиационная защита: рекомендации МКРЗ. Публикация 26: пер. с англ. / под ред. А.А. Моисеева, П.В. Рамзаева. – М.: Атомиздат, 1978. – 85 с.
8. Филимонов И. Н. Цитоархитектоника коры большого мозга человека / И.Н. Филимонов. – М.: Медигз, 1949. – 433 с.
9. Шведов В.Л. К вопросу о переносе экспериментальных данных биологического действия стронция-90 с животных на человека / В.Л. Шведов // Радиологический эксперимент и человек / под ред. проф. Ю.И. Москалева. – М.: Атомиздат, 1970. – С. 112.
10. Paxinos G. The rat brain in stereotaxic coordinates / G. Paxinos, C. Watson. – N.Y.: Elsevier Acad. Press, 2004. – 367p.

**CHARACTERISTICS OF PHYLOGENETICALLY DIFFERENT PARTS  
OF RATS BRAIN CORTEX AFTER IRRADIATION**

*V.N. Ilicheva, B.N. Ushakov*

**Morphofunctional changes in neocortex, archicortex and paleocortex were studied in experiment on white male rats after single and fractionized irradiation in a doze of 0,2 Gy. The comparison of morphometric parameters in the studied parts of brain was carried out.**

*Key words: old, old cerebral cortex, rat, exposure, morphological changes.*

Ильичева Вера Николаевна — к.м.н., доц. кафедры нормальной анатомии человека Воронежской государственной медицинской академии им. Н.Н. Бурденко.  
394036, г. Воронеж, ул. Студенческая, 10, ВГМА.