

1. Журавский С. Г. Молекулярно-генетические аспекты прелингвальной сенсоневральной тугоухости С. Г. Журавский, А. Е. Тараскина, Т. Сетхиясиилан и др. // Рос. оторинолар. - 2004. - № 4(11). - С. 42-44.
2. Антониади Т. Пренатальная диагностика подъязычной глухоты: тестирование на носительство и пренатальная диагностика общего Мутация GJB2 35delG / Т. Антониади, А. Пампанос, М. Б. Петерсен и др. // Пренат. Диагн. - 2001. - Т. 21, N 1. - С. 10-13.
3. Green G. E. Audiological Manifestations and features of Connexin 26 deafness / G. E. Green, R. F. Mueller, E. C. Cohn et al. // Audiology. med. 2003. - Vol. 1, N 1. - P .5-11.

### **Сведения об авторах**

А.Е. Кейних - студент

Ю.Ф. Салимова - студентка

О.А. Сатонкина - кандидат биологических наук, доцент

О.Г. Makeev - доктор медицинских наук, профессор

### **Information about the authors**

A.E. Keinikh - student

Yu.F. Salimova - student

O.A. Satonkina - Candidate of Sciences (Biology), Associate Professor

O.G. Makeev - Doctor of Sciences (Medicine), Professor

УДК 576.385

## **АНАЛИЗ ПОВЕДЕНЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ И МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ ПОЛОВОЗРЕЛЫХ КРЫС ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ ПРОТОНАМИ РАЗЛИЧНЫХ ЭНЕРГИЙ**

Юрий Сергеевич Северюхин <sup>1</sup>

<sup>1</sup>Объединенный институт ядерных исследований, Дубна, Россия

<sup>1</sup>ГБОУ ВО МО Университет “Дубна”, Дубна, Россия

<sup>1</sup>yuscucumber@mail.ru

### **Аннотация**

**Введение.** Исследование патоморфологических и поведенческих нарушений в головном мозге после воздействия ионизирующего излучения является важной и актуальной задачей радиационной медицины и космической радиобиологии.

**Цель исследования** – сравнительный анализ поведенческих реакций и морфологических изменений в ЦНС половозрелых самок крыс после воздействия протонов различных энергий. **Материалы и методы.** В работе использовались половозрелые самки крыс линии SD. Гамма-облучение <sup>60</sup>Co в дозе 1 Гр проводили на установке РОМУС-М. Облучение протонами с энергиями 170 и 70 МэВ в дозе 1 Гр проводили на фазотроне ОИЯИ. Для оценки поведенческих реакций использовали тест-системы “Открытое поле” и Т-лабиринт”. Анализ морфологических изменений в различных отделах головного мозга проводили с использованием окрашивания крезилвиолетом по Нисслю, конго-красным и Fluoro Jade В. **Результаты.** При анализе

поведенческих реакций в Т-лабиринте было выявлено, что воздействие ионизирующим излучением с различным значением ЛПЭ (линейная передача энергии) привело к увеличению актов повторного захода в рукава лабиринта в тесте спонтанного чередования. Анализ адаптации животных к установке Открытое поле показал, что в группе облученных животных происходит снижение общей двигательной активности и исследовательского поведения. При морфологическом анализе выявлено развитие раннего амилоидоза, аутолиз эпендимального слоя, увеличение числа дистрофических изменений в различных структурах головного мозга. **Обсуждение.** Воздействие протонами в дозе 1 Гр приводит к развитию структурных и функциональных нарушений ЦНС (центральной нервной системы) животных на 30 сутки после облучения. **Выводы.** Полученные данные свидетельствуют о нарушении кратковременной памяти, снижению двигательной активности и исследовательского поведения животных. С увеличением ЛПЭ происходит увеличение числа амилоидных бляшек в переднем мозге крыс, аутолиз эпендимального слоя желудочков, развитие дистрофических изменений.

**Ключевые слова:** протоны, нейроны, поведение, крысы, гистология.

## **ANALYSIS OF BEHAVIORAL REACTIONS AND MORPHOLOGICAL CHANGES IN THE BRAIN OF ADULT RATS AFTER PROTON IRRADIATION OF DIFFERENT ENERGIES**

Yury Sergeevich Severiukhin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Joint Institute for Nuclear Research, Dubna, Russia

<sup>1</sup>Dubna State University, Dubna, Russia

<sup>1</sup>yucucumber@mail.ru

### **Abstract**

**Introduction.** The study of pathomorphological and behavioral disorders in the brain after exposure to ionizing radiation is an important and topical task of radiation medicine and space radiobiology. **The aim of the study** – to do comparative analysis of behavioral reactions and morphological changes in the brain of adult female rats after exposure to protons with different energy and gamma radiation. **Materials and methods.** Adult female rats SD was used in this study. Gamma irradiation with <sup>60</sup>Co at a dose of 1 Gy was carried out at the ROMUS-M facility. Irradiation with protons with energies of 170 and 70 MeV at a dose of 1 Gy was carried out at the JINR MTC Phasotron. Behavioral responses were assessed using the Open Field and T-maze test systems. An analysis of morphological changes in different parts of the brain was performed using Nissl cresyl violet, Congo red and Fluoro Jade B staining. **Results.** When analyzing behavioral reactions in the T-maze, it was found that exposure to ionizing radiation with different LET (linear energy transfer) led to an increase in acts of re-entry into the arms of the labyrinth in the test of spontaneous alternation. An analysis of animal adaptation to the Open Field installation showed that in the group of irradiated animals (70 MeV protons in the Bragg peak) there is a decrease in overall motor activity. A decrease in the number of stands on the hind legs was observed in all groups of irradiated animals. Morphological analysis revealed the development of early amyloidosis, autolysis of the ependymal layer, an increase in

the number of dystrophic changes in various brain structures. **Discussion.** Exposure to protons at a dose of 1 Gy leads to the development of structural and functional disorders of the CNS (central nervous system) of animals on the 30th day after exposure. **Conclusions.** The data obtained indicate a violation of short-term memory, a decrease in motor activity and exploratory behavior of animals. With an increase in LET, there is an increase in the number of amyloid plaques in the forebrain of rats, autolysis of the ependymal layer of the ventricles, and the development of dystrophic changes.

**Keywords:** protons, neurons, behavior, rats, histology.

## **ВВЕДЕНИЕ**

Головной мозг человека может быть подвержен воздействию протонов в результате медицинского облучения, а также в ходе пилотируемой космической миссии. Несмотря на большое количество исследований в данной области, проблема оценки поведенческих реакций и морфологических изменений в ЦНС после воздействия ядер  $^1\text{H}$  остается открытой в виду отсутствия очевидной связи между структурными и функциональными нарушениями. Проведенные исследования существенно различаются по типу используемого ионизирующего излучения, срокам в которые происходит оценка того или иного эффекта, фракционированию, пространственному дозовому распределению, животным моделям.

Анализ литературных данных показывает, что, несмотря на большое количество экспериментальных работ, до сих пор нет полного представления о морфологических изменениях и нейродегенеративных процессах в ЦНС после воздействия протонами в малых дозах. Не всегда очевидной является связь между пострадиационными структурными и функциональными нарушениями. Не более 10% исследований проходят на самках млекопитающих [1]. В то время как самые недавние исследования указывают на четкие различия в реализации радиационно-индуцированных изменений в ЦНС у особей различного пола [2]. На данный момент радиационно-индуцированные патофизиологические реакции в тканях ЦНС описываются схемой, представленной в статье [3]. Данные нарушения включают в себя нейровоспаление, эпигенетические нарушения, индукцию апоптоза в мозге, некроз, демиелинизацию, глиальную атрофию, нарушения гематоэнцефалотического барьера и угнетение нейрогенеза. Однако в большинстве исследований применялись достаточно большие дозы в диапазоне от 5 до 40 Гр.

**Цель исследования** – сравнительный анализ поведенческих реакций и морфологических изменений в ЦНС половозрелых самок крыс после воздействия протонов различных энергий в дозе 1 Гр.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

В эксперименте было использовано 31 крыса (самки) линии SD (Sprague Dawley) категории SPF массой 200-245 г. На момент облучения возраст животных составлял 15 недель. Крысы были получены из питомника лабораторных животных “Пушино” (г. Пушино) и прошли предварительную адаптацию к условиям вивария. В ходе всего содержания животные имели

неограниченный доступ к воде и пище. Разделение животных на группы было произведено за 10 недель до облучения методом рандомизации. Животные были умерщвлены методом декапитации на 30 сутки после облучения, секция и отбор органов для исследования были произведены в то же время. Процедуры, проводимые над животными, соответствовали правилам работы, утвержденными биоэтической комиссией Федерального государственного бюджетного учреждения науки Государственного научного центра РФ – Института Медико-Биологических проблем РАН. Условия облучения и распределение по группам представлены в таблице 1.

Таблица 1.

Условия облучения

Группа	Доза, Гр	Мощность Дозы, Гр/мин	Поток, частиц/см <sup>2</sup>	ЛПЭ, кэВ/мкм	Число животных
Контроль	-	-	-	-	7
Гамма	1	0,8	-	0,2	8
Протоны 170	1	0,7	1,16 *10 <sup>9</sup>	0,5	8
Протоны 70	1	1,2	1,04*10 <sup>9</sup>	0,97	8

Исследование поведенческих реакций проводили в установках Т-лабиринт и Открытое поле (ООО НПК Открытая наука). Головной мозг животного был помещен в фиксатор (Раствор Карнуа (60% этанола, 30% хлороформа и 10% уксусной кислоты). После обезвоживания и обезжиривания правая доля головного мозга была отобрана для исследования и заключена в парафиновые блоки, а левая помещена в архив. Далее были приготовлены срезы головного мозга толщиной 10 и 6 мкм на микротоме (Thermo Fisher Scientific HM 340E Electronic Rotary Microtome). Для изучения морфологических изменений в головном мозге применяли такие процедуры окрашивания препаратов, как: крезилвиолетом по методу Ниссля, Congo Red – окрашивание и Fluoro Jade B. Исследование морфометрических характеристик, таких как площадь сечения перикариона и площадь сечения ядра нейрона проводили с использованием программы ImageJ. Для проверки полученных данных на нормальность использовался тест Шапиро-Вилка. Анализ полученных различий между показателями проводили с применением двухфакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с попарным сравнением значений с критерием Манна-Уитни и Данна. Для сравнения показателей чередования в Т-лабиринте использовали критерий хи-квадрат. Статистический анализ проводили в программе PAST. Результаты считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**РЕЗУЛЬТАТЫ**

При анализе поведенческих реакций в Т-лабиринте были выявлены следующие различия: воздействие ионизирующим излучением с различным ЛПЭ привело к увеличению актов повторного захода в лабиринт в тесте спонтанного чередования и увеличению числа попыток без выбора рукава лабиринта (отказов). Анализ адаптации животных к установке Открытое поле выявил ряд изменений поведенческих реакций на 1,14 и 30 сутки после облучения. Так в группе облученных животных (протоны 70 МэВ в пике Брэгга) отмечено снижение общей двигательной активности, которая выражается в количестве пересеченных особью секторов установки. Данные различия сохраняются в течение всего времени исследования и наблюдаются в сравнении со всеми другими экспериментальными группами. Снижение числа стоек (исследовательская активность) наблюдалось во всех группах облученных животных. Особенно ярко эти различия были выражены на 1 и 14 сутки после облучения. ЛПЭ – зависимый рост числа гиперхромных сморщенных нейронов и клеток подверженных тотальному хроматолизу был отмечен в СА3 слое гиппокампа (Рис. 1), хилусе, мозжечке и коре головного мозга.

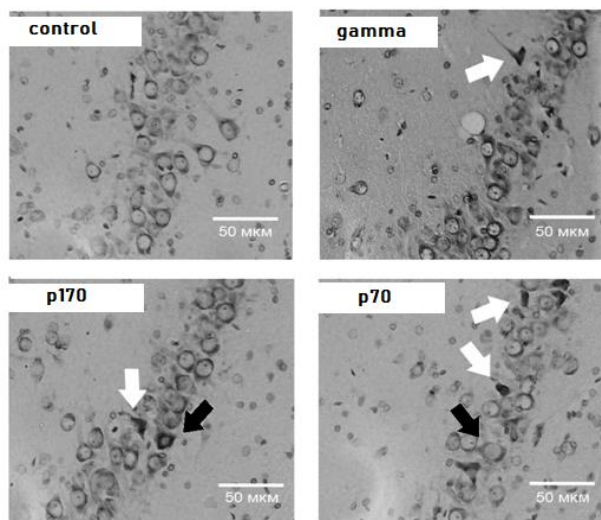


Рис 1. Обратимые и необратимые изменения в восходящем слое СА3 гиппокампа крыс. Белыми стрелками обозначены сморщенные гиперхромные нейроны. Черными стрелками обозначены обратимые морфологические изменения (гиперхромный нейрон (В) и гипертрофия нейрона (Г)). Окраска – Крезилвиолет по Нислю.

При вычислении морфометрических параметров наблюдается ЛПЭ-зависимое увеличение размеров нейронов хилуса. При исследовании морфологических изменений в вентрикулярных областях головного мозга, были выявлены изменения в монослое эпендимоцитов четвертого и второго бокового желудочка. Воздействие гамма-излучения и протонов с энергией 170 МэВ привело к увеличению числа хроматофильных клеток и развитию субэпендимального отека при наблюдаемой общей редукции клеточной популяции. Очаги деструкции и тотального хроматолиза особенно заметны в нервной ткани животных подвергнутых воздействию протонов с энергией 70

МЭВ. Наиболее значительные изменения при окрашивании конго красным были выявлены в переднем мозге крыс. Воздействие гамма и протонным излучением привело к ЛПЭ-зависимому увеличению наблюдаемых амилоидных бляшек на 30 сутки после облучения

### **ОБСУЖДЕНИЕ**

Полученные в ходе эксперимента данные существенно дополняют ранее проведенные исследования. Выявленные поведенческие, клеточные и белковые нарушения у самок половозрелых крыс указывают на пагубное воздействие протонов на функции ЦНС. Важной особенностью работы является сравнение протонного корпускулярного воздействия и электромагнитного. Полученные данные свидетельствуют о необходимости более серьезной оценки рисков дальних космических полетов, последствий солнечных вспышек и радиооерапии опухолей головного мозга. В перспективе определенный интерес вызывает проведение дополнительных ИГХ (иммуно-гистохимических), электрофизиологических и биохимических исследований с использованием, как протонов, так и более тяжелых заряженных частиц.

### **ВЫВОДЫ**

Воздействие протонами в дозе 1 Гр приводит к развитию структурных и функциональных нарушений ЦНС животных на 30 сутки после облучения. Полученные данные свидетельствуют о нарушении кратковременной памяти, снижению двигательной активности и исследовательского поведения животных. С увеличением ЛПЭ происходит увеличение числа амилоидных бляшек в переднем мозге крыс, аутолиз эпендимального слоя желудочков, развитие дистрофических изменений.

### **СПИСОК ИСТОЧНИКОВ**

1. Frederico Kiffer, Marjan Boerma, Antiño Allen, Behavioral effects of space radiation: A comprehensive review of animal studies, *Life Sciences in Space Research*, Volume 21, 2019, Pages 1-21
2. Krukowski K, Grue K, Frias ES, Pietrykowski J, Jones T, Nelson G, Rosi S. Female mice are protected from space radiation-induced maladaptive responses. *Brain Behav Immun*. 2018; 74: 106-120.
3. Yang L, Yang J, Li G, et al. Pathophysiological Responses in Rat and Mouse Models of Radiation-Induced Brain Injury. *Mol Neurobiol*. 2017;54(2):1022–1032.

### **Сведения об авторах**

Ю.С. Северюхин – научный сотрудник

### **Information about the authors**

Yu. S. Severiukhin – researcher

УДК: 616.345

## **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОНЛАЙН-ОПРОСОВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ПЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К КОЛОРЕКТАЛЬНОМУ РАКУ СРЕДИ НАСЕЛЕНИЯ**