

© Ильичева В.Н., Ушаков Б.Н., 2013
УДК 616.831-008.9:616-001.28/.29

ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН В РАЗЛИЧНЫХ ОТДЕЛАХ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА

В.Н. Ильичева¹, Б.Н. Ушаков²

ГБОУ ВПО «Воронежская государственная медицинская академия им. Н.Н. Бурденко»
Минздравсоцразвития России, г. Воронеж (1)
ФГУЗ «Всероссийский центр экспериментальной и радиационной медицины
им. А.М. Никифорова» МЧС РФ, г. Санкт-Петербург (2)

Проведена сравнительная характеристика изменений гистоэнзимологического профиля различных в филогенетическом отношении областей коры головного мозга крыс после однократного облучения в дозе 0,5 Гр и 1,0 Гр. Установлена зависимость характера изменений активности ферментов энергетического метаболизма, от филогенетического возраста коры.

Ключевые слова: головной мозг, крыса, ферменты энергетического обмена, метаболизм, ионизирующее излучение.

Организм, как животного, так и человека представляет сложную полифункциональную систему, закономерности функционирования которой изучаются в биологии и медицине в течение многих десятилетий.

В настоящее время актуальной проблемой является изучение реакции организма человека при воздействии различных неблагоприятных факторов и оценка его функциональных возможностей в процессе разнообразных видов деятельности [8, 20]. До недавнего времени довольно подробно исследовались изменения, развивающиеся в различных отделах ЦНС при действии сублетальных и летальных доз ионизирующего излучения и алкоголя [7, 14], синдромо-подобные с γ -излучением состояния [3, 15], радиопротекторные препараты [2].

В наши дни внимание ученых привлекают радиоцеребральные эффекты малых доз (до 1 Гр) ионизирующей радиации, спектр которых близок к наиболее часто применяемым в практике лучевой терапии, при которых не развиваются значимые клинические эффекты [18]. По материалам Греевской конференции

(1980) малыми считаются дозы в диапазоне 2,0-2,5 Гр. И.Б. Ушаков и соавт. [18] предлагают считать малыми уровнями облучения дозы в пределах 0,05-0,5 Гр, при которых ущерб здоровью по генетическим, тератогенным и канцерогенным эффектам будет минимальным.

При уточнении механизмов влияния различных доз проникающей радиации Воронцов И.В. [5] считает целесообразной следующую классификацию:

1) фоновый предел – малые дозы, при действии которых преобладает процесс возбуждения над процессом ионизации, и при полностью сохранных восстановительных функциях организма отмечаются лишь положительные эффекты воздействия ионизирующей радиации, т.н. «радиационный гормезис» (как правило, до 0,2 Зв, но в некоторых регионах и значительно выше);

2) малые дозы (0,2-0,5 Гр), при действии которых начинают превалировать процессы ионизации, но еще не развиваются заметные донозологические изменения [18] – ущерб здоровью в диапазоне 0,05-0,5 Гр будет «социально приемлемым»;

3) малые дозы (0,5-1,0 Гр), при действии которых уже начинаются не только донозологические, но и моносиндромные проявления [1].

Выявление закономерностей реакции организма человека на указанное воздействие, поиск средств профилактики и радиационной защиты проводят в экспериментах на различных видах животных, создавая адекватные экспериментальные модели [8, 9]. Эксперименты проводятся на животных, существенно отличающихся друг от друга в эволюционном отношении (грызуны, собаки и другие виды), поэтому результаты исследований оценивают с точки зрения сравнительной биологии и патологии. Итоги экспериментов решают клинические проблемы патологии человека, радиобиологии, авиационной и космической медицины. Таким образом, основная задача экспериментальных исследований состоит в изучении общих закономерностей изменений, развивающихся в организме человека при воздействии различных факторов, обосновании принципов и разработке на их основе методических подходов и конкретных способов экстраполяции полученных данных с животных на человека.

Материал и методы

Работа выполнена в соответствии с планом НИР Воронежской государственной медицинской академии им. Н.Н. Бурденко и ГНИИИ военной медицины МО РФ (г. Москва). Эксперимент проведен на 100 половозрелых крысах-самцах массой 200-230 г, в возрасте 1,5-2 мес. к началу эксперимента. Животные подвергались общему равномерному однократному гамма-облучению, спектр 1,2 МэВ, в дозе 0,5 и 1,0 Гр. Мощность дозы облучения составляла 50 сГр/ч. 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 лабораторной практики, которые представлены в «Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985) и

приказе МЗ РФ №267 от 19.06.2003 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 исследования служили участки новой (Fr2, вторичная моторная кора верхней лобной извилины; Cg3, прелимбическая кора передней лимбической области), старой (цитеоархитектонические поля CA₁-CA₄ гиппокампа и зубчатая фасция) и древней коры (пириформная зона) [21]. Из фрагментов мозга, предназначенных для заморозки, формировали органые блоки по В.Г. Петрухину и Н.А. Гайдамакину [12], сохраняя их затем запечатанными в алюминиевой фольге в твердой углекислоте. Срезы производили в камере криостата при температуре -20°C и размещали на сухих предметных стеклах. Выявление активности СДГ и ЛДГ проводились на криостатных срезах толщиной 10 мкм тетразолий-редуктазными методиками с использованием соответствующего субстрата и соли «нитро-СТ» в модификации Нахаласа [13]. Активность Г-6-ФДГ выявляли по методике [4]. Количественную оценку ферментов в микропрепаратах определяли по величине оптической плотности конечных продуктов гистохимических реакций в видимой части спектра [6] с помощью программы «Видео-Тест-Морфо», разработанной ООО «Иста-Видео-Тест» (СПб.). Материалы исследования обработаны методами дескрипционной статистики. Для оценки достоверности различий между связанными выборками величин при их нормальном распределении применялся парный t-критерий Стьюдента; при отсутствии нормального распределения вариант использовался непараметрический критерий «Т» Вилкоксона-Манна-Уитни (для связанных выборок) с достоверностью более 95%. Результаты микроденситометрии после стандартной статистической обработки приводятся для средних групповых величин в процентах к показаниям «виварного» контроля.

Результаты и их обсуждение

После однократного воздействия ионизирующего излучения в дозе 50сГр наиболее динамичные изменения активности СДГ происходят в изучаемых отделах новой коры (рис.). В зоне Fr2 спустя сутки и через 12 мес. активность изучаемого фермента в 1,4–1,45 ($p<0,01$) раза превышает контрольные показатели, тогда как через 6 и 18 мес наблюдения они составляют 80–85% ($p<0,05$) от исходного уровня. В зоне Cg3 через сутки после облучения активность фермента находится на исходном уровне, далее наблюдается ее уменьшение до 0,43 ($p<0,01$), затем, до конца срока наблюдения превышает контроль в 1,18–1,85 раз ($p<0,01$). В старой коре показатели активности СДГ в течение 18 мес оставались выше контрольных цифр ($p<0,05$), тогда как в пириформной зоне древней коры в те же сроки – ниже исходного уровня ($p<0,05$).

Активность ЛДГ в Fr2 достоверно снижена в течение всего срока наблюдения ($p<0,05$). В зоне Cg3 через сутки после облучения активность маркера гликолиза превышает контрольный уровень в 2,25 раза ($p<0,01$), далее до конца сроков наблюдения регистрируется ее снижение до 45% от исходных значений ($p<0,05$). Динамика изменения активности ЛДГ в старой коре такова: максимальные значения превышают контрольный уровень в 1,25–1,55 раз ($p<0,05$) (1-е сут и 12 мес), в остальные сроки (6 мес и 1,5 г) – от 80% до 51% ($p<0,05$), соответственно от исходного уровня. В пириформной зоне древней коры минимальное значение активности ЛДГ наблюдается в течение первых суток после воздействия (47%) ($p<0,01$), затем происходит ее постепенное увеличение, максимального значения активность фермента достигает к полутора годам пострадиационного периода (163%) ($p<0,01$).

Активность Г-6-ФДГ в зоне Fr2 в течение всего периода наблюдений постепенно возрастает от минимальной (24%) ($p<0,01$) в первые сутки и к 1,5 годам несколько превышает исходный уровень (104%). В зоне Cg3 активность маркера

пентозофосфатного пути превращения углеводов в течение года после воздействия значительно снижена по сравнению с исходным уровнем ($p<0,01$), и лишь к концу сроков наблюдения регистрируется незначительное увеличение значений исследуемого показателя. В старой коре минимальное значение активности Г-6-ФДГ приходится на 1 сут ($p<0,01$), затем в течение полутора лет отмечается постепенное повышение до 116% ($p<0,05$) по сравнению с контролем. В пириформной зоне древней коры активность Г-6-ФДГ оценивается как стабильно высокая, особенно в первые сутки и к 1,5 годам после воздействия (206% и 360%) ($p<0,01$).

По данным О. Ю. Терезанова [16] в течение первых суток после аналогичного воздействия в коре червя мозжечка наблюдается снижение активности СДГ и ЛДГ, вместе с тем происходит увеличение активности Г-6-ФДГ, а через 6 мес. – возвращение к исходному уровню активности указанных ферментов. В различных отделах стриопаллидарной системы [11] при действии ионизирующего излучения в дозе 50 сГр однократно с мощностью дозы 50 сГр/ч динамика активности СДГ на протяжении периода выраженных изменений характеризовалась снижением активности через 5 часов и периодом ее повышения (с 1-х по 7-е сут), не достигая исходного значения. Динамика активности ЛДГ в клетках хвостатого ядра и бледного шара на протяжении периода выраженных изменений характеризовалась относительным ее понижением через 5 часов, не достигая при этом уровня контроля, и периодом однонаправленного увеличения (с 5 ч до 3-х сут) выше исходного значения. Наиболее высокое значение активности Г-6-ФДГ, превышающее уровень контроля, отмечалось на 14-е сут в хвостатом ядре и бледном шаре. Далее до 1,5 лет происходило снижение активности ключевых ферментов цикла лимонной кислоты и гликолиза, сопровождавшееся последующим повышением активности фермента пентозофосфатного пути утилизации глюкозы [11]. Активность ЛДГ в сенсомоторной коре в вышеуказанных условиях эксперимента

остается повышенной на всем пострадиационном периоде [19].

При однократном воздействии ионизирующего излучения в дозе 1 Гр (см. рис.) активность СДГ в Fr2 устанавливается значительно выше контроля (137%) ($p < 0,01$), а через 1 сут и 6 мес несколько снижается (до 92%) ($p < 0,05$). Через 1 г активность СДГ увеличивается до 131%

($p < 0,01$), к концу срока наблюдения достигает минимальных значений (67%) ($p < 0,01$). Активность ЛДГ в течение года после воздействия выше контроля ($p < 0,01$), а к 1,5 годам – значительно ниже исходного уровня (58%) ($p < 0,01$). В течение полутора лет активность Г-6-ФДГ в указанной области регистрируется ниже уровня контроля ($p < 0,05$).

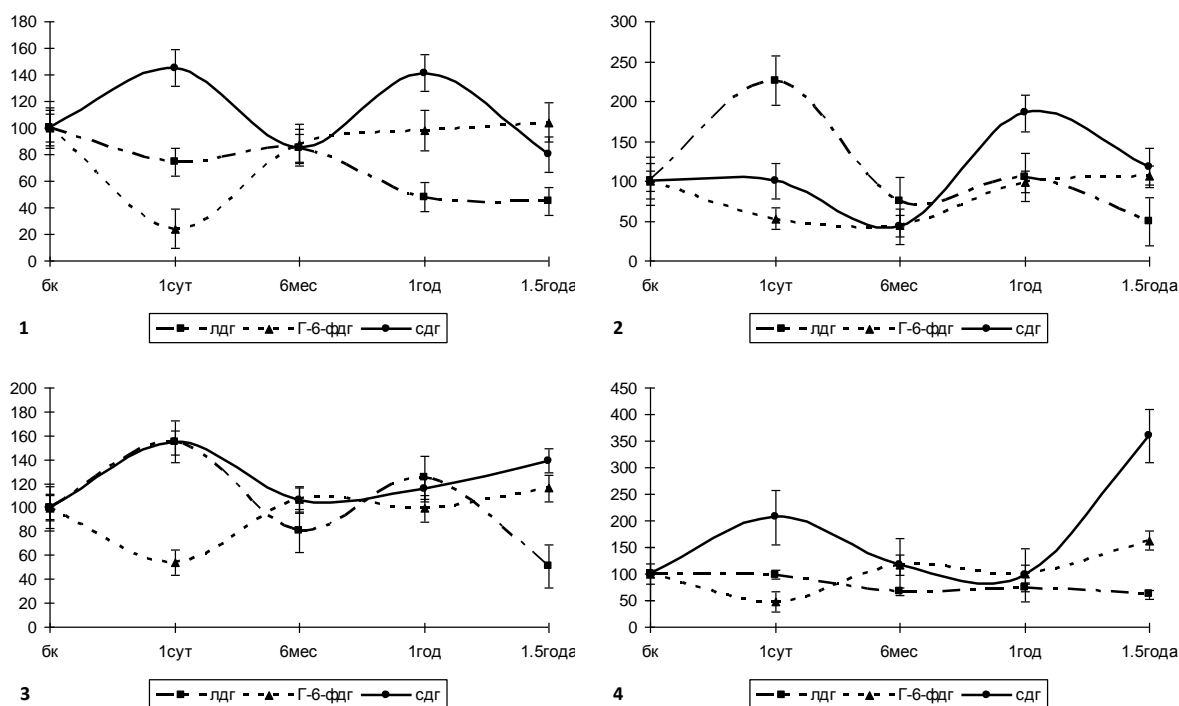


Рис. Динамика изменений активности ферментов энергетического обмена в различных отделах коры головного мозга крыс после облучения в дозе 0,5 Гр в % к контролю. Обозначения: по оси абсцисс – сроки после сеанса облучения; по оси ординат – активность ферментов в %; бк – биологический контроль; 1 – новая кора; 2 – лимбическая кора; 3 – старая кора; 4 – древняя кора

Динамика изменения активности СДГ изучаемых областей Cg3 и Fr2 сходна. Несколько иначе по сравнению с предыдущей областью происходят изменения активности ЛДГ. В течение 1 сут она максимальна и в 3 раза превышает контрольный уровень ($p < 0,01$), затем она постепенно снижается и к 1,5 г значительно ниже исходного уровня (73%) ($p < 0,05$). Активность Г-6-ФДГ в течение полугода после воздействия повышается до 131%

($p < 0,05$), далее до конца наблюдения она значительно снижена (в 5 раз по сравнению с контрольными цифрами) ($p < 0,01$).

В старой коре головного мозга активность СДГ остается сниженной в течение года после воздействия излучения ($p < 0,05$), затем к 1,5 годам наблюдений – увеличивается на 29% относительно контроля ($p < 0,01$). В течение первых 6 мес активность ЛДГ постепенно снижается и к концу срока наблюдения не превышает 73% от

исходного уровня ($p < 0,05$). Довольно высокий уровень активности Г-6-ФДГ наблюдается в первые сутки после воздействия (122%) ($p < 0,05$), затем происходит уменьшение исследуемого показателя и к 1,5 годам его значение становится в три раза ниже исходного (27%) ($p < 0,01$).

Рассматривая динамику активности СДГ в пириформной зоне древней коры головного мозга крыс, необходимо отметить ее увеличение начале и в конце сроков наблюдения (156% и 141%, соответственно) ($p < 0,01$), в остальные временные промежутки наблюдается ее уменьшение (до 53% по сравнению с контролем) ($p < 0,01$). При однократном воздействии ионизирующего излучения в дозе 1 Гр в исследуемой области активность ЛДГ остается достаточно высокой в течение года (в 1,8 раза превышая контрольный уровень) ($p < 0,01$), а к 1,5 годам – становится несколько ниже контрольных цифр. Активность Г-6-ФДГ значительно меньше контрольных значений через 1 сут ($p < 0,05$), 1 год ($p < 0,01$), и 1,5 года ($p < 0,01$), после облучения; через 6 мес ее значение несколько превышает уровень контроля. По данным Н. В. Маслова [10] ионизирующее излучение в дозе 100 сГр не вызывало изменений окислительно-восстановительных процессов в средних слоях теменной коры во все сроки пострadiационного периода. Однако некоторая лабильность этих показателей отмечена через сутки после радиационного воздействия, при этом из-за выраженной индивидуальной вариабельности показатель их активности не отличался от контроля.

Динамика изменения активности дегидрогеназ, катализирующих реакции биоэнергетического обмена в нейронах, при однократном действии ионизирующего излучения в дозе 0,5 Гр в различных отделах коры свидетельствуют о том, что в раннем пострadiационном периоде (1-е сут) дефицит аэробного метаболизма в цикле лимонной кислоты (снижение активности СДГ) компенсируется повышением активности ключевых ферментов гликолиза (ЛДГ) и пентозофосфатного пути превращения глюкозы (Г-6-ФДГ).

Затем (к 6 мес) наблюдается активация аэробных процессов, которые к концу срока наблюдения не компенсируются, оставаясь значительно ниже контроля. Параллельно этому в сроки с 6 мес до 1,5 лет происходит существенное снижение активности анаэробных процессов. Однако в древней коре к 1,5 годам наблюдения в определенной мере развиваются компенсаторные реакции, заключающиеся в угнетении анаэробного пути превращения глюкозы на фоне активации процессов аэробного окисления.

При однократном воздействии ионизирующего излучения в дозе 1 Гр изменения активности ферментов свидетельствует о декомпенсации процессов энергетического метаболизма клеток в филогенетически молодых отделах коры головного мозга. Сдвиги в аэробных и анаэробных процессах окисления происходят синхронно, а к концу сроков наблюдения активность ферментов устанавливается значительно ниже контрольного уровня. В более древних отделах коры (пириформной зоне древней коры и старой коре) изменения разнонаправлены, стимуляция энергопродукции в цикле Кребса приводит к угнетению анаэробных путей извлечения энергии.

Вывод

Таким образом, несмотря на продолжительный пострadiационный период и относительно небольшую дозу ионизирующего излучения, изменения энергетического обмена, развивающиеся в филогенетически различных областях коры головного мозга после облучения, довольно существенны. Следует полагать, что мобилизация компенсаторных резервов организма не может в полной мере обеспечить восстановление функций изучаемых отделов головного мозга, что в свою очередь дает основание для разработки комплексных мер, направленных на профилактику метаболических нарушений головного мозга, развивающихся после облучения.

Литература

1. Алексеев Г.И. // Воен.-мед. журн. – 1986. – № 4. – С. 21-26.
2. Атякшин Д.А. Морфофункциональное состояние крупноклеточных ядер ги-

- поталамуса при раздельном и сочетанном воздействии ионизирующего излучения и этанола в различных дозах: автореф. дис. ... к.м.н. / Д.А. Атякшин. – Воронеж, 2001.
3. Бавыкин Д.В. Моделирование синдромосходных состояний при действии ионизирующего излучения и алкогольной интоксикации: автореф. дис. ... к.м.н. / Д.В. Бавыкин. – Воронеж, 2006.
 4. Берстон М. Гистохимия ферментов / М. Берстон. – М.: Мир, 1965. – 464 с.
 5. Малые радиационные воздействия и здоровье человека (очерки системного анализа) / И.В. Воронцов [и др.]. – М.; Воронеж: Воронежский государственный университет, 2002. – 276 с.
 6. Журавлева З. Н. Ультраструктурное исследование синапсов гиппокампа / З.Н. Журавлева // Нейрохимия и физиология синаптических процессов. – Пущино, 1976. – С. 116-142.
 7. Ильичева В.Н. Сравнительная характеристика реакций древней коры при действии ионизирующего излучения и алкогольной интоксикации: дис. ... канд. мед. наук / В.Н. Ильичева. – Ярославль, 2001.
 8. Лосев Н.И. Некоторые методологические аспекты моделирования болезней человека на животных / Н.И. Лосев, П.Ф. Литвицкий // Биологическая характеристика лабораторных животных и экстраполяция на человека экспериментальных данных: материалы Всесоюз. конф. (8-10 окт. 1980). – М., 1980. – С. 258-260.
 9. Майстрах Е.В. К проблеме адекватности экспериментальных моделей патологических процессов условиям природной и клинической патологии / Е.В. Майстрах // Биологическая характеристика лабораторных животных и экстраполяция на человека экспериментальных данных: материалы Всесоюз. конф. (8-10 окт. 1980). – М., 1980. – С. 260.
 10. Маслов Н.В. Структурно-функциональная характеристика нейронов средних слоев коры теменной доли головного мозга крыс при действии малых доз ионизирующего излучения: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Н.В. Маслов. – М., 2012.
 11. Насонова Н.А. Морфофункциональная характеристика стриопаллидарной системы при облучении ионизирующим излучением в малых дозах: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Н.А. Насонова. – М., 2008.
 12. Петрухин В. Г. Методика комбинированных тканевых блоков для сравнительного патоморфологического изучения радиационной патологии / В.Г. Петрухин, Н.А. Гайдамакин // Радиационные аспекты реактивности организма в связи с космическим полетом. Сер.: Проблемы космической биологии. – М.: Наука, 1971. – Т. 14. – С. 369-378.
 13. Пирс Э. Гистохимия теоретическая и прикладная / Э. Пирс. – М.: Мир, 1962. – 962 с.
 14. Соколов Д.А. Структурно-функциональная характеристика старой коры головного мозга при алкогольной интоксикации и действии ионизирующего излучения: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Д.А. Соколов. – Ярославль, 2007.
 15. Соколов Д.А. Морфологические аспекты моделирования синдромосходных состояний в нейробиологии / Д.А. Соколов, В.Н. Ильичева, Д.Ю. Бугримов // Здоровье и образование в XXI веке. Научные и прикладные аспекты концепции здоровья и здорового образа жизни: материалы конгресса. – М.: РУДН, 2010. – С. 182.
 16. Терезанов О.Ю. Морфофункциональная характеристика коры мозжечка в ранние и отдаленные сроки при действии ионизирующего излучения: автореф. дис. ... канд. мед. наук / О.Ю. Терезанов. – М., 2006.
 17. Торубаров Ф.С. Психологические последствия аварии на ЧАЭС / Ф.С. Торубаров, О.В. Чинкина // Клинич. медицина. – 1991. – Т. 69, № 11. – С. 24-28.
 18. Ушаков И.Б. Человек в небе Чернобыля. Летчик и радиационная авария / И.Б. Ушаков, Б.И. Давыдов, С.К. Солдатов. – Ростов н/Д, 1994. – 171 с.

19. Федоров В.П. Реакция нейронов головного мозга на малые радиационные воздействия / В.П. Федоров, Р. В. Афанасьев, В. Г. Зуев // VIII Всерос. конф. по патологии клетки: сб. науч. тр. – М.: МВД, 2010. – С. 260-262.
20. Чернух А.М. Эксперимент, экспериментатор и клиника заболеваний человека / А.М. Чернух // Биологическая характеристика лабораторных животных и экстраполяция на человека экспериментальных данных: материалы Всесоюз. конф. (8-10 окт. 1980). – М., 1980. – С. 3-4.
21. Paxinos G. The rat brain in stereotaxic coordinates / G. Paxinos, C. Watson. – Elsevier Acad. Press, 2004. – 367 p.

EFFECTS OF IONIZING RADIATION ON THE ENERGY EXCHANGE IN DIFFERENT CEREBRAL CORTEX

V.N. Ilicheva, B.N. Ushakov

The comparative characteristic changes gistoenzimological profile in phylogenetically different areas of the cerebral cortex of rats after a single exposure at a dose of 0.5 Gy and 1.0 Gy. The dependence of the nature of the changes in the activity of enzymes of energy metabolism of the phylogenetic age of the crust.

Key words: brain, rat, energy enzymes exchange, metabolism, ionizing radiation.

Ильичева В.Н. – к.м.н., доцент кафедры нормальной анатомии человека Воронежской государственной медицинской академии им. Н.Н. Бурденко.
394036, г. Воронеж, ул. Студенческая, 10, ВГМА.