

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
«Государственный научный центр Российской Федерации –  
Институт медико-биологических проблем Российской академии наук»

*На правах рукописи*

ПЕРЕВЕЗЕНЦЕВ АЛЕКСАНДР АЛЕКСАНДРОВИЧ

**НЕЙРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ КОМБИНИРОВАННОГО  
ДЕЙСТВИЯ ИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ И  
МИКРОГРАВИТАЦИИ КАК ФАКТОРОВ ДАЛЬНЕГО  
КОСМИЧЕСКОГО ПОЛЕТА В НАЗЕМНЫХ ЭКСПЕРИМЕНТАХ НА  
ЖИВОТНЫХ**

Специальность 3.3.7 «Авиационная, космическая и морская медицина»

Диссертация на соискание ученой степени  
доктора биологических наук

Научный консультант:  
доктор биологических наук  
Штемберг Андрей Сергеевич

Москва – 2025

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ .....</b>	<b>6</b>
<b>ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР .....</b>	<b>16</b>
1.1 История исследования радиочувствительности ЦНС .....	16
1.2 Радиочувствительность ЦНС на интегративном уровне .....	20
1.3 Радиочувствительность как отражение общей неспецифической реактивности организма .....	27
1.4 Радиочувствительность ключевых структур мозга .....	30
1.5 Механизмы воздействия ионизирующих излучений на ЦНС .....	32
1.6 Роль нейрогенеза в нейробиологических эффектах ИИ .....	36
1.7 Эффективные дозы разных видов ИИ по нейробиологическим критериям .....	38
1.8 Нейробиологические эффекты невесомости .....	41
1.9 Комбинированные воздействия .....	45
Заключение .....	49
<b>ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ .....</b>	<b>51</b>
Введение	
2.1 Используемые в исследованиях животные .....	52
Грызуны .....	52
Обезьяны .....	53
2.2 Моделирование факторов космического полета .....	54
Антиортостатическое вывешивание .....	54
Антиортостатическая гипокинезия .....	55
Гамма-облучение .....	56
Ионное воздействие .....	58
2.3 Методики определения типологии нервной деятельности .....	63
Крысы .....	63
Обезьяны .....	65

2.4 Поведенческое тестирование грызунов .....	67
Открытое поле .....	67
Приподнятый крестообразный лабиринт .....	68
УРПИ .....	69
УРАИ в челночной камере и Y-лабиринте .....	69
Водный лабиринт Морриса.....	74
IntelliCage .....	75
2.5 Поведенческое тестирование обезьян .....	76
2.6 Нейрохимические исследования .....	81
2.7 Молекулярные исследования .....	84
2.8 Обработка данных .....	85
Заключение .....	87

### **ГЛАВА 3. НЕЙРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ**

<b>КОМПОНЕНТОВ ГКЛ .....</b>	<b>89</b>
3.1 Радиационный риск межпланетных полетов .....	89
3.2 Исследование воздействия облучения ионами H <sup>+</sup> на механизмы синаптической передачи у крыс .....	92
3.3 Исследование воздействия ионов <sup>78</sup> Kr на нейромедиаторную систему обезьян .....	104
Заключение .....	106

### **ГЛАВА 4. КОМБИНИРОВАННОЕ ДЛИТЕЛЬНОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ ..... 108**

4.1 О характере взаимодействия эффектов при комбинированном воздействии .....	109
4.2 Зависимость эффектов от продолжительности воздействий .....	124
4.3 Интерференционный характер эффектов гравитационного и радиационного факторов .....	128
Заключение .....	134

<b>ГЛАВА 5. НЕЙРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ КОМБИНИРОВАННОЙ МОДЕЛИ ФКП И ИХ МЕХАНИЗМЫ .....</b>	<b>137</b>
5.1 Кратко- и среднесрочные последствия у крыс .....	140
Типологизация .....	140
Поведение .....	142
Нейрохимические изменения .....	147
5.2 Долгосрочные последствия комбинированного воздействия у крыс .....	149
Поведенческие тесты .....	149
Нейрохимические изменения .....	155
Сопоставление нейрохимических и молекулярных механизмов .....	158
5.3 Когнитивные и биохимические изменения у обезьян .....	165
Типологизация .....	166
Воздействия .....	168
Поведенческое тестирование .....	169
Нейрохимические изменения.....	176
Заключение .....	179
<b>ГЛАВА 6. ПРАКТИЧЕСКОЕ ПРИЛОЖЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИССЛЕДОВАНИЙ .....</b>	<b>182</b>
6.1 Проблема экстраполяции полученных данных на человека .....	182
6.2 Профилактика и коррекция нарушений .....	185
Критерии отбора членов экипажа .....	186
Фармакологическая коррекция .....	186
Терапевтические меры .....	187
Психологическая разгрузка .....	188
Эргономические меры .....	189
6.3 Перспективы исследований .....	190

<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....</b>	<b>194</b>
<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ .....</b>	<b>201</b>
<b>СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ .....</b>	<b>204</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЯ .....</b>	<b>239</b>

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность научного исследования** обусловлена развитием программ пилотируемой космонавтики, подразумевающим совершение продолжительных космических полетов за пределами магнитосферы Земли, в зоне воздействия солнечных и галактических космических лучей. Воздействие протонов и, особенно, тяжелых ионов, входящих в состав галактических космических лучей, на организм, и, прежде всего, нервную систему, изучено слабо, однако известно, что оно принципиальным образом отличается от воздействия гамма-излучения [1]. Согласно ряду оценок, воздействие тяжелых ионов потенциально может привести к нарушению функций нервной системы до уровня неспособности экипажа к исполнению своих обязанностей [2]. Соответственно, требуется кардинальная переработка подхода к оценке, моделированию и исследованию радиационных рисков космического полета и «организация комплекса нейрорадиобиологических исследований» [3].

Предыдущие исследования показали, что при одновременном воздействии нескольких негативных факторов космического полета нейробиологические эффекты, создаваемые этими факторами, могут существенно модифицироваться [4], однако в силу технических возможностей такие исследования до сих пор касались воздействия не более чем двух факторов и не касались воздействия тяжелых ионов [5,6].

Воздействие ускоренных заряженных частиц в наземных условиях встречается практически только при адронной терапии опухолей головного мозга, однако медицинские данные касаются преимущественно терапии протонами с энергией 100-200 МэВ/нуклон и значительно реже – воздействия более тяжелых и/или высокоэнергетических частиц, что также обуславливает актуальность исследования.

Исходя из изложенного, целесообразным представляется:

- во-первых, создание и апробация комплексной модели, учитывающей воздействие как минимум трех ключевых факторов дальнего космического

полета – длительного облучения, невесомости и воздействия заряженных частиц с массами ядра от 1 и выше, энергиями от 150 МэВ/н и выше;

- во-вторых, проведение на основе этой модели серии экспериментов с различными видами животных для оценки на различных уровнях организации ЦНС факторов индивидуальной резистентности к моделируемым воздействиям.

### **Степень разработанности темы**

Исследования комбинированного воздействия различных факторов космического полета проводятся с середины XX века, однако в первоначальный период упор делался на гравитационные и эргономические факторы. Масштабное исследование радиационного фактора орбитальных полетов в виде гамма-облучения началось с 1970-х годов и привело к появлению существенного числа публикаций. Значимым источником данных являются полетные эксперименты, в частности, результаты миссий с Бион-6 по Бион-11, проводившихся совместно специалистами НАСА и ИМБП и позволивших оценить влияние факторов полета на околоземной орбите на различные аспекты жизнедеятельности млекопитающих, в том числе приматов. Некоторые прикладные наблюдения были выполнены астронавтами НАСА в ходе миссий программы «Аполлон». Практически единственным полетным экспериментом, включающим посещение высокой орбиты (1400 км) и радиационных поясов Земли и, таким образом, целенаправленно затрагивающим проблематику воздействия ионов, является проведенная в сентябре 2024 года миссия Polaris Dawn, в ходе которой были собраны приборные данные, в частности, о взаимодействии ионов с сетчаткой глаза.

Степень проработанности темы воздействия высокоэнергетических ионов обусловлена необходимостью задействования колоссальных технических ресурсов при создании в наземном эксперименте пучка ускоренных тяжелых ионов. Фактически исследования такого рода могут проводиться только на ускорительных установках класса «megascience», к которым относятся ускоритель У-70 (Россия, Протвино – с 2013), Nasa Space Radiation Lab Particle Acceleration

Complex (США, Брукхэвен – с 2003), Большой Адронный Коллайдер (Евросоюз, ЦЕРН) и NICA (Россия, Дубна – с 2022). Вследствие этого работ, посвященных воздействию тяжелых ионов, мало и они достаточно разнородны вплоть до определенных противоречий. Так, например, при исследовании когнитивных способностей крыс в [7] относительная биологическая эффективность (ОБЭ) ионов  $^{56}\text{Fe}$  определена на уровне 50, а [8] указывает на перманентные нарушения после воздействия таких ионов в дозе 0,2 Гр. В то же время при определении ОБЭ через летальность мышей в [9] получено значение порядка единицы. Повидимому, такие различия, указывающие на то, что само понятие «ОБЭ» малоприменимо к тяжелым ионам, происходят из принципиально отличной, механистической, природы воздействия ионов на клетки тканей, в результате чего каждый пролет частицы через ткань сопровождается нарушением целостности сложных молекул и, в частности, разрывами ДНК или РНК [10]. В свою очередь, образующиеся треки поврежденных клеток инициируют каскад стрессоподобных нарушений в организме на молекулярном, нейрохимическом, и, как следствие, интегративном уровне [11, 12]. В работе [13] указано, что после воздействия ионов  $^{56}\text{Fe}$  в дозе 0,6 Гр изменения на нейрохимическом уровне носят длительный, если не необратимый характер. В работах [14, 15] и [16] установлен факт нарушения нейрогенеза в различных отделах мозга после воздействия ионов железа. Поскольку нейрогенез потенциально является одной из ключевых адаптивных функций мозга [17], такие нарушения могут обуславливать быстро возникающее и долгосрочное снижение когнитивных способностей.

Существующие исследования эффектов воздействия тяжелых ионов преимущественно относятся к области адронной онкотерапии и не рассматривают комплексного воздействия факторов, характерных для дальнего космического полета, прежде всего – действующих хронически, то есть невесомости и ионизирующего излучения. За рубежом по сути первой публикацией по данной тематике является работа [18], рассматривающая последовательное воздействие модельной невесомости и смесового 5-ионного пучка.

В России исследования комбинированных воздействий проводились с 1970-х годов на различных видах животных, однако при этом использовались,

преимущественно, комбинации антиортостатического вывешивания и разового гамма-облучения в значительных (1,5 – 5 Гр) дозах [19, 20, 5]. В ходе этих работ было выявлено существенное взаимно-модифицирующее влияние факторов космического полета вплоть до взаимного ослабления [21] и сформулировано дальнейшее направление исследований, приведшее, в итоге, к формулировке концепции сложной модели сочетанного воздействия [22], которая обусловила постановку цели и задач данной работы.

**Цель исследования:** изучение нейробиологических эффектов комбинированного действия радиационных и гравитационных факторов межпланетного полета на разных уровнях организации ЦНС в модельных экспериментах на грызунах и приматах и оценка их взаимно модифицирующего влияния и факторов резистентности.

### **Задачи исследования:**

1. Сформулировать, реализовать и апробировать методологию моделирования в наземном эксперименте комплексного синхронного воздействия негативных факторов дальнего космического полета:
  - гипогравитации;
  - длительного воздействия ИИ;
  - потока высокоэнергетических ионов, составляющих солнечные и галактические космические лучи.
2. Исследовать взаимное влияние пролонгированного синхронного действия факторов космического полета, моделируемых в наземном эксперименте, и описать зависимости такого влияния от характеристик (продолжительности, дозы и режима облучения) самих модельных воздействий.
3. Определить параметры воздействия, позволяющие с учетом видовой радиочувствительности имитировать дозы и сроки, соответствующие планируемой Марсианской миссии.
4. В серии экспериментов, поставленных по разработанной в п.п. 1 - 3 методологии, изучить нарушения, возникающие в результате предложенного

комплексного воздействия, на интегративно-поведенческом, нейрохимическом и молекулярном уровнях и оценить взаимно модифицирующее влияние факторов дальнего космического полета на всех уровнях организации ЦНС: интегративном, нейрохимическом и молекулярном.

5. Описать механизмы возникновения нарушений на нейрохимическом и интегративном уровнях и оценить степень риска для экипажа перспективных пилотируемых космических миссий.
6. В серии экспериментов на лабораторных грызунах и приматах оценить роль типологических характеристик высшей нервной деятельности в ответе центральной нервной системы на изучаемые воздействия.

### **Научная новизна исследования**

Впервые исследовано *in vivo* воздействие моделируемых в наземном эксперименте факторов космического полета – гипогравитации, длительного воздействия ионного излучения (ИИ) и облучения высокоэнергетическими ионами при их пролонгированном сочетанном воздействии. Оценено взаимно-модифицирующее влияние перечисленных факторов, которое при различных условиях может быть как аддитивным, так и компенсирующим, а в ряде случаев вызывать новые, не наблюдающиеся при воздействии одиночных факторов, эффекты.

Впервые в мировой научной практике сформулирована и доведена до практической реализации концепция комплексного моделирования факторов дальнего космического полета. Определены ключевые параметры составляющих воздействий – продолжительности и дозы гамма- и ионного облучения, методики реализации отдельных этапов для лабораторных грызунов и приматов, а также методики и критерии оценки последствий модельного воздействия на различных – интегративном, нейрохимическом и молекулярном – уровнях организации центральной нервной системы.

Впервые в серии экспериментов на грызунах – мышах и крысах – и приматах получены данные о нарушениях на всех уровнях функционирования

центральной нервной системы, возникающих вследствие воздействия факторов дальнего космического полета, моделируемых в наземном эксперименте. В частности, выявлено, что на интегративном уровне нарушения проявляются в эмоционально-мотивационной сфере, на нейрохимическом уровне они обоснованы изменениями в дофаминергической системе древних отделов головного мозга, а на молекулярном – выражены в изменении экспрессии генов, кодирующих дофаминовые и серотониновые рецепторы. Показано, что, хотя при воздействиях, эквивалентных предполагаемым воздействиям в ходе полета на Марс, не возникает риска фатального нарушения когнитивных функций, в ряде случаев падение результативности при сложной деятельности может быть значительным, а отдаленные последствия наблюдаются спустя продолжительное время – месяцы и годы после воздействий.

Впервые обнаружена и исследована зависимость нарушений, возникающих в работе ЦНС, от индивидуальных типологических особенностей высшей нервной деятельности и показано, что обладатели определенных типов ВНД – в частности, неуравновешенных и с преобладанием возбуждения – значительно более подвержены таким нарушениям, что позволяет рассматривать типологию ВНД как фактор индивидуальной радиорезистентности.

### **Теоретическая и практическая значимость**

В диссертационной работе разработан ряд теоретических и методических положений, которые в совокупности можно квалифицировать как научное достижение.

В работе решена научная проблема наземного моделирования воздействия факторов дальнего космического полета. Решение этой проблемы открывает возможность для проведения работ практической значимости, связанных с разработкой критериев дозовой нагрузки, поиском эффективных в условиях дальнего полета защитных средств и иными прикладными вопросами обеспечения дальних космических полетов.

Разработана комплексная модель нарушений высшей нервной деятельности, охватывающая молекулярный, нейрохимический и интегративный уровни функционирования головного мозга.

Полученные в диссертационной работе данные, указывающие на зависимость устойчивости индивида к модельным воздействиям от типологических характеристик его высшей нервной деятельности, дают, с одной стороны, практический критерий, применимый для оценки кандидатов в члены экипажей перспективных космических миссии – а с другой стороны, имеют значительную фундаментальную ценность.

### **Методология и методы исследования**

Полученные в ходе выполнения работы данные были обработаны с использованием соответствующих современного математического аппарата и программного обеспечения.

В ходе исследований использовалась совокупность методик:

- батарея поведенческих тестов для грызунов: тест УРАИ в челночной камере и Y-лабиринте, лабиринт Морриса, тест «открытое поле» и другие;
- уникальная методика поведенческого тестирования для приматов, имитирующая базовые элементы операторской деятельности на компьютере;
- высокоэффективная жидкостная хроматография с электрохимической и флюoresцентной детекцией для определения концентраций в пробах головного мозга нейромедиаторов и аминокислот соответственно;
- методика qPCR-RT (ОТ ПЦР) для исследования изменений в нейромедиаторных системах на молекулярном уровне;
- статистические методы обработки данных.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Разработанная методология моделирования синхронного комбинированного воздействия факторов, действующих на организм при осуществлении дальнего космического полета, является наиболее адекватной, поскольку учитывает важнейшие компоненты воздействия – гипогравитацию, гамма-

облучение и воздействие компонентов СКЛ и ГКЛ, синхронный и хронический характер их воздействия.

2. Выраженный стабильный эффект воздействия комбинации факторов дальнего космического полета, моделируемых в наземном эксперименте, на центральную нервную систему достигается при синхронном пролонгированном воздействии АнОВ и гамма-облучения, дополняемых воздействием пучка высокоэнергетических ионов при дозовой нагрузке, соответствующей, с учетом принятых норм видовой радиочувствительности и продолжительности жизни, полету на Марс.
3. Нарушения, возникающие в центральной нервной системе при комплексном моделировании в наземном эксперименте факторов дальнего космического полета, затрагивают преимущественно эмоционально-мотивационную сферу, что обусловлено на нейрохимическом уровне изменениями в метаболизме дофамина, а на молекулярном – изменением экспрессии генов, кодирующих рецепторы дофаминергической и серотонинергической систем.
4. Взаимное влияние факторов дальнего космического полета, моделируемых в наземном эксперименте – гипогравитации, гамма-облучения и облучения высокоэнергетическими ионами – носит сложный характер, зависящий от характеристик отдельных факторов и способа их сочетания, и не сводящийся к аддитивному или антагонистическому взаимодействию.
5. Масштаб нарушений в ЦНС, возникающих вследствие модельных воздействий, напрямую зависит от типологических особенностей высшей нервной деятельности индивида. У крыс тип ВНД, определяемый как сильная или слабая возбудимость, играет важную роль. У приматов тип ВНД определяется как сочетание силы и уравновешенности нервных процессов, и у индивидов со слабым неуравновешенным типом негативные последствия воздействий проявляются на когнитивном уровне значительно сильнее.

### **Достоверность и апробация результатов**

Достоверность полученных результатов обеспечена проведением значительного количества экспериментов с достаточной воспроизводимостью и

задействованием большого количества животных, обеспечивающих требуемый объем данных для статистической обработки: около 500 крыс линии Long Evans, 300 крыс линии Wistar, 12 макак-резусов. Эксперименты проведены с применением современных методик, качественных материалов и оборудования, а полученные данные обработаны корректно подобранными и примененными статистическими методами.

Результаты работы, основные положения, выносимые на защиту, и выводы были представлены на ряде международных и российских конференций, в числе которых 23-й Международный симпозиум «Человек в Космосе», XVIII Конференция по космической биологии и авиакосмической медицине с международным участием «Земля – Орбита – Дальний Космос», Международная конференция «Актуальные проблемы радиационной биологии. Модификация радиационно-индукционных эффектов» и другие. Результаты работы опубликованы также в ведущих российских и международных рецензируемых журналах: «Радиационная биология. Радиоэкология», «Нейрохимия», «Российский физиологический журнал им. Сеченова», «Авиакосмическая и экологическая медицина», «Life Sciences in Space Research» и прочих.

### **Личный вклад автора**

Автором самостоятельно проведен поиск и анализ отечественных и мировых работ, посвященных исследуемой проблеме. Вклад автора является определяющим на этапах постановки задач и планирования экспериментальных исследований, разработки и внедрения методик воздействия и поведенческого тестирования. Роль автора является ключевой как в руководстве коллективом исследователей, так и в непосредственном проведении экспериментальных работ. Вклад автора также являлся определяющим при подготовке публикаций, обсуждении и обработке полученных данных. Рукопись подготовлена автором самостоятельно.

## **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 27 работ, из них 23 статьи в рецензируемых научных журналах, включенных в перечень ВАК и/или индексируемых в международных реферативных базах данных и системах цитирования Scopus и Web of Science.

## **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Диссертация подготовлена в соответствии с паспортом специальности 3.3.7 «Авиационная, космическая и морская медицина», направление 9: «Разработка теории, методов и средств экспериментального и аналитического изучения механизмов адаптации организма к измененным условиям среды обитания и его функциональных резервов, процессов формирования и поддержания гомеостаза в области космической биологии и биотехнологии, экзобиологии, космической экологии, экстремальной, авиационной, высокогорной, баро- и водолазной медицины, комплексных и биологических систем жизнеобеспечения».

## **Объем и структура работы**

Диссертация включает:

- введение;
- обзор литературы;
- описание материалов и методов исследования;
- результаты исследования и их обсуждение;
- заключение;
- выводы;
- список литературы.

Работа изложена на 238 страницах, иллюстрирована 19 таблицами и 55 рисунками. Библиографический указатель содержит 233 источника литературы.

## ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

### 1.1 История исследования радиочувствительности ЦНС

Вопрос о воздействии ионизирующих излучений (ИИ) на нервную деятельность впервые был поставлен И.Р. Тархановым, который в 1896 году, вскоре после открытия рентгеновских лучей, выявил их угнетающее действие на рефлекторную деятельность земноводных, а через некоторое время предложил концепцию применения ИИ в терапии злокачественных опухолей. Далее исследования были развиты целым рядом отечественных и зарубежных специалистов, однако до начала «ядерной эры» носили преимущественно фундаментальный характер ввиду того, что доступные источники ИИ имели выраженный «лабораторный» характер и не воспринимались как фактор среды. На первом этапе исследований – приблизительно до 1940-х годов – ЦНС считалась исключительно радиорезистентной на основании изучения морфологических последствий облучения. В дальнейшем рядом специалистов была показана высокая чувствительность ЦНС на функциональном уровне, прежде всего – электроэнцефалографическими методами [23] – вследствие чего была подвергнута пересмотру сама концепция «взаимосвязи и противопоставления» радиорезистентности и радиочувствительности, которая, однако, и до сегодняшнего дня не может считаться устоявшейся, поскольку ЦНС характеризуется исключительно высокой радиочувствительностью при столь же высокой радиорезистентности. Как следствие, подход к оценке эффектов ИИ зависит от постановки общей задачи: требуется ли оценка риска возникновения нарушений (и, соответственно, минимальной дозы, при которой они будут выявлены) или же выживаемости (т.е. максимальной дозы, при которой ЦНС еще будет условно функциональна). В трудах Н.Г. Даренской, в частности, [24], показана тесная связь понятий радиочувствительности и радиорезистентности.

В практическом плане исследования чувствительности организма к факторам, возникающим в ходе космического полета (ФКП), исторически

опирались на военную и авиационную медицину в силу того, что во всех космических державах космонавтика вела свое начало от авиации. Авиационная медицина, в свою очередь, уделяла первостепенное внимание гравитационным факторам (в первую очередь – перегрузкам) и вопросам сохранения боеспособности пилота в условиях сравнительно короткого воздействия упомянутых факторов. Как следствие, вопросам как радиационной биологии вообще, так и радиочувствительности ЦНС в частности уделялось весьма скромное внимание, особенно на фоне того, что ядерная физика как наука в период 1960-х – 1970-х годов была молода. Радиационные эффекты преимущественно рассматривались на клеточном уровне и оценивались с точки зрения статистики и выживаемости различных видов клеток, без оценки на интегративном уровне. Достаточно упомянуть, что в классификации, которую предложили в 1968 году Филип Рабин и Джордж Касаретт в работе [25], зрелые нейроны оцениваются как наиболее радиационно-стойкие клетки организма и делается вывод о крайне низкой радиочувствительности мозга: нижним пределом дозы, при которой обнаруживались цереброваскулярные нарушения, считались 30 Гр. Аналогичная точка зрения присутствовала в большинстве работ того времени, в частности, в трудах В.В. Антипова [19].

Такой подход вполне отвечал задачам, стоявшим перед космонавтикой того времени и заключавшимся, в первую очередь, в отработке технологий орбитальных полетов, оценке общего риска и обеспечении безопасности космонавтов и астронавтов в целом. С учетом очевидно превалирующего при орбитальных полетах – и при сколько-нибудь продолжительных полетах имеющего катастрофические последствия – влияния гипогравитации [19] первоочередное внимание уделялось купированию последствий именно этого фактора. Воздействие заряженных частиц – в первую очередь, протонов – при орбитальных полетах в значительной мере снижено как за счет отклонения протонных пучков магнитным полем Земли, так и за счет того, что порядка 50% полетного времени орбитальная станция проводит в тени Земли. Воздействием галактических лучей в виде ионов с Z (заряд ядра)  $>10$  на околоземной орбите можно практически пренебречь. Тем не менее, уже в работах [19], [26] постулируется не только необходимость

исследования комбинированного воздействия факторов, но и сложный, потенциально антагонистический характер их взаимодействия.

Одной из наиболее ранних практических работ, затрагивающих проблематику ионного облучения, следует считать, по-видимому, [27], которая указывает на ранее теоретически обоснованный риск воздействия заряженных частиц. Однако в результате 62-часового полета яванских макак на метеозонде на высоте порядка 28 км в [27] не выявлено нарушений ни поведенческого, ни неврологического характера. В целом исследования, затрагивающие проблематику ионного облучения, были чрезвычайно ограничены возможностями и доступностью ускорителей частиц, которые, в свою очередь, упирались в развитие физики сверхпроводников, необходимой для создания магнитных систем, и вычислительной техники, необходимой для систем управления ускорителями. Хотя адронная терапия ведет свою историю с 1960-х годов, до появления в середине 2000-х годов коммерческих медицинских протонных ускорителей она, как и соответствующие исследования в области ионного облучения, была узкоспецифической и сравнительно малоустроенной областью. Ряд работ, опубликованных в 1970 - 1990-е годы, в частности, [28], [29], [30], указывают на значительно более высокую биологическую эффективность ионного воздействия (в частности, ОБЭ  $^{56}\text{Fe}$  в [29] оценивается приблизительно в 50), однако слабо либо вовсе не исследуют механизмы поражающего воздействия частиц, особенно на нервную систему, и ответные реакции организма. В целом ионное облучение, в частности, в фундаментальном сборнике [31], рассматривается в той же парадигме, что и фотонное. Как отмечается в [32], «Большинство работ по определению величины ОБЭ протонов выполнено при облучении *in vitro* культур нормальных и опухолевых клеток», и, как следствие, «Хотя физические свойства протонов хорошо изучены, об особенностях их биологического действия известно гораздо меньше».

Существенный сдвиг в исследовании и моделировании воздействий ФКП на нервную систему произошел в конце 1990-х годов после удачного полетного эксперимента «Бион-11», проведенного в 1996 совместно Роскосмосом, ИМБП и НАСА. Вышедшая в 1997 году статья А.С. Штемберга [5] фактически закладывает

основу комплексного моделирования ФКП в наземном эксперименте – как с точки зрения комплексности самих воздействий (изучены различные модели гипогравитации в сочетании с гамма-облучением, хотя еще в высокой – по нынешним меркам – дозе в 3 Гр), так и с точки зрения оценки последствий через отклонения, непосредственно обнаруживаемые на интегративном уровне, т.е. в масштабах организма, а не культуры клеток. Практически одновременно вышедшая статья Бернарда Рабина [30] органично дополняет исследование, рассматривая, опять-таки на интегративном уровне, последствия облучения различными типами радиации – ионами  $^{56}\text{Fe}$ , гамма- и нейтронным излучением, хотя и опуская вопрос комплексного воздействия. В работе [30] делается чрезвычайно важный для дальнейших исследований вывод о том, что гамма- и ионное облучение вследствие различного механизма действия оказывают принципиально различный эффект и, следовательно, ионное воздействие не может быть смоделировано посредством гамма-облучения, т.е. фактически понятие ОБЭ к ионному облучению применимо лишь частично.

К середине 2000-х годов сложился ряд предпосылок для существенного сдвига в радиационной биологии. Прежде всего, ввод в эксплуатацию Международной Космической Станции естественным образом побудил космические агентства внести в свои перспективные планы ряд миссий, предусматривающих полеты за пределами земной магнитосферы – в частности, NASA в 2005 году предложило проект Constellation [33], позднее переименованный в Artemis и подразумевающий высадки на Луну и Марс, а Роскосмос в то же время разрабатывал корабль «Федерация», предназначенный, в том числе, для аналогичных целей. Программа NASA включала, помимо прочего, целенаправленное развитие наземной инфраструктуры для радиobiологических исследований, ключевым элементом которой стал введенный в эксплуатацию в 2003 году «многоионный» синхротрон EBIS (Electron Beam Ion Source), оперирующий частицами от  $^1\text{H}$  до  $^{56}\text{Fe}$  с возможностью быстрого (порядка 5 минут) переключения нескольких видов ионов с различными энергиями [34].

С появлением массовых протонных ускорителей начала стремительно набирать популярность протонная онкотерапия, потребовавшая значительного

числа исследований, прежде всего, с точки зрения безопасности используемых методик для пациентов. Дальнейшее развитие идеи ионной терапии привело к вводу в 2013 году в эксплуатацию в экспериментально-исследовательском режиме радиобиологического стенда на ускорителе У-70 (РБС У-70) в Протвино, который стал в значительной мере аналогом EBIS и позволил проводить исследования, моделирующие воздействие галактических космических лучей посредством пучка ионов  $^{12}\text{C}$  с энергиями 180-450 МэВ/нуклон [35].

Сочетание новых прикладных задач и появившихся возможностей для проведения исследований в области радиационной биологии обусловило стремительный рост как количества, так и качества работ, опубликованных преимущественно в России и США начиная с конца 2000-х годов, и приведших, с одной стороны, к существенному прогрессу в области радиационной биологии, а с другой стороны – к пониманию необходимости значительной смены парадигмы как исследований, так и собственно радиационной безопасности при выполнении космических полетов. Результатом стала публикация в 2017 году концептуальной статьи [3], содержащей ключевые тезисы о том, что, во-первых, «...концепция подготовки длительных межпланетных пилотируемых полётов в навигационном, техническом и медико-биологическом аспектах должна претерпеть существенные изменения» и, во-вторых, «необходимо комплексное изучение поражающего действия заряженных частиц на молекулярном, клеточном и организменном уровнях. Наиболее важными здесь будут исследования нарушений высших интегративных функций мозга».

## **1.2 Радиочувствительность ЦНС на интегративном уровне**

На фоне резкого роста количества исследований в последнее десятилетие подход к пониманию радиочувствительности ЦНС существенно изменился. Ведущие специалисты отрасли, как российские (в частности, в работах [3], [36], так и зарубежные [37], [38] сходятся в ключевых положениях современного подхода к оценке масштабов и механизмов радиационного риска, возникающего в ходе космического полета.

Прежде всего, изменения касаются оценки доз, вызывающих достоверно регистрируемые нарушения нервной деятельности на интегративном уровне. Использование современных методик поведенческого тестирования позволило сделать вывод, что тяжелые ( $Z$  (заряд)  $> 20$ ) ионы могут вызывать нарушения в дозе 0.2 Гр. В частности, в работе [8] показано, что у крыс линии Wistar через три месяца после облучения ионами  $^{56}\text{Fe}$  в дозе 0.2 Гр достоверно увеличивается время поиска открытого отверстия в лабиринте Барнс при сохранении в целом исследовательской активности, что оценивается авторами как признак сохранной мотивации. Отдельно отмечается, что при рентгеновском облучении аналогичные эффекты наблюдаются при дозе 10 Гр, что позволяет оценить величину ОБЭ (хотя более корректным будет термин «коэффициент эффективной дозы») для  $^{56}\text{Fe}$  «по поведению» значением порядка 50. В более поздней работе того же коллектива [39] нарушения в лабиринте Барнс выявлены даже при облучении в дозе 0.05 Гр, однако оговаривается, что речь идет о возрастании количества индивидуумов (работа проведена на 269 крысах линии Wistar), показывающих плохой результат, при том, что значительное количество животных никак не реагирует на воздействия, из чего авторы делают вывод, что при облучении в малых дозах ключевую роль играют индивидуальные особенности ЦНС. На нейрохимическом уровне одной из причин нарушений может быть снижение активности глутаматергической системы в гиппокампе [8]. Также установлено, что нарушения возникают в дофаминергической системе; в частности, регистрируется снижение калий-зависимого высвобождения дофамина в стриатуме. Отдельно следует оговорить, что в подавляющем большинстве случаев группа Р. Бриттена работает исключительно с однократным (острым) ионным облучением.

Исследование эффектов хронического облучения в настоящее время, к сожалению, возможно только применительно к гамма-облучению в силу исключительно высокой стоимости сеансов работы на ускорителях. Результаты работ, посвященных эффективности хронического облучения, указывают на принципиальное различие между хроническим и острым воздействием. В работе [38] крысы линии Sprague Dawley подвергались  $\gamma$ -облучению в дозах 0.9 Гр (малая доза) и 3 Гр (большая доза) при мощностях доз 6 и 20 мГр соответственно.

Животные, облученные в малой дозе, показали более сильное угнетение в тестах распознавания нового объекта и У-лабиринта (обследование рукавов), что трактуется авторами как нарушение рабочей и долговременной памяти, более выраженное у группы с меньшей дозой (и мощностью дозы). Вместе с тем в teste открытоя поля не обнаруживается разницы в тревожности ни между группами малой и большой дозы, ни с контрольной группой. Авторы отдельно отмечают, что механизмы нарушений при облучении в малой дозе остаются неясными, равно как неясен в целом масштаб когнитивных нарушений – вплоть до возможности улучшения отдельных показателей. В то же время в исследовании [40] хроническое облучение крыс на протяжении 30 суток в суммарной дозе 3.7 Гр не привело к изменениям в формировании условного рефлекса активного избегания (УРАИ) в челночной камере относительно контроля. Немногочисленные работы, касающиеся хронического облучения, рассмотрены далее по тексту.

В обзорной работе [41] автор рассматривает случаи, когда наряду с негативными были обнаружены нейтральные и позитивные последствия облучения мышей различных линий малыми дозами  $\gamma$ - и ионного облучения. Так, при комбинированном облучении мышей в дозе 0.24 Гр  $\gamma$  + 0.18 Гр  $^{12}\text{C}$  в работе [42] обнаруживается повышение исследовательской активности у мышей линии Tau P301S и улучшение в teste различения запахов у мышей линии 5xFAD. В работе [43] в результате воздействия ионов  $^{56}\text{Fe}$  в дозе 0.5 Гр самки мышей демонстрировали улучшение моторной памяти.

Приведенные данные свидетельствуют, по-видимому, о чрезвычайно сложной природе нарушений, вызываемых воздействием ионизирующего излучения различных типов и в различных режимах. К сожалению, результаты большинства работ не могут быть достоверно экстраполированы на нервную деятельность человека ввиду того, что в качестве модельных животных используются преимущественно мыши, а набор поведенческих тестов сильно ограничен и даже при использовании крыс наиболее сложные используемые тесты – лабиринты Барнса и Морриса – включают в себя тестирование способности к пространственной ориентации и, в меньшей степени, способности к обучению (т.н. логическая задача по Крушинскому – уловить закономерности окружающего мира).

Существенный интерес представляют результаты, полученные коллективом под руководством И.И. Полетаевой. В работе [44] мыши, мотивируемые естественным стремлением попасть в более комфортный для них темный отсек, должны были решать две логические задачи – найти под слоем опилок лаз в этот и вынуть пробку, его закрывающую лаз. Мыши, подвергнутые облучению протонами в дозах от 1 до 4 Гр, достоверно лучше (чаще и за более короткое время) справлялись с удалением пробки, что авторы объясняют «некоторой активацией ЦНС мышей, вызванной облучением»; в то же время, облученные животные отказывались копать стружку и, соответственно, в тех случаях, когда лаз был закрыт стружкой, справлялись с задачей хуже контроля. Авторы не дают объяснения этому феномену, однако по результатам дополнительного теста заключают, что облученным животным неприятен сам акт копания и выдвигают предположение о нарушении обоняния (что в известной мере согласуется с тем, что в [42] также затронуто обоняние). Поскольку радиационная биология не является приоритетом коллектива, данная работа не получила продолжения, хотя очевидным образом подтверждает сложный характер нарушений, при исследовании которого, очевидно, следует разделять когнитивную, эмоциональную и, вероятно, сенсорную (в случае с обонянием) составляющие поведения.

В свете изложенного логичен вывод, что исследования должны включать в себя широкий спектр тестов, по возможности задействующих различные отделы и функции мозга, в частности, кратко- и долгосрочную память, выработку рефлекса, в том числе дифференцировочного, т.е. быть максимально приближенными к реальности.

Тот факт, что различные поведенческие реакции – а следовательно, и различные методики тестирования – имеют различную чувствительность по отношению к поглощенной дозе ИИ - отмечен еще в 1967 году в обзорно-аналитической статье [45]. Хотя статья рассматривает сравнительно высокие (60 – 2000 рад, т.е. 0.6 – 20 Гр) дозы гамма- и рентгеновского излучения, ключевые выводы вполне актуальны и в современных реалиях: зоопсихологические (лабиринтные) и условно-рефлекторные методики дают различные результаты как с точки зрения минимальной дозы, при которой обнаружаются нарушения, так и

с точки зрения характера и продолжительности самих нарушений. Авторы также отмечают, что «...нарушения лабиринтных навыков легче компенсируются...», а «...сопоставление результатов исследований, выполненных обоими указанными методами, позволяет выявить как наиболее повреждаемые радиацией функции высших отделов центральной нервной системы, так и компенсационные возможности». Это хорошо соотносится с тем фактом, что все данные о нарушениях на интегративном уровне при воздействии малых доз [29], [30], [8] и др.) получены именно лабиринтными методами; условнорефлекторные методики у зарубежных авторов применяются довольно редко и аналогичных данных по ним нет. В плане данной работы эти факты однозначно указывают на необходимость применения комплексной батареи тестов, включающей методики обоих типов.

Наибольшую значимость приобретают исследования, проводимые на приматах. С одной стороны, даже низшие приматы могут выполнять сложные когнитивные тесты с решением логических задач, развитой исполнительной функцией и обучением; с другой стороны, физиологическая близость приматов к человеку в части моторных навыков, гормональной и нейромедиаторной систем – и в целом строения мозга – позволяют с достаточной уверенностью экстраполировать полученные данные на человека. В работах, проводимых на кафедре высшей нервной деятельности МГУ под руководством А.В. Латанова, используется относительно простой поведенческий тест для макак-резусов, в котором обезьяна должна реагировать на появляющееся на экране изображение-стимул нажатием рычага [46]. Одновременно с тестом отслеживается зрительно-моторная активность животного: регистрируется время и количество саккадных движений глаз, которые требуются для «захвата» цели. Эти показатели примечательны тем, что, безусловно являясь одной из важнейших составляющих ВНД, они не контролируются сознанием и, соответственно, несут непосредственную информацию о работе и состоянии головного мозга, а не организма в целом, как в случае с грызунами. В работе [17] облучение всего мозга обезьяны протонами «напролет» в дозе 3 Гр приводило к кратковременному снижению эффективности инструментальной деятельности, наблюдавшемуся спустя два месяца после воздействия и впоследствии успешно компенсированному

вследствие восстановительных процессов. Авторы отмечают, однако, что «радиационное воздействие протонами устраниет преимущество правой руки в инструментальной деятельности, что, вероятно, является следствием необратимой дисфункции мозговых механизмов координации глаз—рука». В последующей работе [47] установлено, что вследствие облучения протонами у животных возрастают латентные периоды как саккад, так и собственно моторных реакций, причем животное, у которого была облучена только теменная кора, демонстрировало более выраженные нарушения, нежели те, у которых облучен весь мозг. В целом, тем не менее, зрительно-моторный рефлекс сохраняется и упрочивается, что, по мнению авторов, «свидетельствует об устойчивости системных механизмов условнорефлекторной деятельности к радиационному воздействию протонами». Аналогичный результат – увеличение латентных периодов саккад на уровне тенденций при сохранении доли успешных реакций на уровне 90-95% – получен в работе [49] в результате облучения тех же самых животных ионами  $^{12}\text{C}$  400 МэВ/н в дозе 2 Гр. В исследовании [50] схожие данные были получены на крысах, подвергнутых облучению протонами 170 МэВ в дозе 5 Гр: число «неверных» поворотов головы после облучения выросло статистически незначимо, однако по прошествии 90 дней разница между контрольной и опытной группами увеличилась.

Методика работы с приматами, принятая в ИМБП, ближе подходит к понятию операторской деятельности: в серии поведенческих тестов возрастающей сложности животное вначале должно управлять курсором при помощи джойстика, затем перехватывать курсором движущийся объект, далее задача усложняется появлением препятствий и, соответственно, необходимостью одновременно с инструментальной деятельностью осуществлять предсказание траектории объекта. В работе [48] показано, что, хотя при облучении головного мозга протонами в дозе 3 Гр процент успешно выполненных тестов не снижается и даже несколько возрастает, после облучения мозга ионами углерода с энергией 160 МэВ/н в дозе 1 Гр у двух из трех подопытных животных результат значительно снизился. В данном случае ключевую роль играет тип ВНД животного: обезьяна с сильным уравновешенным типом ВНД оказалась устойчивой к модельным воздействиям,

тогда как животные со слабой пластичностью нервных процессов демонстрировали нарушение когнитивных (по выводу авторов) процессов. Сопоставляя результаты воздействия ионов углерода в работах [49] и [48] можно предположить, что полученная разница обусловлена либо тем фактом, что в эксперименте [49] все три животных принадлежали к сильному уравновешенному типу (поскольку тип ВНД в этой работе не анализировался и животные по нему не подбирались), либо различием в тестах: более комплексный тест операторской активности действует дополнительные, по сравнению с тестом глазодвигательной активности, области мозга и механизмы ВНД и именно в них выявляются нарушения. В обоих случаях разница в результатах, полученных при практически одинаковом воздействии на аналогичных животных, указывает на ключевую роль эмоционально-мотивационных механизмов ВНД в ответе организма на ионное облучение.

Существенная роль индивидуальных типологических характеристик ВНД была выявлена также в ходе эксперимента, проводившегося в Институте экспериментальной патологии и терапии на павианах [51], в ходе которого также показано угнетение условнорефлекторной деятельности под воздействием хронического рентгеновского облучения, особенно ярко проявившееся при переделке сигнального значения условного раздражителя.

Следует упомянуть также работу [52], выполненную в ИМБП по схожей с [48] методике, но посвященную влиянию модельной гипогравитации (водной иммерсии) на операторскую активность. В этой работе исследовались также электроэнцефалографические показатели активности различных отделов головного мозга. Установлено, что, хотя в целом результативность работы обезьян мало страдает в результате воздействия модельной гипогравитации, отсутствие сенсорного входа вестибулярной системы снижает точность мануальных реакций и отражается на электрической активности ряда областей головного мозга.

### **1.3 Радиочувствительность как отражение общей неспецифической реактивности организма**

Рассмотрение понятий радиочувствительности, понимаемой как способность реагировать достоверно обнаруживаемыми изменениями на сравнительно низкие дозы облучения, и радиорезистентности, понимаемой как способность сохранять свои функции при воздействии сравнительно высоких доз, в особенности применительно к ЦНС, обладающей весьма высокими и радиочувствительностью, и – одновременно – радиорезистентностью, следует вести, прежде всего, в контексте общей неспецифической реактивности организма [53]. За исключением очень узких ареалов обитания, в которых на уровне экосистем различным путем – естественным отбором при высоких дозах, адаптацией – при низких – сформировались подвиды со специфической радиорезистентностью [54], биологическая эволюция на Земле практически не сталкивалась с влиянием ионизирующего излучения в отличном от сравнительно равномерного фонового излучения виде. Соответственно, радиационное воздействие на уровне организма вызывает генерализованную реакцию, аналогичную реакции на стресс-подобные состояния – общий адаптационный синдром. В частности, в работе [55] отдаленным (спустя месяц и три месяца) последствием фракционированного облучения крыс в дозе 2 Гр являлось повышение неспецифического фагоцитарного звена иммунитета – рост числа фагоцитов практически вдвое, наблюдавшийся также спустя три месяца после воздействия. В работе [56] мышам линии SHK, облученным в дозе 6 Гр, проводили транспланацию клеток тимуса необлученных мышей, что позволило добиться 40% выживаемости животных на 30-й день эксперимента при том, что в контрольной группе все животные погибли к 13 дню эксперимента. Таким образом, по мнению авторов, доказана ключевая роль иммунокомпетентных клеток в ответе организма на радиационное поражение.

В ИМБП под руководством Ю.Г. Григорьева был проведен большой цикл исследований на собаках, посвященный изучению последствий хронического воздействия гамма-излучения на уровне как отдельных органов, так и на интегральном [57], [58]. В результате серии экспериментов, поставленных в ИМБП

в 1990-е годы, был разработан так называемый обобщенный логарифмический показатель, численно характеризующий состояние (от нормального к перенапряженному) систем организма и позволяющий делать прогноз относительно состояния и ожидаемой продолжительности жизни индивида [59]. В частности, показано, что при хроническом облучении перенапряжение систем организма происходит медленнее (эффект наблюдается при более высокой дозе) вследствие адаптационных процессов. Тем не менее, воздействие гамма-облучения помимо риска стохастических последствий, таких как онко- и катарактогенез, приводит к ускоренному старению организма. С точки зрения ЦНС постоянное воздействие как отдельно ИИ, так и комплекса факторов ведет к повышению риска астенизации [53], что, в свою очередь, может привести к нарушению работоспособности экипажа. В работе [60] показано, что при хроническом облучении уровень цепного условного рефлекса у облученных собак лишь к 6 месяцу эксперимента достигает уровня контроля, что свидетельствует, с одной стороны, о масштабном угнетении, а с другой – об эффективности репарационных процессов в ЦНС [57-59].

Другая работа, посвященная исследованию нейробиологических последствий хронического облучения павианов, также свидетельствует как об угнетении нервной деятельности, так и об общей астенизации организма, указывая на те же механизмы реакции при хроническом облучении [51].

На уровне тканей краткосрочные последствия радиационного поражения принято ассоциировать с воспалительными процессами [61], индуцированными, в свою очередь, на клеточном уровне высвобождением поврежденных фрагментов ДНК, АТФ и белков, которые запускают экспрессию провоспалительных генов и синтез цитокинов [62], то есть реакцию иммунной системы [63].

К сожалению, большинство исследований, посвященных неспециальному ответу организма на радиационное поражение, рассматривают как поражающий фактор именно гамма-излучение. Это связано, прежде всего, с размером ионного пучка, в котором могут быть размещены животные не крупнее мыши. Хотя в работах [59], [46] и ряде других делается попытка учсть воздействие нейтронного и ионного облучения, эта попытка опирается не столько на экспериментальные

исследования реальных воздействий, сколько на математическую модель, базирующуюся, в свою очередь, на коэффициенте ОБЭ, который, как далее будет рассмотрено, может, в зависимости от ряда факторов, принимать очень широкий диапазон значений.

Хотя в целом не вызывает сомнения, что характер неспецифического ответа организма на ионное воздействие должен быть аналогичен таковому для гамма-облучения, детальных данных об изменениях в иммунной системе и течении адаптационного синдрома для этого случая в литературе не приводится. В работе [64] мыши были подвергнуты облучению всего тела ионами  $^{56}\text{Fe}$ , однако исследуются, помимо когнитивных параметров, только воспалительные процессы в головном мозге; работа [64] рассматривает ответ иммунной системы на уровне молекулярно-биологических процессов в костном мозге мышей, облученных ионами  $^{12}\text{C}$  с энергией 80 МэВ/н в дозе 2 Гр. Установлено, что существенно меняются уровни экспрессии генов, связанных с онкологическими процессами, в частности, уровни *Fosb* (ген остеосаркомы мыши) и *Jun* (прото-онкоген, связанный также с синтезом цитокинов) возрастают на 10% и 5% соответственно, что является в известной мере подтверждением тезиса об активации иммунной системы, однако не дает достаточной информации об общей картине процесса. Исследование [65] посвящено сравнению облучения с различной локализацией – при условии экранирования головы, туловища, либо без экранирования, – однако рассматривает только когнитивные показатели; хотя и делается вывод о том, что облучение животного целиком имеет более выраженные последствия, результаты сильно колеблются в зависимости от использованного теста и дозы (0.01, 0.05, 0.1 и 0.25 Гр  $^{16}\text{O}$ ), что в целом указывает, опять же, на сложную природу реакции ЦНС и организма в целом.

Согласно [53], «реакция центральной нервной системы на облучение в малых дозах сводится, главным образом, к усилинию генерализованного возбуждения и заметному ослаблению внутреннего торможения», что хорошо сочетается как с данными, полученными в работе [63], так и с многочисленными данными поведенческих тестов, указывающих на рост возбуждения, в ряде случаев приводящий даже к улучшению тестовых показателей как у приматов [48], так и у

грызунов [42], [44]. Стимулирующий эффект гамма-облучения, наблюдаемый спустя небольшое время (десятки часов) после облучения и иногда называемый «радиационным гормезисом» [66] хорошо известен, причем в первую очередь по наблюдениям на людях – участниках радиационных испытаний и аварий [67], однако до сих пор не имеет исчерпывающего объяснения. В работе [68] описывается предполагаемый механизм активизации иммунной системы организма в рамках одного из первых этапов «циклического» ответа на облучение. Такая гипотеза, целиком укладывающаяся в рамки общепринятых понятий о стадиях адаптации, выглядит наиболее приемлемой, однако более существенный интерес представляет вопрос о наличии (и временных параметрах) либо отсутствии «стимулирующего эффекта» у хронического и, особенно, ионного и комбинированного воздействия. Данный вопрос к настоящему времени не получил освещения в литературе и потому вынужденно входит в перечень подлежащих изучению в рамках данной работы.

#### **1.4 Радиочувствительность ключевых структур мозга**

Исторически наиболее уязвимой для ионизирующего облучения структурой мозга считался гиппокамп: во-первых, в силу его ключевой и хорошо изученной роли во многих когнитивных процессах, в особенности – в работе кратко- и долгосрочной памяти; во-вторых, в силу того, что гиппокамп является областью взрослого нейрогенеза [69] и, как следствие, подпадает под действие правила Бергонье-Трибондо. Сообразно этому, значительная доля исследований, посвященных радиационным поражениям ЦНС, была сосредоточена на изучении эффектов в гиппокампе, в частности, поведения, связанного с ориентированием в пространстве, называемого «гиппокамп-зависимым»: поиск платформы в лабиринте Морриса [1], [70], незакрытого отверстия в лабиринте Барнс [71], [8]. В результате этих работ было обнаружено, что, во-первых, нарушения возникают при крайне малых ( $0.2$  Гр  $^{56}\text{Fe}$  в [8] и  $0.05$  Гр  $^{48}\text{Ti}$  в [71]) воздействиях, а во-вторых – имеют длительные (3 месяца минимум в [8], если не необратимые последствия. Тесты, основанные на методике распознавания нового объекта [72], [73] также

указывают на длительные и значительные нарушения, однако результаты измерения в [72] уровней тринитротиозина в качестве маркера перекисного окисления липидов, равно как и попытки применения альфа-липоевой кислоты для компенсации нарушений, опровергли гипотезу, предполагавшую основным источником таковых оксидативный стресс. Целый ряд независимых исследований [44], [42], [65], [72] и другие) указывает на то, что степень и даже направление (улучшение либо ухудшение) обнаруживаемых в результате одного и того же воздействия нарушений на интегративном уровне сильно зависят от используемого теста, а на нейрохимическом – от комплекса измеряемых параметров и гипотезы, в рамках которой они трактуются. Очевидно, упрощенная модель, опирающаяся на предположения о том, что когнитивные способности привязаны к определенному отделу мозга – в частности, гиппокампу – плохо объясняет механизмы воздействия корпукулярного облучения. Более того, хотя гиппокамп считался наиболее радиационно-увязанным отделом – в то время как кора головного мозга, напротив, по [25] считалась радиационно-стойкой – со значительной вероятностью следует вести речь о комплексном поражении мозга, которое затрагивает все его структуры.

Согласно [74], исполнительные функции являются «метакогнитивным» процессом и требуют совместно передачи, обработки и хранения информации посредством нейронных сетей, включающих в себя одновременно несколько отделов мозга; в частности, из психологии известно, что в переключение между задачами у человека вовлечено по меньшей мере 11 отделов мозга [75]. В работах [76] и [87] описаны три ключевых нейронных сети, выявленных электроэнцефалографическим путем у пациентов, решавших задачи распознавания и навигации – «центральная исполнительная сеть» (Central Executive Network, CEN), «социально-основная» (Default Mode Network, DMN) и «эмоциональная» (Salience and Emotion Network, SEN). Логично предположить, что по мере роста сложности решаемой задачи растет и масштаб фрагмента задействованной нейронной сети (либо сетей, если, скажем, задача требует эмоциональной реакции наряду с исполнительной функцией, как в [48], а с ним – и число отделов мозга. Это объясняет существенную разницу между результатами «простых» поведенческих

тестов, опирающихся на малое количество функций, но также делает очевидной необходимость использования более сложных тестов.

В статье [37] выдвигается предположение, что основным механизмом нарушений, вызываемых космической радиацией, является снижение связности или рассогласование между вышеописанными тремя сетями. Работа [70] подтверждает эту гипотезу: воздействие ионов  ${}^4\text{He}$  энергией 400МэВ/н в дозе 0.05 и 0.3 Гр вызывало у мышей C57BL/6 выявляемое иммунохимическим методом поражение периренальной коры (PRC), схожее с воспалительным процессом и ведущее к утрате связей между корой и гиппокампом. Учитывая ключевую роль префронтальной коры в целом и ее регионов – PRC, PHC, RSC, в частности – в обработке информации и реализации исполнительной функции [78] можно заключить, что не только кора, ранее считавшаяся радиационно-стойкой, на самом деле чрезвычайно чувствительна, но и весь мозг следует считать единым радиационно-чувствительным органом.

## **1.5 Механизмы воздействия ионизирующих излучений на ЦНС**

Изложенный в [37] современный взгляд на функционирование мозга и механизм нарушений, опирающийся на нейросетевую концепцию, дополняет, но ни в коем случае не опровергает представлений о роли отделов древнего мозга и нейрохимическом регулировании в том числе и процессов передачи сигнала между нейронами. Вышеупомянутые нейронные сети, являющиеся в значительной мере атрибутом отделов нового мозга, наиболее развитых у высших животных, и, в первую очередь, приматов, можно рассматривать как верхний уровень организации, а химический – как нижележащий «аппаратный», обеспечивающий работу нейросетевого. В работе [79] достаточно подробно рассмотрена сложная функциональная структура целенаправленного поведения и переход от интегративного к молекулярному уровню. Обзорная статья [80] в известной мере продолжает [79] и рассматривает на различных уровнях механизмы нарушений, возникающих в нервной системе. В качестве первичного механизма на молекулярном уровне рассматривается нарушение функциональности нейронов

под воздействием частиц с высокой линейной передачей энергии (ЛПЭ), вызывающих локальный радиолиз и, как следствие, разрушение либо дисфункцию дендритов. По результатам компьютерного моделирования в [81] определено, что, во-первых, морфология нейронов является фактором, приводящим к выделению в теле клетки значительной энергии при взаимодействии с частицей, а во-вторых – именно тяжелые ионы, начиная с  $Z=20$  (хотя на практике эффект наблюдается уже с ионами  $^{12}\text{C}$ ) имеют ЛПЭ, достаточную для того, чтобы выделить в объеме клетки критический объем энергии, сопоставимый с энергией разрыва химических связей (единицы эВ). Это может объяснить упомянутый ранее факт крайне низких пороговых доз именно корпускулярного, тяжелоионного воздействия: если в случае с гамма-квантами и даже протонами требуется воздействие, причем в ограниченный временной интервал, сразу нескольких частиц, то в случае с ионами  $^{56}\text{Fe}$  или  $^{48}\text{Ti}$ , исследованными в [71], [72] и схожих работах, единичная частица способна повредить сразу множество клеток в объеме своего трека. Данная гипотеза, однако, не объясняет того, что в [38] хроническое гамма-облучение в сравнительно низкой (0.9 Гр) дозе вызывало более сильное угнетение.

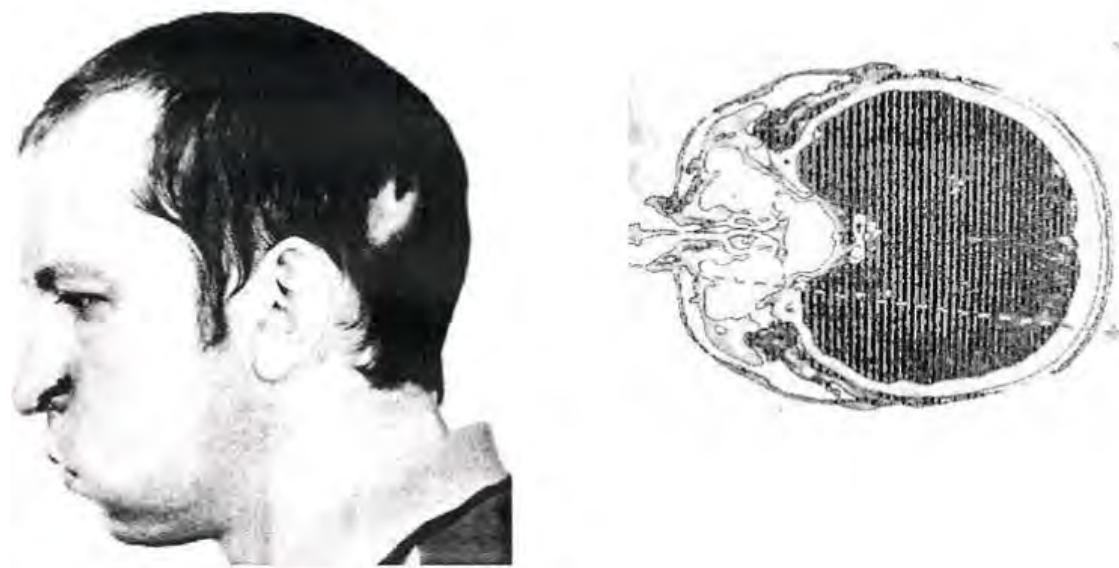
Несмотря на то, что работа [80] ссылается на работу [82], в которой рассматривается противоположное изменение активности захвата глутамата нейронами и астроцитами в смешанной культуре клеток (после облучения ионами  $^{12}\text{C}$  либо  $^{56}\text{Fe}$  захват глутамата нейронами растет, а астроцитами – снижается), основной причиной нарушений авторы считают все же дисфункцию (но не уменьшение числа) нейронов. Р. Бриттен в [37] рассматривает вопрос более подробно и приходит к заключению, что, хотя нарушение функциональности нейронов под воздействием космического излучения очевидно, предположение о том, что нейрон является ключевой мишенью радиационно-индукционных повреждений, не совсем точно. Основанием для такого суждения служит тот факт, что во взрослом мозге как астроциты, так и клетки микроглии тесно связаны с нейронами и непосредственно модулируют их возбуждение, тем самым поддерживая уровень синаптического трафика [83], [84]. Более того, работа [85], развивая идеи [82], описывает «тройственный синапс», состоящий из реципрокно взаимодействующих астроцита и двух нейронов, в котором, согласно более

поздним исследованиям [86] и [87] астроцит играет роль не только энергетического ядра, но также выполняет ключевую функцию модулирования процессов возбуждения и торможения. Соответственно, радиационное поражение астроцитов, хотя бы и ни один нейрон не был прямо затронут воздействием иона, неизбежно должно сказаться на синаптическом трафике и нервных процессах в целом. Еще одной мишенью на клеточном уровне должны, по-видимому, являться олигодендроциты, основными функциями которых являются создание миелиновой оболочки аксона, производство глиального (GDNF) и мозгового (BDNF) нейротрофических факторов – белков, обеспечивающих поддержку развития нейронов, а также метаболическая поддержка нейронов – транспортировка солей пировиноградной и молочной кислот [88]. Известное явление утраты миелиновых оболочек, равно как и аксонов вследствие этого [89], служит веским доказательством поражения олигодендроцитов. Следующее за нарушением миелиновой оболочки падение скорости передачи импульса по пораженному волокну неизбежно приводит к рассинхронизации нейронных сетей и сбою обработки информации в целом: согласно [69], передача нервного импульса по волокну в миелиновой оболочке происходит на два порядка быстрее (50 м/с; величина задержки порядка 0.5 мс), нежели по немиелинизированному; такие волокна относятся к медиаторным синаптическим системам, а немиелинизированные (скорость передачи 0.5 м/с; величина задержки 200..800 мс) – к модуляторным. Следует отметить, что в отношении явления разрушения дендритов как одного из аспектов радиационного поражения статья [37] выражает солидарное с [80] – хотя, по всей видимости, независимое – мнение. Очевидно, что вопрос синаптического трафика требует отдельного исследования – ему посвящена глава 3.

Хотя молекулярные механизмы воздействия ионизирующего излучения активно изучаются и достаточно подробно описаны – вплоть до компьютерного моделирования поражения различных типов клеток посредством надстройки Geant-DNA над известным физическим пакетом Geant [90] – на более высоком, нейрохимическом, уровне вопрос исследован значительно менее подробно: достаточно сказать, что статья [37], во многом определяющая парадигму

исследований в области, вообще не затрагивает нейрохимический уровень. Ведущая роль в исследованиях этого аспекта принадлежит совместному коллектиvu ИМБП РАН, ИВНД РАН и Института фармакологии РАН под руководством А.С. Штемберга и А.С. Базяна, в работах которого [91], [92], [93], [94] рассматриваются нейрохимические и поведенческие эффекты, наблюдаемые в различные (от 1 до 90 дней) промежутки времени после облучения грызунов протонами либо ионами  $^{12}\text{C}$  и исследуются нейрохимические механизмы реакции организма на облучение, которая выражается в значительном падении результатов в тестах сразу после облучения и постепенном, но не окончательном на указанных промежутках, восстановлении. Ключевым аргументом в пользу определяющей роли процессов, происходящих именно на нейрохимическом уровне, является тот факт, что радиационно-индуцированные повреждения клеток мозга – будь то нарушение дендритного дерева, утрата миелиновой оболочки аксона или двойные разрывы ядерной ДНК – не могут быть полноценно исправлены на клеточном же уровне [95], [80] и ведут если не к апоптозу, то к исключению нейрона из работы. Веским аргументом в пользу того, что компенсация повреждений происходит на более высоких уровнях, являются работы Н.И. Верещак [96], [97], в которых показано восстановление функций мозга крыс после частичного удаления различными способами участков коры головного мозга, причем степень утраты функций зависела не от локализации участка, а от объема удаленной ткани [98]. Схожие эффекты наблюдались также на людях, получавших различные травмы головы, приводившие к повреждениям головного мозга. Наиболее ярким является описанный в [99] случай физика А.П. Бугорского, получившего в результате несчастного случая облучение узким (2x3мм) пучком протонов высокой энергии в дозе 2000 Гр. Несмотря на то, что пучок, траектория которого показана на рисунке 1.1, поразил ряд областей мозга, пострадавший остался в сознании, смог завершить работу и после прохождения курса лечения от последствий лучевой болезни полностью сохранил когнитивные способности и вернулся к работе. Это свидетельствует о том, что на уровне организма имеются значительные резервы и механизмы, позволяющие ЦНС компенсировать поражения и функционировать в том числе при утрате существенной части синапсов. Предположительно, чем более

распределено поражение в пространстве и времени, тем сильнее действуются эти компенсационные механизмы. Напротив, точечное поражение определенного отдела мозга с узкой функцией – например, обонятельной луковицы – может приводить к значительным проявлениям на интегративном уровне, как в [29].



*Рисунок 1.1 – Поражение головы пучком протонов в дозе 2000 Гр.*

Приведенные данные позволяют сделать предположение о том, что воздействие на ЦНС различных видов ИИ имеет различные механизмы и в некоторой мере даже реализуется на различных уровнях организма: в то время как воздействие квантовых форм излучения хорошо описываются моделью передачи энергии на уровне клеток, эффект воздействия высокоэнергетических ионов реализуется на более высоких уровнях – ткани, органа и организма. Как следствие, результат комбинированного воздействия двух видов излучения не сводится к простому суммированию последствий.

## **1.6 Роль нейрогенеза в нейробиологических эффектах ИИ**

С момента обнаружения взрослого нейрогенеза в зубчатой фасции гиппокампа в 1963 году [100], научное воззрение претерпело несколько

значительных этапов: после длительного периода игнорирования ранних работ Дж. Альтмана интерес к исследованиям был возрожден статьей [101], после чего была показана значимость и исследованы процессы нейрогенеза у грызунов. В работе [102] роль взрослого нейрогенеза у человека оценивается как чрезвычайно важная: согласно заключению авторов, ежегодно новые нейроны, порожденные в гиппокампе взрослого человека, замещают 1.75% нейронов гиппокампа; также замещению подвергаются приблизительно 3.5% не-нейронных клеток гиппокампа. Такое соотношение 2:1 также приводится в работе [103] и хорошо соотносится с описанной в [85] концепцией «тройственного синапса», состоящего из одного нейрона и двух астроцитов. Более поздние работы – в частности, [104] и [105] – оценивают объем взрослого нейрогенеза у человека как пренебрежимо малый, делающий само явление практически незначимым. В целом можно констатировать, что ни масштабы, ни роль взрослого нейрогенеза у человека в настоящее время достоверно не установлены. Наиболее релевантной следует считать, по-видимому, работу [106], которая исследует нарушения зрительной памяти у пациентов, подвергшихся стереотаксической онкотерапии гамма-лучами в дозе 54 Гр (30 сеансов по 1.8 Гр в течение дня). После воздействия пациенты демонстрировали ухудшение способности к распознаванию и запоминанию предъявляемых изображений, причем динамика зависела от того, какая часть гиппокампа была затронута побочным эффектом при облучении опухоли: при повреждении правой стороны гиппокампа нарушения обнаруживались сразу же после облучения, но проходили в течение года, тогда как при повреждении левой стороны нарушения обнаруживались лишь спустя полгода и в дальнейшем усугублялись. Авторы, хотя и не приводят однозначных доказательств, ассоциируют наблюдаемые когнитивные нарушения с угнетением нейрогенеза в гиппокампе, происходящим вследствие гамма-облучения, как показано в [107].

Процесс нейрогенеза у грызунов в силу объективных причин – в первую очередь, возможности исследовать пробы мозговой ткани – изучен значительно лучше. В частности, в ряде источников показано угнетение нейрогенеза: [107], [108], [14], [16], [109] и другие, более ранние, работы указывают на схожие процессы в гиппокампе в результате воздействия различных видов ионизирующего

излучения. При этом часть работ – [107], [109] – напрямую связывает ухудшение когнитивных показателей с нарушением нейрогенеза, тогда как другие – [108], [14] – не находят связи между этими явлениями. В работах [110] и [111] делается вывод о том, что в некоторых когнитивных тестах, в частности, при поиске еды в восьмирукавном лабиринте, рукава которого помечены различными, но схожими символами, угнетение нейрогенеза может приводить к улучшению показателей за счет эффекта «сужения внимания». Учитывая полученные в [106] данные, можно предположить также, что различные результаты на грызунах получаются в силу неоднородного/неравномерного облучения зоны гиппокампа, которая является, наряду с обонятельными луковицами, одной из ключевых зон нейрогенеза.

Учитывая тот факт, что нет никаких данных о нейрогенезе в коре головного мозга или о миграции новых нейронов в кору – при том, что именно кора является наиболее значимым отделом нового мозга у приматов, можно предположить, что для низших млекопитающих, опирающихся в своем поведении в большей мере на инстинкты, взрослый нейрогенез играет значительно более важную роль, нежели для приматов и тем более человека, в деятельности которых приоритетное место занимают приобретение и сохранение опыта и знаний. Поскольку приоритетной задачей радиационной биологии – и данной работы в частности – является обеспечение безопасности именно людей, взрослый нейрогенез следует, по-видимому, рассматривать как хотя и важный, но все же вспомогательный механизм.

## **1.7 Эффективные дозы разных видов ИИ по нейробиологическим критериям**

Понятие относительной биологической эффективности (ОБЭ) различных видов излучения исторически является одним из ключевых в целом ряде наук, касающихся ионизирующих излучений. Колossalная практическая значимость коэффициентов ОБЭ для ядерной энергетики, военных применений и нормирования доз низкоорбитальных полетов хорошо описана в целом ряде источников – от учебников [112] до методических пособий [113].

В классическом понимании термина рассматривается поражение на клеточном уровне и считается, что ОБЭ зависит практически только от линейной

передачи энергии (ЛПЭ), по крайней мере, до тех пор, пока ЛПЭ не превысит некоторое пороговое значение, выше которого гибель клетки наступает гарантированно [112], [80]. Практическое определение конкретных значений ОБЭ, соответственно, производится путем облучения клеточной культуры [114], [115]. Такая методика хорошо себя зарекомендовала при работе с острыми дозами, близкими к пороговым для летального эффекта или лучевой болезни. Уже при необходимости более точных оценок, в частности, для нужд онкотерапии, как отмечается в [116], «величина ОБЭ сложным образом зависит от типа и энергии частиц, вида облучаемой биологической модели и наблюданного эффекта, и многих других факторов». В частности, в той же работе ОБЭ одного пучка протонов оценивается на входе в мишень величиной 1.07, а на выходе – 1.21, что дает разницу 10%; в большинстве практических применений ОБЭ протонов принимается равной 1.1. При работе с более тяжелыми ионами разброс значений значительно больше – например, в [117] ОБЭ ионов углерода оценивается величинами от 1.5 до 5, что, по заключению автора, требует введения понятия «плавающей ОБЭ».

Практическая оценка ОБЭ традиционно производится по критерию выживаемости, путем определения доз ЛД50/30 (доза, при которой 50% облученной популяции погибнет в течение 30 дней) для различных видов ИИ. В нейробиологических исследованиях, подразумевающих обычно дозы кратно меньшие, нежели ЛД50, более практическим представляется использование термина «эффективная доза» (ЭфД), т.е. такая доза исследуемого излучения, при которой эффекты (в нашем случае – нейробиологические) будут эквивалентны эффектам, получаемым при гамма-облучении в заданной дозе. Однако, как будет показано далее в работе, эффекты различных видов ИИ могут кардинально различаться по своей сути, в силу чего понятие ЭфД также достаточно узкоспецифично.

Поскольку выше было показано, что механизм возникновения когнитивных нарушений под воздействием различных видов облучения – и, тем более, восстановительной реакции организма на это воздействие – лежит не только и не столько на клеточном, сколько на более высоких уровнях, целесообразно оценку ОБЭ производить также на уровне ткани либо организма.

Одна из первых оценок для ионов кислорода с энергией 250 МэВ/н была дана в [118]. По критерию повреждения сетчатки у макак-резусов значение ОБЭ было оценено как «более 10». Более поздняя оценка ОБЭ ионов  $^{56}\text{Fe}$  величиной «порядка 50», данная в [20] по критерию нарушения пространственной памяти у крыс Wistar при облучении в малых дозах, согласуется как с [118], так и с теоретическими оценками на основе ЛПЭ. Однако в том же году в работе [119] ОБЭ ионов  $^{56}\text{Fe}$  по критерию ЛД 50 для мышей C57BL определена как 1.25.

В работе [120] проведены оценки ионов  $^{28}\text{Si}$  (300 МэВ/н),  $^{56}\text{Fe}$  (600 МэВ/н) и протонов в дозах от 0.1 до 2 Гр по критерию частоты возникновения лейкемии и карциномы у мышей, причем количество животных исчислялось сотнями и позволяло получить достоверные значения. Установлено, что в дозах 1 и 2 Гр ОБЭ по критерию частоты вызванной лейкемии не превышает 1.2 (для  $^{28}\text{Si}$ ), а для  $^{56}\text{Fe}$  составляет 0.4. В то же время при малых дозах 0.1 и 0.2 Гр по критерию карциномы ОБЭ  $^{28}\text{Si}$  составила  $74 \pm 47$ , а  $^{56}\text{Fe} - 67 \pm 41$  соответственно. ОБЭ протонов во всех случаях оставалась равной  $1 \pm 0.3$ . Авторы делают вывод, что величина ОБЭ имеет очень крутую зависимость от дозы, что вполне подтверждает противоречивые на первый взгляд данные [20] и [119]. Аналогичная оценка ОБЭ ионов  $^{12}\text{C}$  по критерию выживаемости мышей получена также в работе [9]: для ионов с энергией 450 МэВ/н ОБЭ составляет 0.8, а в пике Брэгга (при энергии около 250 МэВ/н) – 1.5.

Столь значительный разброс коэффициента ОБЭ не позволяет использовать его для практических применений, за исключением наиболее общих случаев, когда иной подход невозможен [59]. По-видимому, именно этим обусловлено практически полное отсутствие исследований, в которых авторы пытались бы оценить ОБЭ по критерию когнитивных нарушений. Фактически, сколько-нибудь конкретные значения приводятся только в уже упомянутой работе [20] (ОБЭ  $^{56}\text{Fe}$  оценивается в 50) и в [121], где ОБЭ ионов  $^4\text{He}$  в дозах 0.01 – 0.1 Гр по критериям тревожности, пространственной памяти и выработки условного рефлекса у крыс оценена в 500. При таком разбросе величин можно говорить лишь о том, что ионное воздействие, как уже упоминалось ранее, способно вызывать когнитивные нарушения в очень малых дозах.

По контрасту, в исследованиях [48], [47] и [31], в которых обезьяны подвергались облучению протонами, ионами  $^{12}\text{C}$  и  $^{84}\text{Kr}$  в сравнительно высоких дозах (2-3 Гр) и при этом зафиксированы весьма умеренные нарушения, ОБЭ ионного облучения можно оценить величиной «не более 5» с учетом того, что ЛД50 для макак составляет порядка 10 Гр.

Приведенные данные указывают на то, что само понятие относительной биологической эффективности как некоторой скалярной величины слабо применимо к корпскулярным видам облучения из-за чрезвычайно широких границ и сложной зависимости изменения этой величины. Как следствие, единственным оправданным подходом представляется физическое моделирование ионного воздействия в дозах, по возможности приближенных к ожидаемым в реальном полете.

## **1.8 Нейробиологические эффекты невесомости**

Последствия пребывания в невесомости (условиях гипогравитации) хорошо изучены за более чем 60-летнюю историю пилотируемых полетов – в первую очередь в силу того, что таковые последствия носят ярко выраженный и критический характер и без разработки адекватных профилактических и терапевтических мер пилотируемая космонавтика была бы, скорее всего, невозможна [122]. На опыте экипажей космических кораблей и станций хорошо изучены негативные последствия длительного пребывания в условиях гипогравитации для костно-мышечной [123], [124], сердечной-сосудистой [125] и вестибулярной [126] систем как наиболее подверженных расстройству вследствие пребывания в невесомости. На основе этих данных разработаны комплексы мер, обеспечивающих эффективное сохранение работоспособности и здоровья экипажа и также послеполетное восстановление [127]. Достаточно хорошо изучены негативные последствия пребывания в невесомости для зрительной [128], пищеварительной, репродуктивной и других систем организма. Несмотря на значительный объем данных, полученных в ходе полетов, активно ведется также работа по наземному моделированию гипогравитационного фактора. Для человека

наиболее адекватным методом, хорошо валидированным с точки зрения соответствия полетным данным, является сухая иммерсия [129]. Использование данного метода позволяет вести разработки перспективных методик и технологий противодействия негативному влиянию гравитационного фактора [130]. Аналогичная методика применяется для моделирования гравитационного фактора на приматах [52], тогда как для грызунов общепринятой является методика антиортостатического вывешивания [131], в ходе которой возникает ряд побочных эффектов: животное неизбежно стрессируется вследствие воздействия на хвост, при длительных вывешиваниях воспаляются мочевыводящие пути, возникает побочная нагрузка на передние конечности и т.п. Как следствие, моделирование гипогравитации на грызунах уступает по качеству моделированию на человеке и применяется лишь в тех случаях, когда моделирование на человеке невозможно – в частности, при необходимости травматического взятия проб тканей [132].

В свете изложенного, данные о нейробиологических эффектах пребывания в невесомости можно разделить на три группы: собранные неинвазивными способами при работе с людьми, полученные в результате полетных экспериментов на животных и полученные в результате наземных экспериментов на животных.

Данные, собранные в ходе обследования экипажей и участников наземных экспериментов, указывают преимущественно на физиологические изменения: повышение внутричерепного давления [133], уменьшение ширины центральной борозды коры головного мозга [134], ряде других микроструктурных изменений, вызванных повышенным притоком жидкости к голове [135]. Вместе с тем результаты батареи когнитивно-психологических тестов указывают на то, что заметные изменения в высшей нервной деятельности космонавтов наблюдаются только в периоды адаптации, составляющие приблизительно по 2 недели после начала и завершения длительного полета [136]. Наблюдения за добровольцами, участвующими в эксперименте «сухой иммерсии» и имеющими ежедневную возможность в течение часа выполнять на компьютере повседневные задачи, указывают на отсутствие каких-либо изменений в шаблонах поведения и работы, скорости выполнения типовых задач.

Значительный интерес представляют данные, полученные в ходе полетных экспериментов на животных, в частности, в ходе миссий программы «Бион» [37], [138], [139], [140]. Результаты исследований, проведенных в ходе 6 полетов на 12 макаках-резусах, указывают на незначительное нарушение когнитивных функций в ходе полета: реагирование на периферические визуальные стимулы требовало больше времени, если реакция выражалась в движении руки, а действия, требовавшие нажатия педали ногой, не выполнялись в ходе полета, хотя не вызывали никаких затруднений ни до, ни после полета [141]. Использование в миссии Бион-11 более сложных поведенческих методик, включавших в себя базовые операции с джойстиком и курсором, позволило установить снижение как числа попыток, так и результативности выполнения теста в ходе полета [142]. Авторы склонны интерпретировать результат скорее как следствие стрессовых воздействий, нежели как результат пребывания в невесомости. Микроскопическое исследование вестибулярных ядер мозга обезьяны, скончавшейся в результате несчастного случая после 14-суточного полета на Бионе-11, позволило выявить умеренные структурные изменения, предположительно, снижающие эффективность работы вестибулярного аппарата [143].

Исследования, проводимые в наземных экспериментах, преимущественно на грызунах, позволяют, в отличие от прочих видов эксперимента, практически сразу оценивать эффекты воздействия на поведенческом уровне, а также забирать пробы мозга для исследований. В работе [144] исследовано изменение нейрогенеза в субгранулярной зоне зубчатой фасции гиппокампа под воздействием антиортостатического вывешивания (АнOB) продолжительностью 3, 7 и 14 дней. Показано падение интенсивности нейрогенеза (снижение числа пролиферирующих клеток) после 7 и более дней АнOB, а равно падение активности глутаматергической системы. Периодом адаптации к АнOB в данной работе авторы считают 3 суток. В исследовании [145] мыши и крысы, подвергнутые АнOB, демонстрировали повышение уровня тревожности, снижение исследовательской активности и, в целом, пластичности нервных процессов. В то же время проведенный анализ концентраций ключевых моноаминов (ДА, НА, СТ) не выявил значимых различий между группами. В более ранней работе [146] мыши C57Bl/6

подвергались АнOB как отдельно, так и в сочетании с вращением на центрифуге; установлено снижение исследовательской активности и рост числа ошибок в тесте Григоряна у группы «АнOB», причем группа «АнOB + центрифуга» показывала результаты, даже превосходящие контроль. Исследование концентраций нейромедиаторов и их метаболитов позволило сделать вывод о том, что в основе наблюдаемых эффектов лежит (гипер)активация серотонинергической системы в префронтальной коре и гипоталамусе, т.е. «эмоциогенных» структурах.

В уже упомянутой работе [52] макаки-резусы, подвергнутые сухой иммерсии, демонстрировали незначительное снижение результативности в тестах операторской деятельности, сопровождавшееся, как и в предыдущих случаях, умеренным общим угнетением, выразившимся в снижении числа попыток выполнения теста.

Приведенные данные позволяют заключить, что в целом нейробиологические эффекты гипогравитационного воздействия выражены достаточно слабо, проявляются на нейрохимическом и интегративном уровне и выражаются в общем угнетении. Заметно более сильная выраженность эффектов у грызунов обусловлена, вероятнее всего, стрессирующим воздействием самой модели, в частности, разобщением исходно социальных животных. Поскольку одним из выраженных эффектов воздействия ионизирующего излучения является возбуждение [153], обусловленное повышением активности ДА-ergicеской системы [94], а в то же время модельная гипогравитация имеет эффектом угнетение, выраженное в падении активности глутаматергической [144] и росте – серотонинергической [146] систем, потенциальный характер взаимодействия эффектов (более верным было бы назвать это эффектом сочетанного воздействия) может быть, в том числе, взаимно-компенсирующим либо следовать более сложным закономерностям, особенно если вести речь о различных типах облучения. Следует констатировать, что, хотя проблема гипогравитации сама по себе достаточно успешно решена на практическом уровне, вопрос последствий комбинированного воздействия остается совершенно неисследованным.

## 1.9 Комбинированные воздействия

Несмотря на то, что исследования различных комбинаций факторов космического полета ведутся с самого начала космонавтики, проблематике именно комбинированного воздействия посвящено сравнительно немного работ, абсолютное большинство которых не касаются вопроса дальнего космического полета. Существенный вклад в исследование проблематики комплексных воздействий, включающих в себя ионизирующие излучения, внесла команда сотрудников ИМБП под руководством Н.Н. Лившиц. Хотя технические возможности того времени не позволяли реализовывать ни ионное, ни хроническое комбинированное (ИИ+гипогравитационное) воздействия, в работе [147] показан антагонистический характер взаимодействия различных факторов, в частности, вибрационного и радиационного: животные, подвергнутые только одному из воздействий, демонстрировали увеличение латентного периода условного рефлекса относительно контроля, однако группа, получившая комбинированное воздействие, показывала ЛП достоверно и существенно (на 20%) ниже, нежели контроль. Таким образом, наиболее актуальный вопрос является одновременно и наименее исследованным, особенно *in vivo*. Хотя в ходе программы «Бион» проведено значительное число экспериментов на животных, в большинстве случаев рассматриваются узкие частные последствия на уровне отдельных тканей – апоптоз [148] и митоз [149] клеток костного мозга, морфологические изменения спинного мозга [150], изменения молекулярного уровня в мышечной ткани [151] и иммунной системе мышей [152]. Представленные данные практически не затрагивают нервную систему и тем более не дают возможности сформировать предположение о реакции организма на воздействия, соответствующие межпланетному полету.

В качестве примера, подтверждающего критическую важность исследования комплексных воздействий, можно привести работу [40], в которой изучено комбинированное воздействие гамма-излучения и низкоинтенсивного лазерного облучения головного мозга (НИЛИ). Хотя НИЛИ достаточно изучено само по себе, считается терапевтическим воздействием и применяется для нивелирования негативных последствий протонной онкотерапии, эксперимент на крысах

продемонстрировал сложную природу взаимодействия двух факторов: крысы, подвергнутые только гамма-облучению или только НИЛИ, выполняли тест УРАИ в челночной камере без значимых отличий от контроля. В то же время крысы, получившие гамма-облучение и «компенсирующую терапию» НИЛИ, демонстрировали значимое ухудшение результатов.

Очевидно, что для полноценного изучения и оценки последствий воздействия ФКП первоочередной задачей является создание адекватной и полноценной физической модели комплексного воздействия. Однако ввиду технической и организационной сложности до настоящего времени такая задача не была не только решена, но даже и сформулирована.

Одной из первых попыток формулирования концепции такой модели следует считать работу [5], которая получила развитие в ряде последующих работ коллектива и дала начало изучению комплексного воздействия двух факторов – гамма-излучения и гипогравитации (в частности, [153] и в конечном итоге легла в основу настоящей диссертации.

Зарубежные исследования представлены несколькими публикациями. В [18] исследовано действие на крыс линии WAG/Rij на интегративном и молекулярно-биологическом уровне комбинации 5-ионного облучения и АнОВ; к выраженным недостаткам работы относятся отсутствие в комплексном воздействии гамма-излучения и нерепрезентативная батарея поведенческих тестов: тест на когнитивные способности, хотя и очень сложен методически, не позволил выявить различий между контролем и опытом, а использованный тест вынужденного плавания дает ошибочные результаты на крысах, которые в ходе АнОВ могли получать травмы хвоста. Тем не менее, работа позволяет сделать значимый вывод о том, что характер взаимодействия моделюемых факторов является сложным, вплоть до взаимной компенсации эффектов, и, тем самым, подтверждает выводы [5]. Коллектив авторов развел идею в [6], исследовав комбинацию 25-дневного АнОВ и гамма-облучения в дозах 3, 8 и 10 Гр, проведенного на 5-е сутки АнОВ. К сожалению, набор поведенческих методик по-прежнему не включал в себя тестов с обучением: использовались приподнятый крестообразный лабиринт, тест ангедонии и открытое поле, позволяющие оценить эмоциональную, но не

когнитивную составляющую поведения. Проведен также обширный анализ биомаркеров (фенилаланин, триптофан, тирозин и пр. – всего 101 маркер) в периферической крови с целью установления возможного соответствия между одним из маркеров и изменений в поведении. Работа носила промежуточный характер и по сути не предлагает завершенных выводов.

Работа [154], также выполненная на базе Брукхэвенской лаборатории, исследует комбинированное воздействие на мышей 25-суточного изоляционного стресса (социальная изоляция, СИ), сочетанного с 17-дневным АнОВ и острым 5-ионным (как и в предыдущих работах – протоны 1000МэВ, протоны 250МэВ,  $^{28}\text{Si}$  600 МэВ/н,  $^4\text{He}$  250 МэВ/н,  $^{16}\text{O}$  350 МэВ/н и  $^{56}\text{Fe}$  600 МэВ/н) в дозе 0.5 Гр на 7-е сутки АнОВ. Поведенческие тесты включали в себя 8-рукавный водный лабиринт, тест социализации, открытое поле и распознавание нового объекта, также проведен анализ концентрации моноцитов в крови. Группы животных включают в себя 6 возможных вариантов сочетания воздействий: облученный и не облученный контроль, облучение + СИ, только СИ, СИ + АнОВ, СИ + АнОВ + облучение. Также принимался во внимание пол животных. В результате обнаружен ряд корреляций между изменениями уровня моноцитов в крови (рассматриваемых как биомаркер) и изменениями поведения под воздействием СИ, АнОВ и облучения. Как и ранее, обнаружен сложный характер взаимодействия модельных факторов: например, животные, подвергнутые только облучению, увеличили время поиска платформы в 8-рукавном лабиринте; в то же время в группах «СИ+облучение» и «СИ+АнОВ+облучение» эффект облучения нивелирован. В teste распознавания нового объекта также не наблюдается разницы между облученными и необлученными животными, хотя время, потраченное на изучение нового объекта существенно ниже для группы «СИ+АнОВ», нежели для группы «СИ». Основной целью работы, как и предыдущей, является разработка системы биомаркеров, позволяющих предсказывать когнитивные нарушения, возникающие вследствие модельного воздействия, однако и в данном случае эта цель не достигнута.

Исследование [155] проведено на мышах, подвергнутых квазихроническому гамма-облучению в дозе 0.04 Гр и 3-недельному АнОВ; также исследовано действие этих факторов по отдельности. Применялась батарея поведенческих

тестов, открытое поле, приподнятый лабиринт, ротарод, тест выученной беспомощности и водный лабиринт Морриса. Также оценивалась целостность гематоэнцефалического барьера через оценку экспрессии гена AQP4 в мозге. Обнаружено выраженное угнетение в группах «АнOB» и «АнOB+облучение», причем эффект облучения практически не обнаруживается – как замечают сами авторы, по-видимому, в силу крайне малой дозы. Выявлено нарушение гематоэнцефалического барьера под воздействием АнOB, выразившееся в повышении экспрессии AQP4 и ассоциированном с ним возрастании доли рискованного поведения в тестах. Фактически – в особенности по критерию апоптоза в тканях головного мозга – был показан антагонистический эффект при комбинированном действии гравитационного и радиационного факторов.

Отметим, что за исключением (частично) [155] ни одно из исследований не ставит целью изучения механизмов как воздействия, так и взаимодействия модельных факторов, что, естественно, является существенным недостатком с фундаментальной точки зрения, поскольку закрывает путь к целенаправленному поиску компенсаторных мер. Ни одно из исследований не задействует тестов, опирающихся на формирование условного рефлекса и, соответственно, не дает возможности оценить широкий пласт когнитивных функций. Наконец, во всех исследованиях, кроме [155] облучение проведено в острой форме, хотя из, в частности, [59] известно, что хроническое воздействие кардинально отличается по результату от острого.

Таким образом, можно констатировать, что исследования проблематики комбинированного воздействия находятся, по сути, в самом начале и на данный момент сколько-нибудь значимых результатов не получено. Это с очевидностью делает необходимым, во-первых, разработку полноценной модели комбинированного хронического воздействия (АнOB + гамма + ионное облучение), во-вторых – оценку взаимодействия эффектов от отдельных компонентов этой модели с целью ее валидации и уточнения, и в-третьих, проведение полномасштабных исследований, оценивающих последствия модельных ФКП на всех уровнях организации – интегративном, нейрохимическом и молекулярном.

## Заключение

Анализ работ, посвященных проблематике воздействия факторов космического полета, позволяет сделать ряд выводов, определяющих актуальность и структуру настоящей работы.

**Во-первых**, в последние годы – прежде всего, в связи с развитием программ пилотируемой космонавтики, предусматривающих межпланетные полеты – пересматривается концепция радиационного риска. Одной из ключевых работ здесь является [3]. Авторы этой работы предлагают и обосновывают концепцию перехода от традиционного подхода к оценке рисков космических полетов, основанной на анализе отдаленных стохастических последствий (главным образом – опухолевых рисков) к актуальной оценке непосредственных рисков – анализу воздействия галактических излучений на функции мозга, что ведет к нарушению операторской деятельности экипажа. Это, в свою очередь, требует оценки и понимания механизмов нарушения высшей нервной деятельности как ключевого аспекта работоспособности экипажа.

В то же время данных о воздействии высокоэнергетических протонов – основного компонента солнечных космических лучей – и тяжелых ионов – наиболее существенного компонента галактических космических лучей – собрано сравнительно мало, причем подавляющее большинство исследований проведено на мышах с использованием сравнительно простых поведенческих тестов, основанных на лабиринтной (зоопсихологической) методике. Это указывает на необходимость применения (в том числе и разработки новых) батарей тестов, включающих как условнорефлекторные (в частности, УРАИ), так и психологические (ОП, ПКЛ) тесты.

**Во-вторых**, проблематика комбинированного воздействия различных факторов космического полета – прежде всего, хронически действующих – гипогравитационного, радиационного и ионного – практически не затронута современными исследованиями. Фактически работами в данном направлении занимаются два коллектива, представляющих ИМБП [146] и НАСА [6], причем во втором случае используются более продвинутые технические средства –

многоионные пучки и ионы  $^{56}\text{Fe}$ , однако задача ставится достаточно узко – поиск биомаркеров, указывающих на поражение нервной системы.

**В-третьих**, слабо исследованы механизмы нарушений в ЦНС, возникающих под действием факторов космического полета. В частности, выявлен ряд последствий облучения ТЗЧ на клеточном, молекулярном и нейрохимическом уровнях, однако отсутствует понимание взаимосвязи между этими последствиями и механизм их реализации на интегративном уровне. Подавляющее большинство исследователей сходятся в выводе о крайне сложной природе воздействия ТЗЧ на ЦНС; в частности, понятия ОБЭ и ЭфД по сути теряют смысл применительно к ионному воздействию

**В-четвертых**, данные литературы, хотя и немногочисленные, указывают на то, что, помимо сложности природы воздействия каждого из ФКП по отдельности, их комбинированное действие и взаимодействие в рамках организма может иметь еще более сложную природу взаимно-модифицирующего характера, в том числе с появлением новых эффектов наряду с ослаблением эффектов, типичных для каждого воздействия по отдельности. Это приводит к необходимости проводить исследования *in vivo* и, соответственно, к необходимости построения модели, воспроизводящей комплексное действие факторов космического полета – гипогравитации, хронического гамма- и ионного облучения в наземном эксперименте.

Соответственно, наиболее актуальный вопрос – о степени и механизмах возникновения нарушений нервной деятельности в результате воздействия факторов космического полета – остается и наименее исследованным, что определяет, таким образом, цель и задачи настоящей работы.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Поставленные в настоящей работе задачи обусловливают необходимость применения широкого арсенала достаточно сложных методик.

С одной стороны, требуется исследовать влияние комбинации синхронно и продолжительно действующих факторов – задача, уникальная сама по себе, поскольку ранее проблемой комбинированных воздействий занимались всего несколько коллективов; наиболее значимыми являются, бесспорно, работы Н.Н. Лившиц [147], в которых, однако не рассматривалось синхронное воздействие.

С другой стороны, необходимо изучить функциональные реакции ЦНС на всех уровнях – от молекулярного до интегративного, что позволит установить взаимосвязь механизмов действия и проявлений эффектов моделируемого комплексного воздействия на ЦНС. Такая постановка задачи также довольно редка в публикациях – как правило, авторы ограничиваются либо констатацией проявлений какого-либо эффекта, либо изучением механизмов воздействия на нижнем (чаще всего – молекулярном или физическом) уровне. Взаимосвязь различных уровней организации ЦНС изучается лишь в работах А.С. Базяна [79], [80] и Р. Бриттена [37].

Соответственно, для полноценного решения поставленных задач используется не просто набор, но организованная система методик, параметры которых взаимозависимы.

Это накладывает определенные сложности на описание отдельных аспектов конкретных методик; в частности, хотя разработка методики комплексного воздействия является одной из задач данной работы, в настоящем разделе это воздействие описано так, как если бы это была исходно известная, устоявшаяся методика – в том виде, в котором она применялась в завершающих экспериментах исследования. По сути, в таком – окончательном – виде она используется в работах главы 5, тогда как главы 3 и 4 посвящены разработке самой методики, а именно – определению отдельных ее параметров (продолжительности АиОВ, дозам различных видов ИИ), порядка их следования и прочим деталям. Эти главы носят

двойкий характер: это одновременно поэтапная разработка комплексной модели «от простого к сложному» и в то же время сравнительно самостоятельные исследования одиночных и сочетанных воздействий

## **2.1 Используемые в исследованиях животные**

### **Грызуны**

Ранние эксперименты, посвященные исследованию воздействия отдельных факторов космического полета и их различных сочетаний, выполнены на лабораторных крысах линии Wistar, самцах весом 200 гр., возрастом 7 – 8 нед. (на начало эксперимента) из собственного вивария ИМБП. В некоторых вспомогательных экспериментах задействовались мыши C57/BL6.

Животные содержались в стандартных лабораторных клетках по 8 особей в клетке, доступ к воде и корму (гранулированный полнорационный) свободный, световой день 12 часов, температура воздуха +22°С, влажность 40%.

Поздние эксперименты, имевшие целью изучение когнитивных нарушений при комплексном модельном воздействии, выполнялись на крысах линии Long Evans. Выбор линии крыс обусловлен применением сложных поведенческих методик, в частности, Y-лабиринта, в котором линейные крысы Wistar дают низкие результаты [156]. При этом большинство показателей линии Long Evans – вес, порог болевой чувствительности, метаболические параметры – незначительно отличается от таковых у линии Wistar, что значительно упрощает сопоставление результатов, полученных в различных сериях экспериментов [157]. Различие в зрении животных (Wistar, как и все альбиносы, имеют худшее зрение) в наших тестах некритично.

Использовались самцы крыс линии Long Evans из собственного вивария ИМБП возрастом 6 – 7 нед. и массой 150-180 г. на дату начала эксперимента. В каждом эксперименте было использовано от 24 до 64 животных, исходно разделенных на группы по 8 голов. Содержание в стандартных домашних клетках (ГОСТ 33216-2014) размерами 40x60x20см (одна группа – одна клетка) при температуре +23°С на протяжении всего эксперимента, световой день 12ч (искусственное освещение) с 9:00 до 21:00, свободный доступ к воде и корму

(синтетический полнорационный комбикорм для грызунов ПК 120-1\_45, ГОСТ 33215-2014, МУ 1.2.2520-09), подстил по ГОСТ 33215-2014, п.6.8 перед началом эксперимента все животные проходили трехдневное приучение к рукам (хэндлинг). Условия содержания и подготовки животных исходно описаны в [158] и [159].

Все работы с животными выполнялись в соответствии с нормами биомедицинской этики и с разрешения комиссии по биомедицинской этике ГНЦ РФ – ИМБП РАН. В ходе исследований животным не причинялись страдания, умерщвление животных производилось путем декапитации (при необходимости забора проб головного мозга) либо инъекции сверхлетальной дозы Золетила (согласно рекомендации ЕЭК ООН №33 от 14.11.2023). Во всех случаях число животных, задействованных в эксперименте, выбиралось минимально достаточным, чтобы обеспечить корректное проведение эксперимента.

## Обезьяны

В исследовании участвовало в общей сложности 12 обезьян *Macaca mulatta* – по 6 животных в каждой серии экспериментов. В обоих случаях обезьяны были приобретены в питомнике НИИ МП РАН в возрасте 1 года (масса тела 2-3 кг), перевезены в виварий ГНЦ РФ – ИМБП РАН с соблюдением всех необходимых процедур, адаптированы и в дальнейшем содержались в виварии ГНЦ РФ – ИМБП РАН в индивидуальных клетках при температуре воздуха +28С, влажности 50%. Режим светового дня – естественное освещение. Кормление – полнорационное, двухразовое.

Животные допускались к эксперименту после полугодичной адаптации, в возрасте 1.5 года. Ежегодно проводились полный ветеринарный осмотр и вакцинация, текущий осмотр – в процессе работы с животными.

По достижении возраста половой зрелости (5 лет) животные первой серии были выведены из эксперимента и после обследования переданы в питомник НИИ МП РАН. Все работы выполнялись в соответствии с нормами биомедицинской этики и с разрешения комиссии по биомедицинской этике ГНЦ РФ – ИМБП РАН, в ходе работ животным не причинялись страдания. Методика работы с обезьянами описана в [48], [160].

## 2.2 Моделирование факторов космического полета

Ввиду того, что в данной работе анализировались различные сочетания факторов космического полета, набор и хронология воздействий для каждого конкретного эксперимента описаны непосредственно перед рассмотрением результатов этого эксперимента. Данный раздел описывает лишь технические детали каждого из воздействий по отдельности, упоминая другие элементы модели там, где они неразрывно связаны.

Ключевым моментом данного исследования является именно сочетание воздействий: синхронное пролонгированное действие гамма-излучения и антиортостатического вывешивания ранее не использовалось в отечественных работах, а в зарубежных встречается только в [6], комбинация упомянутых факторов с ионным воздействием используется впервые.

### **Антиортостатическое вывешивание**

Методика антиортостатического вывешивания (АнOB) – общепринятая экспериментальная наземная модель невесомости для мелких лабораторных животных.

При создании АнOB использовали индивидуальные металлические секции размером 42 x 42 x 40 см, скомпонованные в трехъярусный стеллаж (15 секций). Животных вывешивали за основание хвоста под углом 30–40° с расчетом снятия статической нагрузки с задних конечностей. При этом крыс крепили с помощью специальных карабинов, надевающихся на металлический стержень, являющийся частью каретки, имеющей две степени свободы в горизонтальной плоскости, так, чтобы они могли свободно перемещаться в пределах клетки. Таким образом создавался антиортостаз, вызывающий перераспределение жидкостей в организме, и снималась статическая нагрузка с задних конечностей, что воспроизводит основные эффекты микрогравитации. Животные имели свободный доступ к привычному лабораторному корму и воде в индивидуальных мисках и поилках.

Соблюдался 12-часовой световой день, поддерживалась температура воздуха +22 С при влажности 40%

### **Антиортостатическая гипокинезия**

Антиортостатическая гипокинезия (АнОГ) – одна из двух общепринятых методик моделирования воздействия невесомости для приматов. Хотя иммерсия считается более современной моделью, установки для иммерсии весьма громоздки и требуют регулярного обслуживания, что делает ее совместное применение с гамма-облучением технически почти невозможным и обуславливает использование именно АнОГ. В ходе эксперимента обезьяны в специальных индивидуальных костюмах фиксировались на массивных столах с наклоном в сторону головы под углом 5° (рисунок 2.1). Руки и голова животного при этом свободны, что позволяет ему принимать пищу. Данная модель является общепринятой для воспроизведения таких эффектов невесомости как перераспределение жидкости в организме и ограничение подвижности в наземных экспериментах на людях.



*Рисунок 2.1 – Обезьяны в состоянии АнОГ*

В ходе эксперимента животные находились под постоянным наблюдением приматолога, который также обеспечивал регулярное питание каждые 3 часа – преимущественно сырье овощи, что позволяло свести к минимуму необходимость в питье. Удаление отходов обеспечивается через прорезь в костюме и матрасе, на котором лежит животное. Гигиенические процедуры по мере необходимости проводятся дежурным специалистом.

### **Гамма-облучение**

Во всех случаях гамма-облучение проводилось на базе ИМБП с использованием установки ГОБО-60 с источником  $^{137}\text{Cs}$  (72 г-экв. Ra), позволяющей формировать широкое поле воздействия (4м в ширину и 2м в высоту на расстоянии 7 м от источника).

Стеллажи с крысами были размещены в облучательской.

Стеллаж с животными, подвергшимися синхронному воздействию АнOB и  $\gamma$ -излучения, размещался в зоне облучения на расстоянии от источника, с таким расчетом, чтобы облучение всех крыс было равномерным (рисунок 2.2, слева).

Животные, подвергшиеся только воздействию АнOB, были размещены в аналогичном стеллаже, но с тыльной стороны источника (рисунок 2.2, справа).

Животные, подвергшиеся воздействию только гамма-излучения, размещались в индивидуальных боксах из оргстекла, аналогичных боксам для АнOB, и размещенных на том же стеллаже, но без вывешивания (рисунок 2.2, слева вверху).

Крысы контрольных групп размещались в том же помещении в домашних клетках с тыльной стороны источника (рисунок 2.2, справа внизу).



*Рисунок 2.2 – Синхронное воздействие гамма-излучения и АнOB*

В ранних экспериментах использовалось фракционированное облучение, которое впоследствии, по мере падения активности источника, было заменено квазихроническим. В рамках основных работ мощность дозы составляла 0.7 сГр/ч на расстоянии 7м от источника и проводилось квазихроническое облучение в течение всех 7 дней выведения, что приближает условия проведения эксперимента к реальным условиям космического полета. Доза гамма-облучения составила 1,2 Гр.

Раз в два дня делались 30-минутные перерывы в облучении для контроля состояния животных, пополнения запасов еды и воды и уборки лотков с отходами.

Столы с обезьянами на 7-й день АнОГ перемещались из вивария в облучательскую и выставлялись на расстоянии 1.5 м от источника, что обеспечивало мощность дозы 4.2 сГр/ч и набор суммарной дозы 1 Гр в течение последних суток АнОГ. Трижды – на 6, 12 и 18 час облучения – делались 15-минутные перерывы для кормления животных и гигиенических процедур.

Дозиметрический и технический контроль обеспечивались специалистами отдела радиационной безопасности пилотируемых космических полетов ИМБП.

## Ионное воздействие

После окончания гамма-облучения и снятия крыс с антиортостатического взвешивания проводилось облучение головы животных ионами углерода  $^{12}\text{C}$  с энергией 455 МэВ/н в дозе 0,8 Гр на ускорителе У-70 на базе Института физики высоких энергий (Протвино). Плотность потока составляет 106-107 частиц / см<sup>2</sup>, скорость набора дозы – 0.2…0.8 Гр за одни сброс пучка продолжительностью 0.8 секунды, т.е. полностью набор дозы происходит за единицы секунд. Пробег ионов в водном фантоме составляет приблизительно 30 см, соответственно, при облучении головы крысы изменением ЛПЭ можно пренебречь. Диаметр пучка У-70 составляет 100 мм, что позволяет облучить единовременно 4 крысы, иммобилизованных в пеналах и размещенных «голова к голове» (рисунок 2.3; крестообразная конструкция в центре – пеналы с крысами).

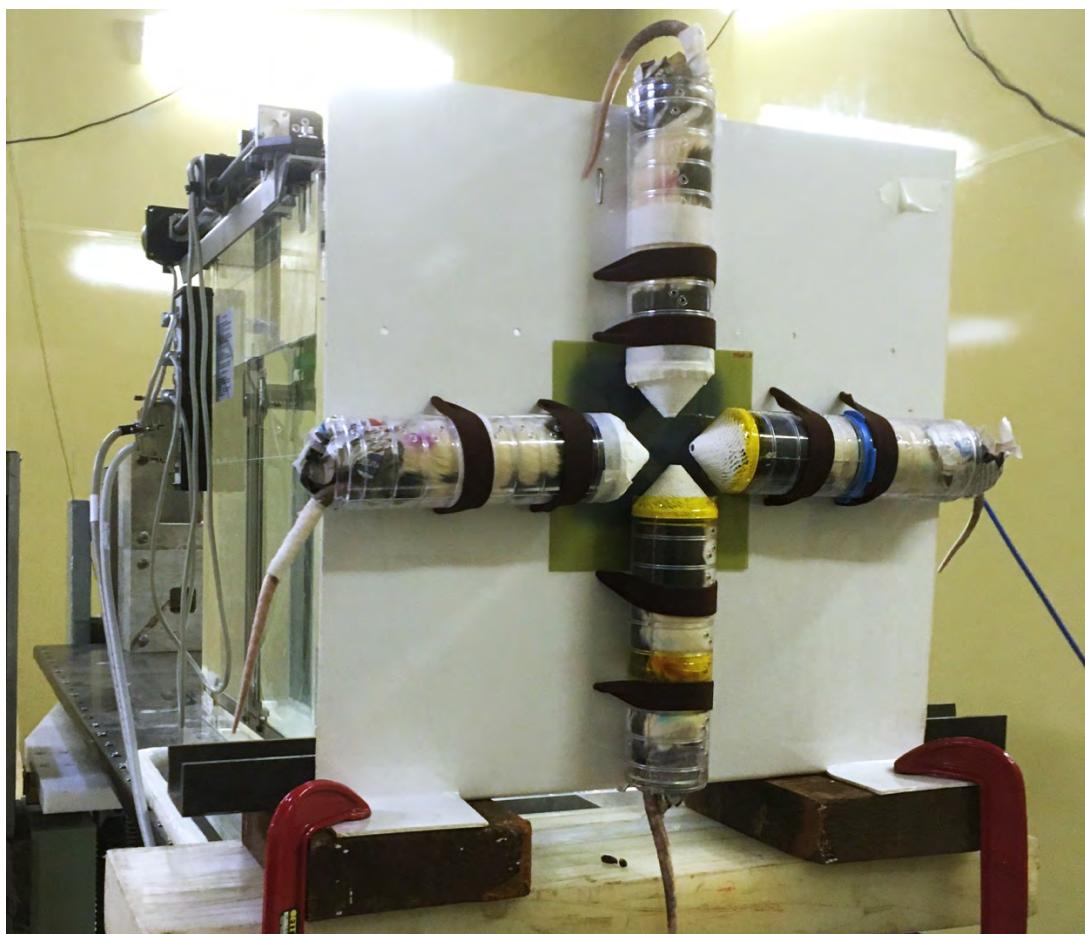


Рисунок 2.3 – Размещение животных на стенде при облучении

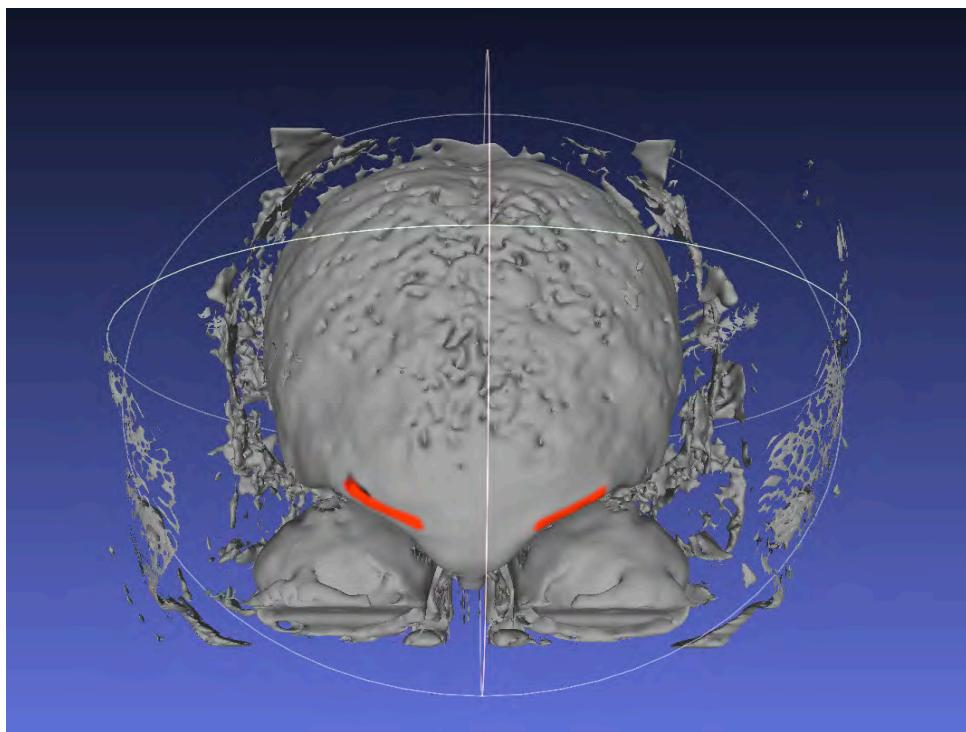
Размещение животных в камере радиобиологического стенда (РБС) ИФВЭ было определено посредством трехмерного моделирования взаимного расположения пучка, систем биологической защиты РБС и стенда с животными. Отдельно смоделировано распределение пучка в рамках стенда с животными, зафиксированными в специальных пеналах таким образом, чтобы облучению подверглись только головы, причем результирующая доза была одинаковой для всех животных. Облучение проводилось сеансами по 4 животных, т.е. по 2 сеанса на экспериментальную группу.

Дозиметрическое сопровождение облучения осуществлялось совместно сотрудниками ИМБП и ИФВЭ. Со стороны ИМБП использовали две сборки термolumинесцентных дозиметров (ТЛД), размещенные в центре поля облучения. Со стороны ИВФЭ использованы дозиметрические пленки для общего контроля соответствия плотности пучка ионов рассчитанной; сцинтилляционная дозиметрическая матрица для оперативного наблюдения за формой и плотностью пучка; набор сборок ТЛД – по две на каждый сброс – закреплялись непосредственно на стенде с животными. Файлы моделей, дозиметрические пленки и ТЛД передавались для дальнейшего изучения специалистам отдела радиационной безопасности пилотируемых полетов ИМБП.

Облучение обезьян также проводилось на радиобиологическом стенде ИФВЭ. В первой серии экспериментов облучению подвергалась вся голова животного, во второй – дорсолатеральные области префронтальной коры. Для точечного облучения заданной области головного мозга выбрана дорсолатеральная зона как отвечающая за исполнительные функции, в частности – рабочую память и планирование. Облучение области, ответственной именно за те действия, которые активно используются в тестах, позволит оценить наличие и масштаб когнитивных нарушений.

Для реализации точного облучения на основе данных компьютерной томографии создана трехмерная индивидуальная модель головы каждого животного, на которой, в свою очередь, по атласу строения головного мозга макак обозначены области (левая и правая соответственно) DLPFC, подлежащие облучению (рисунок 2.4). По данной модели произведена оценка поглощающей

способности костей черепа на пути пучка ионов и, соответственно, осуществлен расчет требуемой энергии пучка.



*Рисунок 2.4 – Модель мозга животного (вид сверху) с размеченной областью облучения*

Для динамического управления энергией пучка углерода на 25 канале в медицинской зоне ЦКП РБС У-70 путём введения в пучок поглотителей из оргстекла специалистами ИФВЭ был разработан и изготовлен компактный пластинчатый дегрейдер, представляющий собой набор из шести пластин из оргстекла с толщинами 1, 2, 4, 8, 16 и 32 мм и позволяющий перекрывать апертуру пучка размером  $200 \times 200$  мм<sup>2</sup>. Введение различных комбинаций пластин позволяет получить толщину материала в пучке в диапазоне от 0 до 63 мм с шагом 1 мм, тем самым изменяя положение пика Брэгга с точностью 1 мм. Для перемещения пластин дегрейдера используются шесть шаговых двигателей 17HS8401с управлением от контроллеров шагового двигателя. Для ограничения диапазона перемещений используются концевые выключатели. Пластины перемещаются от одного концевого выключателя до другого, промежуточное положение пластин не предусматривается. Блок управления системой размещается в основании (нижней

части) механической конструкции дегрейдера. Управление перемещениями пластин осуществляется от персонального компьютера (ПК) по интерфейсу RS232C. Плата управления, размещённая в блоке управления, обеспечивает связь с ПК по интерфейсу RS232C, опрос концевых выключателей и отображение текущей информации о положении пластин на экране ПК. Ограничение облучаемой области в поперечном направлении достигается введением в пучок коллиматора толщиной 150 мм, изготовленного из сплава Вуда и имеющего два тоннельных отверстия, расположенных напротив облучаемой области. Совместное позиционирование головы животного, зафиксированной при помощи индивидуальной маски из термопластика, и коллиматора осуществляется по трехмерной модели рабочей зоны РБС с использованием лазерной разметки рабочей зоны. Само животное при этом фиксируется в индивидуальном приматологическом кресле на медицинском столе с 6 степенями свободы и компьютерным управлением (рисунок 2.5).



Рисунок 2.5 – Позиционирование обезьяны при облучении.

В одном эксперименте для наземного моделирования радиационного фактора космического полета было проведено однократное (быстрое – на протяжении единиц секунд) облучение головы животных протонами с энергией 170 МэВ в дозе 1 Гр на протонном ускорителе на базе Медицинского радиологического научного центра им. А.Ф. Цыба (Обнинск).

Выбор режима облучения основывался на том, что протоны составляют значимую часть космического излучения. Характеристики облучения были подобраны исходя из видовой радиочувствительности, в соответствии с расчетной дозой, которая может быть получена космонавтами в межпланетном полете. При облучении использовались штатные средства развертки пучка и дозиметрии медицинского протонного ускорителя.

В ранних экспериментах ионное воздействие также проводилось на ускорителе «Нуклон» в ОИЯИ (Дубна), позволявшем облучать животных протонами с энергией 170 МэВ, ионами  $^{12}\text{C}$ ,  $^{78}\text{Kr}$  или  $^{84}\text{Kr}$ , но, в отличие от EBIS, только одним видом частиц за сеанс. Крыс облучали в индивидуальных пеналах, аналогичных показанным на рисунке 2.3, обезьян – в приматологических креслах. Пучок направлялся в область головы с затылочной части черепа. Поток ядер криптона, необходимый для создания в мозге поглощенной дозы 1 Гр, равен  $2,402 \cdot 10^6$  ядер/см<sup>2</sup>, углерода -  $3 \cdot 10^6$  ядер/см<sup>2</sup>.

Режим работы ускорителя был следующим: частота импульсов 0,1 Гц, растяжка медленного вывода 2,5 с. Пучок в месте облучения обезьян был узким и имел в сечении форму, близкую к эллипсу (большая ось по вертикали) с шириной по X на полувысоте около 0,34 см, а по Y – 0,86 см. Длительность облучения обезьян - 5–8 мин, крыс – порядка минуты. Для обезьян расчет средней линейной передачи энергии (ЛПЭ) ядер криптона проводился с учетом затылочной кости мозга (cortical bone) толщиной 0,5 см и плотностью 1,85 г/см<sup>3</sup>. Средняя плотность мозга принималась равной 1,054 г/см<sup>3</sup>. С учетом этого энергия ядер криптона на входе в мозг составляла 2,273 ГэВ/н и значение ЛПЭ на входе 251,9 кэВ/мкм. Толщина мозга бралась равной 5 см и тогда ЛПЭ на выходе из мозга составляла 267,8 кэВ/мкм. В малом объеме мозга, куда попадал пучок, локальная доза была до 3 Гр. Основная часть потока облучения приходилась на гиппокамп.

## 2.3 Методики определения типологии нервной деятельности

### Крысы

Для типологизации крыс по параметру возбудимости использовали модифицированную методику избегания закрытого темного пространства при крике раздражаемой особи (методика «эмоционального резонанса») по П.В.Симонову, описанную в [161]. Успешность применения этой методики для определения типологических характеристик животных показана в [162].

В ранних работах А.С. Штемберга [208] показана ведущая роль типологических особенностей ВНД у крыс при формировании пострадиационной динамики ранее сформированного УРАИ после облучения в сверхлетальных (до 100 Гр) дозах, причем животные различных типологических групп демонстрировали противоположные тенденции, что указывает на фундаментальную важность типологического фактора.

Используемый в данной работе вариант камеры Симонова представляет собой ящик из оргстекла толщиной 10 мм, разделенный на три отсека (рисунок 2.6).



*Рисунок 2.6 – Устройство камеры Симонова*

Отсек 1 (светлый) занимает половину ящика и имеет три прозрачных стенки. Отсеки 1 и 2 имеют общую крышку.

Отсек 2 (темный) соединен проходом с отсеком 1, стенки и крышка над ним выкрашены черной краской, так что уровень освещенности в отсеке значительно ниже. В отсеке установлены 4 ИК оптопары, позволяющие определять, находится ли крыса в данный момент именно в этом отсеке.

Отсек 3 (шоковый) предназначен для размещения «жертвенной» крысы, изолирован от отсеков 1 и 2, имеет собственную крышку и оборудован электрополом, состоящим из медных стержней диаметром 3мм, расположенных на расстоянии 12 мм друг от друга. Подача высокого напряжения на стержни причиняет находящейся в отсеке «жертвенной» крысе боль, заставляя ее звуком (вокализация в диапазоне частот, означающем тревогу) и запахом подавать сигналы тревоги, которые через отверстия диаметром 1 мм, проделанные в стенке, поступают в темный отсек. Внешние размеры ящика – 550x550 мм, высота 270 мм.

Согласно методике, испытуемая крыса помещается в отсек 1, в дальний от темного отсека угол. Естественный инстинкт побуждает ее скрыться в отсек 2, однако при этом крыса, находящаяся в отсеке 3, начинает получать удары током и издавать сигналы тревоги. В зависимости от уровня тревожности и установившегося равновесия в ЦНС испытуемая крыса либо покидает темный отсек, либо игнорирует крики сородича. Если крыса покидает темный отсек, электрошоковая стимуляция прекращается, и «жертвенная» крыса замолкает, возвращая ситуацию к исходной. Установка входит в состав разработанного в ИМБП программно-аппаратного комплекса и позволяет автоматизировать тестирование: автоматически отмеряется продолжительность эксперимента, подсчитывается и сводятся в таблицу количество входов и общее время пребывания испытуемой крысы в темном отсеке.

Эти параметры имеют обратную зависимость. Животные, показавшие максимальную активность (число входов), считаются возбудимыми («Альтруисты» в терминологии П.В. Симонова), минимальную – тормозными («Эгоисты»). При этом контрольные группы для «Альтруистов» и «Эгоистов» подбираются таким образом, чтобы их средние показатели в teste УРАИ совпадали с аналогичными

показателями экспериментальной группы. Те животные из исходной выборки, которые показали промежуточные результаты, выбраковываются.

Тестирование проводится в течение 2 дней по 5 минут (300 секунд) на каждое животное.

## Обезьяны

Для типологизации обезьян использовалась стандартная «человеческая» типология по И.П. Павлову, оценивающая силу, уравновешенность и подвижность (пластичность) нервных процессов. Методики применения такой типологии хорошо отработаны на практике, показали свою эффективность в том числе для профессиональных применений [163] и сравнительно просто переносятся на макак. Методика, использованная в данной работе, описана в [164]. Хотя традиционно принято выделять четыре типа темперамента, количество возможных вариантов, описываемых триадой «сила-уравновешенность-подвижность», значительно больше. В данной работе приоритет отдается детальному описанию характеристик каждого животного, однако в тех случаях, когда возможно точное сопоставление этих характеристик со шкалой темпераментов, дается также указание темперамента (например, сильный неуравновешенный с преобладанием возбуждения – «холерик»). Следует заметить, что как правило животные имеют различного рода переходные типы темперамента; чаще встречаются «чистые» холерики (сильный с преобладанием возбуждения) и меланхолики (слабые), реже – «чистые» сангвиники.

Для определения типологических характеристик животного проводится ряд экспериментов, состоящих в многократном (10 - 20 раз) повторном предъявлении объектов различной формы и размера, чаще всего – детских игрушек. Объекты подбираются таким образом, чтобы стимулировать различные реакции – исследовательскую (нейтральный объект, например, большая божья коровка), оборонительную (плюшевая змея) либо смешанно-коммуникационную (игрушка с глазами, которая может быть воспринята как представитель другого, заранее неизвестного вида).

На рисунке 2.7 показаны три типичных реакции – пассивно-оборонительная (отталкивание), исследовательская и активно-оборонительная.



*Рисунок 2.7 – Пассивная, исследовательская и оборонительная реакции*

У животных сильного уравновешенного типа после 8-10 предъявлений предмета возникает привыкание и ответная реакция угасает, что указывает на развитие торможения. В дальнейшем у таких животных обычно развивается исследовательская реакция по отношению даже к заведомо «опасному» предмету.

У сильного неуравновешенного типа угасание активно-оборонительной реакции – отталкивания, оскала – не наблюдается после 15 – 20 предъявлений.

Слабый тип демонстрирует реакцию, переходящую в пассивно-оборонительную, относительно постоянную при повторяющихся предъявлениях.

Пластичность нервных процессов определяется посредством наблюдения за скоростью угасания проявляемых реакций любого типа (т.е. привыкания к объекту) и сравнения между собой темпов угасания реакции на объекты различного типа. Животные с выраженной пластичностью быстро привыкают к объектам всех типов и меняют реакцию с оборонительной на исследовательскую, с исследовательской на безразличную. У животных со слабой пластичностью изменение реакции происходит медленнее, причем оборонительная меняется медленнее, чем исследовательская.

Типологические особенности обезьян выражено проявляются также при освоении компьютерных тестов – одни животные проявляют больший интерес и

совершают значительное число попыток игры, другие – меньший, вплоть до отказа от взаимодействия. Часто встречается проявление агрессии по отношению к установке (джойстику или монитору) в случае нескольких подряд неудачных попыток выполнить задачу. Реакция на стрессовую ситуацию (в том числе высадку из клетки) у животных со слабой пластичностью выражена значительно сильнее – результаты резко снижаются и долго не возвращаются на привычный уровень.

## **2.4 Поведенческое тестирование грызунов**

Батарея поведенческих тестов для крыс и мышей, используемая в данной работе, позволяет оценить различные аспекты высшей нервной деятельности. С учетом изложенных в работе [45] и рассмотренных ранее в литобзоре различий между результатами «зоопсихологических» и «лабиринтных» методик, используется две группы тестов. К «когнитивным» тестам относятся УРПИ, УРАИ и обучение в лабиринте Морриса, а к «эмоциональным» – открытое поле и приподнятый крестообразный лабиринт. Некоторое дублирование методик позволяет, во-первых, взаимно валидировать результаты тестов одной группы, а во-вторых – оценивать изменение показателей с течением времени, не проводя повторно уже знакомые животным тесты.

### **Открытое поле**

Стандартный поведенческий тест, используемый, прежде всего, для оценки психоэмоционального состояния грызунов – уровня возбуждения, стресса и т.п., применяется в данной работе для оценки состояния животных на следующий день после воздействий. Классические основы методики изложены в [165] и опираются на конкуренцию двух мотиваций, возникающих у животного при помещении в незнакомую среду: оборонительная мотивация вызвана сравнительно некомфортными условиями (открытое освещенное пространство) и вызывает проявление пассивно-оборонительных реакций – замираний, дефекации и т.п. В то же время ориентировано-исследовательская мотивация проявляется в движении по полю, заглядывании в «норки», стойках; при этом продолжительность теста –

стандартные 5 минут – выбрана такой, чтобы наблюдать переход от оборонительной к исследовательской мотивации.

Повторное прохождение «открытого поля» не рекомендуется, поскольку животные частично привыкают к установке в первый заход, поэтому тест в общем случае не позволяет оценивать динамику эмоционального состояния.

Использовалась стандартная пластиковая установка (приказ Минздрава РФ №281 от 30.04.2013) диаметром 90 см, пол которой размечен квадратами со стороной 10 см. В каждой «клеточке» посередине имеется отверстие диаметром 3 см. Продолжительность эксперимента составляла 5 минут. Животное аккуратно высаживалось в центр. Регистрировали двигательную активность (число пересечений линий) раздельно за первую и вторую половины времени тестирования, ориентировочно-исследовательскую активность (число заглядываний в отверстия, число стоек с опорой и без опоры), эмоциональность (число актов дефекации), а также время выхода в центральную часть поля и число замираний (freezing). Данные обрабатывались при помощи MS Excel и Statsoft Statistica, использовался тест Дункана (Duncan Anova).

### **Приподнятый крестообразный лабиринт**

Приподнятый крестообразный лабиринт (ПКЛ) является общепринятым тестом для оценки тревожности экспериментальных животных. Основная концепция схожа с методикой «открытого поля» и базируется на конкуренции оборонительной и исследовательской мотиваций, однако в ПКЛ животное имеет возможность укрыться в одном из двух темных (закрытых) рукавов (отсеков) лабиринта или же выйти в открытые рукава, проявляя исследовательскую мотивацию.

Критерием тревожности служит количество выходов в открытый отсек лабиринта и время пребывания в нем. Использовалась стандартная крестообразная установка размером 1.5 м, два противоположных рукава которой закрыты по бокам черными стенками высотой 50 см. Крыса первоначально высаживалась в темный рукав. Тест проводился на протяжении 2 минут, в ходе которых регистрировались число перебежек между темными рукавами, латентный период выхода в светлый

рукав, количество выходов и общее время, проведенное в светлом рукаве. Проведение теста спустя месяц после воздействий позволяет оценить отсроченное влияние последних на эмоциональное состояние животных и заодно валидировать результаты, полученные в teste открытоого поля.

## **УРПИ**

Методика использовалась в ранних экспериментах для оценки долговременной памяти крыс и основана на врожденном стремлении мышей и крыс к ограниченному замкнутому пространству и избеганию освещенных участков. В эксперименте использовали камеру из непрозрачного пластика, с перегородкой с прямоугольным отверстием на уровне пола  $6 \times 6$  см, разделяющей камеру на два отсека, и с электрифицированным полом для каждого отсека. Один из отсеков размером  $23 \times 16 \times 16$  см закрыт съемной светонепроницаемой крышкой; второй отсек размером  $23 \times 16 \times 45$  см не имеет крышки и освещен лампой. Освещенность по центру затемненного отсека составляла 12 лк, освещенного – 150 лк. Животное помещали в центр освещенного отсека хвостом к отверстию в перегородке и регистрировали время перехода в затемненный отсек всеми четырьмя лапами – латентное время. Немедленно после этого на пол затемненного отсека подавали однополярные импульсы тока 0.3 мА частотой 100 Гц, до тех пор, пока животное не перейдет обратно в освещенный отсек, но не более 3 с, после чего животное переносили в домашнюю клетку. Тест повторяли через 24 ч и спустя 1 нед., но лишь для тех групп животных, которые показали достоверное обучение спустя 24 ч после эксперимента. Фиксировали латентное время перехода в затемненный отсек (пол при этом не активировали), которое прямо указывает на «силу» памятного следа.

## **УРАИ в челночной камере и Y-лабиринте**

Оценка динамики формирования условного рефлекса активного избегания является одной из общепринятых методик исследования когнитивных способностей грызунов – прежде всего, способности к обучению. Тест построен на использовании так называемой челночной (двухотсековой) камеры, позволяющей

предъявлять животному два стимула – условный (световой) и безусловный (электроболевой) с различными временными параметрами. Животное должно сформировать рефлекс, заключающийся в необходимости по предъявлении условного стимула совершить перебежку в другой отсек камеры и тем самым избегнуть предъявления безусловного стимула (реакция избегания); на первых этапах обучения формируется рефлекс совершения перебежки по предъявлении безусловного стимула (реакция избавления).

Используемая в данной работе челночная камера представляет собой два рукава (отсека) размером 25 (длина) x 25 (ширина) x 25 (высота) см из белого непрозрачного пластика, между которыми имеется перегородка с отверстием 5x5 см, позволяющим крысе свободно переходить между отсеками, понимая в то же время, что это два различных «помещения». В каждом отсеке установлены: управляемый светодиодный светильник, обеспечивающий освещенность 80лк/см<sup>2</sup> (условный стимул), набор ИК-оптопар, регистрирующих присутствие животного и электродный пол, позволяющий стимулировать крысу высоковольтными (до 2 кВ) импульсами с частотой 4-5 Гц и постоянной энергией 0,004 Дж / импульс. Благодаря такому воздействию удается избегнуть типичной проблемы всех установок с электрополом, заключающейся в том, что со временем животное научается стоять на электродах одной полярности, избегая тем самым болевого стимула, но не формируя собственно УРАИ. Такая система также обеспечивает сравнительно однородное воздействие, слабо зависящее от чистоты и влажности подошв животного, а равно устойчива к загрязнению прутьев электропола и даже к посадке животного на прутья шерстистыми частями тела.

Параметры выработки УР были следующими: 6 с – время изолированного действия условного сигнала (света); 30 с – время сочетания условного сигнала и электроболевого подкрепления; 10 с – пауза между сочетаниями.

Система оснащена встроенным микроконтроллером, сопрягается с компьютером и работает под управлением ПО собственной разработки ИМБП. Установка автоматически регистрирует число реакций избегания (переходов по условному сигналу в другой отсек камеры); число реакций избавления (переходов при сочетании условного сигнала и электроболевого подкрепления); число отказов

от перехода и число межсигнальных реакций. Вычисляется также среднее время выполнения теста для каждого животного. Ежедневно с каждым животным проводится 20 попыток теста за исключением первого, «ознакомительного» дня, в который проводится 5 попыток. Обучение до уровня 80% обычно занимает (в зависимости от линии животных, уровня стресса и т.п.) 4-5 дней.

Основной измеряемый параметр теста – уровень обученности, определяемый как число успешных попыток (реакций избегания, при которых животное своевременно и правильно реагирует на световой стимул и избегает болевого).

Латентный период реакции избегания (время, проходящее между подачей условного сигнала и побежкой, «время избегания») – показатель, хорошо отображающий фазу обучения животного. По мере выработки УРАИ время избегания сперва снижается, поскольку животное старается как можно быстрее реагировать на условный сигнал, а затем начинает возрастать по мере того, как крыса адаптируется и привыкает точно определять, в какой именно момент еще не поздно совершить перебежку, не концентрируя излишне внимание на условном сигнале.

Существенный интерес представляет также среднее время, затрачиваемое животным на каждое предъявление теста УРАИ – от подачи условного сигнала до совершения перебежки. В случае успешной реакции избегания это время равно латентному периоду реакции избегания, а в случае реакции избавления оно составляет 6 секунд (время предъявления условного стимула) плюс латентный период реакции избавления. Соответственно, если большинство животных в большинстве случаев демонстрирует реакцию избегания, это время составляет менее 6 секунд. Если животные не обучены либо по каким-то причинам не в состоянии выполнять перебежку, это время существенно больше 6 секунд. Время, незначительно превышающее 6 секунд, указывает на то, что животные выучили правильный порядок действий, но не совершают перебежку при предъявлении условного стимула. Если такое явление наблюдается позже 4-го дня обучения, это может указывать на проблемы в эмоционально-мотивационной сфере ВНД.

Последний существенный параметр, измеряемый в ходе теста – число межсигнальных реакций (MCR), т.е. побежек, совершаемых без действия какого-

либо раздражителя. Этот параметр указывает на общее возбуждение животного и позволяет различать стадии формирования условного рефлекса. На стадии прегенерализации, в первый-второй день теста, число MCP значительно и может превышать число предъявлений условного стимула. Входя в стадию генерализации УР, животное снижает число MCP до  $1/3 - 1/4$  от числа предъявлений стимула. Наконец, в стадии специализации число MCP обычно близко к нулю.

В то же время группы животных с различной возбудимостью по Симонову достаточно хорошо различаются и по числу MCP – у «Альтруистов» число MCP, особенно в стадии генерализации, выше.

**Y-лабиринт** для методики УРАИ представляет собой развитие идеи челночной камеры – три рукава (отсека) размером 25 (длина) x 20 (ширина) x 25 (высота) см из белого непрозрачного пластика, соединенных под углом 120 градусов (рис. 2.8).



Рисунок 2.8 – Y-лабиринт в работе. Крыса переходит из рукава B в рукав C

В каждом отсеке установлены: управляемый светодиодный светильник, обеспечивающий освещенность 80лк/см<sup>2</sup>, управляемый источник звука различной частоты, набор ИК-оптопар для регистрации местоположения животного и электропол, позволяющий стимулировать крысу импульсами с частотой 4-5 Гц энергией 0.004Дж – полностью аналогично челночной камере.

Методика основана на выработке классического условного рефлекса активного избегания, но реализация в данной установке позволяет также учитывать пространственную ориентацию (задавая «правильное» направление перехода) и использовать различные стимулы и их сочетания (например, по звуковому сигналу крыса переходит по часовой стрелке, по световому – против), формируя достаточно сложные модели поведения.

Такой способ позволяет производить формирование дифференцировочного УРАИ, в котором критерием дифференцировки может служить как тип стимула, так и расположение рукавов.

В рамках данной работы использовалась методика с одним условным стимулом. Крыса высаживается в произвольный рукав, после чего в отсеке загорается свет и начинается отсчет времени (6 секунд). Если крыса не успевает перейти в рукав, следующий по часовой стрелке от того, в котором она находится (например, на рисунке 2.8 крыса должна перейти в рукав С), во всех рукавах, кроме «нужного», включается электропол, вынуждающий ее совершить переход именно в «нужный», хотя бы и путем случайного обхода. Таким образом, в отличие от стандартной методики УРАИ с «челночной камерой», формируемый рефлекс сложнее и включает в себя пространственную ориентацию.

Предварительное обучение включает 4 – 5 последовательных дней по 15 предъявлений такого испытания, подсчитывается количество «успешных» (без включения электропола, т.е. реакций избегания) переходов, среднее время от подачи условного сигнала до совершения перехода (в случае реакций избегания), среднее время от включения электропола до совершения перехода в нужный отсек (в случае реакций избавления), число отказов от побежки, а также число межсигнальных реакций – спонтанных переходов между отсеками в период, когда никакой сигнал не подается (10 секунд между предъявлениями стимула).

Оптимальная методика проведения теста, сформировавшаяся в ходе работ, включает в себя 4 дня предварительного обучения перед воздействиями (до уровня порядка 40% реакций избегания), затем 3 дня непосредственно после воздействий – с целью оценить влияние нарушений, вызванных воздействиями, на формирование и консолидацию рефлекса – и далее повторение теста с интервалом в месяц (несколько раз, вплоть до трех месяцев) для оценки сохранности выработанного навыка и динамики когнитивных нарушений.

Использование методики, сочетающей формирование УРАИ и пространственного ориентирования, позволяет задействовать более сложные механизмы обучения, включающие в работу большее число отделов и функций головного мозга. Соответственно, такая методика представляет значительно больший интерес с точки зрения оценки возможных нарушений когнитивных функций, нежели традиционно используемые тесты распознавания нового объекта, поведения в открытом поле и УРАИ в челночной камере.

Следует заметить, что крысы линии Wistar чрезвычайно плохо обучаются даже по указанной относительно простой методике – на 5-6 день теста доля реакций избегания не превышает 10-15%. В то же время животные линии Long Evans, обладающие более высокими когнитивными способностями, хорошо подходят для работы по этой методике. В силу этого большая часть работ была выполнена именно на животных Long Evans.

### **Водный лабиринт Морриса**

Водный тест (лабиринт) Морриса предназначен для исследования пространственной памяти и ориентации животных. Использовалась стандартная установка диаметром 150 см, расположенная в полу затемненной комнате с освещением по периметру, что исключает наличие ярко выраженных ориентиров. Животное высаживалось каждый раз с новой точки и должно было отыскать скрытую под водой платформу, расположенную в постоянном месте. При таком способе проведения теста ключевым показателем нервной деятельности животного становится качество зрительной и пространственной памяти, в отличие от способа с высаживанием в постоянной точке, действующего больше моторную память.

Соответственно, в нашем случае большей нагрузке подвергались структуры мозга, связанные с памятью, в частности, фронтальная кора.

Температура воды в ходе теста составляла +20°C, воздуха +23°C. Испытание записывалось на видео для последующей обработки в ПО Bonsai (Open Ephys, США), определяющем временные характеристики прохождения теста: скорость перемещения, время нахождения в каждом секторе лабиринта, паттерн поведения крысы.

Тест проводится на протяжении четырех последовательных дней, ежедневно каждому животному предлагается четыре попытки. Ключевой параметр обученности – время отыскания платформы. По завершении четырехдневного обучения в некоторых экспериментах проводилось переучивание с расположенной на новом месте платформой, что позволяет оценить пластичность нервных процессов.

Лабиринт Морриса хорошо дополняет УРАИ в челночной камере и чаще всего результаты этих двух тестов схожи. Если же тест УРАИ проводится в Y-лабиринте, то эти два теста взаимно валидируют результаты друг друга и во всех экспериментах, проведенных в схожих условиях (при сопоставимых воздействиях и примерно одинаковом времени после воздействия) кривые обученности по этим двум тестам схожи до степени смешения.

Проведение теста Морриса спустя 2 месяца после воздействий позволяет оценить отсроченные эффекты воздействий и динамику когнитивных нарушений в разрезе формирования новых навыков.

### **IntelliCage**

Комплексная методика «обучения в домашней клетке» предназначена для общей оценки когнитивных способностей мышей и использовалась в некоторых ранних и вспомогательных экспериментах. Прибор IntelliCage, разработанный компанией TSE (Германия), предназначен для автоматического сбора и анализа данных о поведении и обучении мелких лабораторных животных. В каждом углу клетки располагается норка с 2 поилками, доступ к которым преграждает пластмассовая шторка, управляемая программой. Над каждой поилкой находится

панель, оснащенная температурными датчиками присутствия, датчиками, считающими идентификационный номер чипа, датчиком nosepoke, который реагирует на попытку животного дотянуться до поилки; кроме того, на самой поилке также располагаются датчики, сообщающие информацию о количестве и продолжительности питьевых актов. Животное имеет постоянный доступ к питанию, а доступ к воде определяется алгоритмом системы. В начале эксперимента все поилки открыты, углы равнозначны. Животные в течение 4 суток адаптируются в клетке без участия экспериментатора. После адаптации на протяжении двух недель происходит обучение по следующему алгоритму: первоначально «правильной» (открывающейся при подходе мыши) назначается поилка № 1 для всех животных, после достижения конкретным животным (каждая мышь имеет индивидуальный чип) критерия обученности 60 % правильной для него становится поилка, следующая по часовой стрелке относительно предыдущей. Окончательным решением задачи считается ситуация, когда доля подходов к «правильной» поилке составляет 80%. Оценивается общая активность (число подходов), доля правильных подходов, количество актов питья и объем выпитой воды для каждого животного.

## 2.5 Поведенческое тестирование обезьян

Животных обучали на автоматизированной компьютерной системе игровых тестов, изначально разработанной американскими исследователями для эксперимента Бион-11 [166], и модифицированной впоследствии в ИМБП с применением современных средств и технологий [164]. Система включает ключевые элементы операторской деятельности: задачи слежения и выбора, тесты на понимание логических последовательностей, задачи на обобщение.

Установка для исследования высшей нервной деятельности (ВНД) приматов состояла из компьютерного блока, монитора, программируемой кормушки для пищевого подкрепления и джойстика (общий вид – на рисунке 2.9).

Животные могут работать с установкой как из домашних вольеров (для этого установки – используется три одинаковых – смонтированы на подвижной стойке),

так и будучи высаженными в приматологические кресла. Участие и даже присутствие человека-экспериментатора полностью исключается благодаря тому, что компьютеры установок соединены в локальную сеть и пересыпают данные на сервер, расположенный в соседней комнате, откуда можно вести наблюдение и управлять ходом тестирования; большую часть времени система функционирует автоматически, позволяя животному выполнять тесты тогда, когда оно само того хочет – в любое время суток, вне зависимости от действий других животных и т.п. Тем самым минимизируется воздействие посторонних факторов и обеспечивается чистота эксперимента.



*Рисунок 2.9 – Обезьяна в процессе эксперимента; слева за стеклом – монитор, левая рука на джойстике, правая тянется к лотку-кормушке*

Последовательность тестовых задач в компьютерных программах выстроена в такой очередности, что обезьянам сначала предлагаются тесты, которые позволяют усвоить основной принцип работы с джойстиком. Игровая форма программы стимулирует общий уровень активности животных. В течение одного опытного дня они могут делать от 100 до 500, в некоторых случаях - и более попыток (инструментальных движений) для того, чтобы получить подкрепление – бананово-фруктовую таблетку.

Компьютерные задачи разделялись на два типа:

- Обучающие программы для выработки инструментального условно-двигательного рефлекса у обезьяны и имитирующие элементы операторской деятельности;
- Тестовые задачи на оценку когнитивных возможностей и связанных с ними механизмов кратковременной и долговременной памяти.

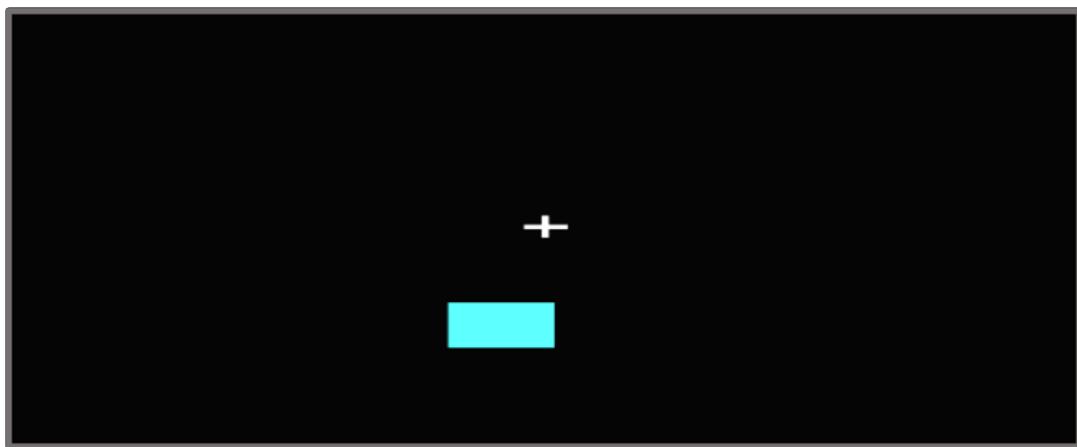
К первому типу задач относятся 2 программы, по которым животные прошли подготовку: «сторона» (рисунок 2.10) и «преследование» (рисунок 2.11).



*Рисунок 2.10 – Экран при работе программы «сторона»*

На первом этапе, в программе «сторона», животному необходимо научиться при помощи джойстика выводить на экране курсор из поля черного цвета в голубое. При этом поле черного цвета занимает основную часть экрана, а поле голубого цвета представлено в виде рамки вокруг черного поля. Вначале обезьяне необходимо научиться перемещать курсор в направлении разных сторон рамки. В

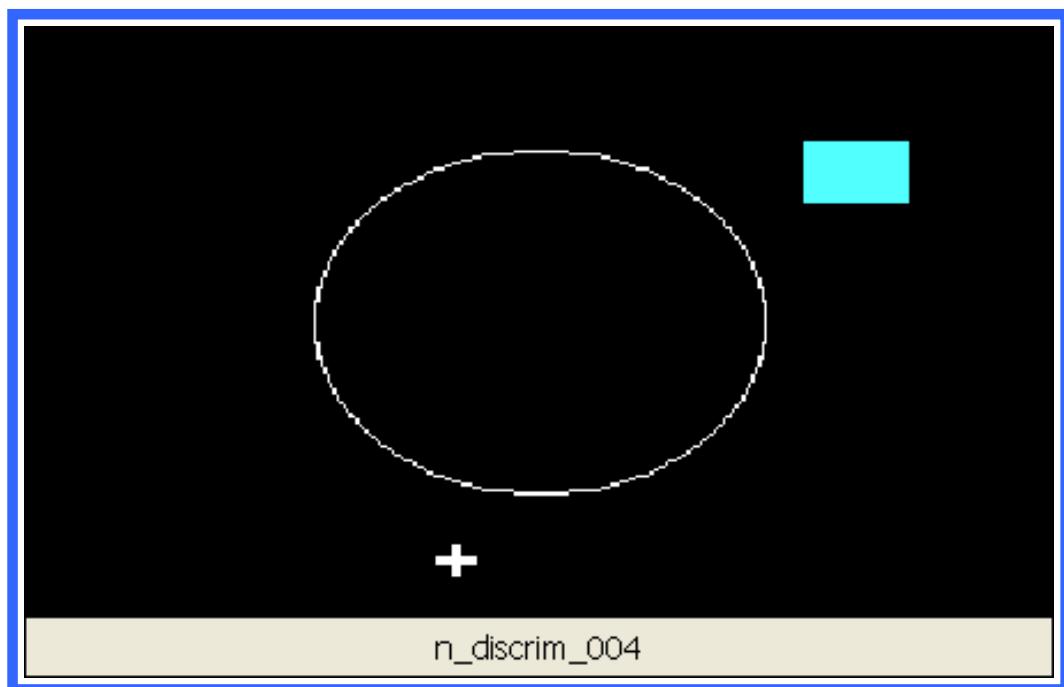
последующих тестах количество синих сторон в рамке сокращается до одной. После нескольких попаданий в нее курсором, она постепенно уменьшается до небольшого прямоугольника, появляющегося в разных частях экрана.



*Рисунок 2.11 – Экран программы «преследование»*

Программа «преследование» является непосредственным продолжением «стороны». Последним этапом обучения в программе «сторона» была необходимость хорошо закрепить навык вывода курсора в поле голубого цвета, ставшее к концу небольшим квадратом. Основным отличием программы «преследование» становится то, что мишень (квадрат) начинает двигаться по экрану вместе с движением курсора, и животному необходимо выработать четкую моторную реакцию, догоняя цель. Для решения этой задачи необходимо умение предсказывать траекторию движения цели для ее быстрого достижения.

Завершающей программой первого этапа обучения является «Круг», в которой к задаче «Преследование» добавляется усложнение в виде изображенного на экране круга (экспериментатор может варьировать размер), недоступного для курсора – соответственно, «поймать» цель можно только вне круга, и животное приобретает навык предсказания траектории движения мишени в круге (рисунок 2.12). Эта задача является реализацией теста Крушинского на экстраполяцию движения, который, в свою очередь, служит одним из критериев рассудочного поведения.



*Рисунок 2.12 – Программа «Круг»*

Задача «Круг» осваивается (совокупно с предшествующими) приблизительно за 6 месяцев и является основным тестом для молодых животных.

Второй по сложности этап тестирования включает в себя задачу «выбор», дополняющую задачи первого этапа – манипуляцию джойстиком, преследование и предсказание траектории – задачей запоминания и выбора.

В этой программе вначале животному предъявляется на короткое время (10 - 30 секунд) фигура-образец; после предварительного предъявления на экране образца через определенное время показываются две фигуры, одна из которых повторяет предыдущую образец по форме, цвету и размеру. Животное должно, используя навыки, полученные на первом этапе, догнать курсором именно тот объект, который совпадает с образцом.

Метод обучения «выбор по образцу» наряду с выработкой дифференцировок используется для выявления у животных способности к обобщению. Также этот тест вполне достоверно – как с точки зрения когнитивной, так и с точки зрения визуально-моторной реакции – воспроизводит один из ключевых элементов работы на компьютере и операторской деятельности в целом – осознанное нажатие кнопки или выбор пункта меню

В процессе обучения регистрировались общее количество выполненных тестов в течение дня и процент правильных решений.

Освоение задачи «выбор» занимает от 6 до 12 месяцев, этот тест является основным в исследованиях с макаками, но может быть, в силу временных ограничений, использован только на поздних этапах и непродолжительное время – от момента освоения «выбора» до вывода животных из эксперимента проходит около года.

## 2.6 Нейрохимические исследования

Нейрохимические исследования проводились на пробах тканей головного мозга крыс и периферической крови обезьян. У крыс определяли концентрации:

- основных нейромедиаторов – дофамина (DA), норадреналина (NA), серотонина (5-HT);
- их метаболитов – дигидроксифенилуксусной (DOPAC) и гомованилиновой (HVA) кислот, 3-метокситирамина (3-MT), 3-метокси-4-гидроксифенилгликоля (MHPG) и 5-гидроксииндолуксусной кислоты (5-HIAA);
- аминокислот – аспартата (ASP), глутамата (GLU), глицина (GLY), таурина (TAU) и гамма-аминомасляной кислоты (GABA, ГАМК).

У обезьян, поскольку вопрос прохождения катехоламинов через гематоэнцефалический барьер (и тем более – сохранения релевантной концентрации) является дискуссионным, измерялись концентрации нейромедиаторов и в дальнейшем анализировались их соотношения. Поскольку ряд источников, в частности, [167] и [168], указывают на возможность опосредованного переноса, в частности, дофамина, через ГЭБ и тем самым на возможность сопоставлять концентрации нейромедиаторов в плазме крови и в головном мозге, в ряде наших экспериментов также была измерена концентрация дофамина и норадреналина в плазме крови.

Крысы после воздействий и поведенческого тестирования подвергались эвтаназии путем гильотинирования с последующим немедленным изъятием

головного мозга и препаратией последнего в криотоме с целью выделения ключевых структур: гиппокампа, префронтальной коры, гипоталамуса и таламуса.

Выделенные структуры мозга крыс размельчали в гомогенизаторе "стекло-тэфлон" (0,2 мм) при скорости вращения пестика 3000 об/мин. Гомогенизацию осуществляли в 0,1 н HClO<sub>4</sub> с добавлением в качестве внутреннего стандарта 3,4-диоксибензиламина (ДОБА) в количестве 0,5 нмоль/мл. Пробы центрифугировали при 15 000 g в течение 10 мин. Надосадочную жидкость в количестве 20 мкл фильтрата наносили на аналитическую колонку методом прямой инъекции.

Пробы крови обезьян забирались из локтевой вены под кетоналовым наркозом специальным шприцем; 5 мл крови переносили в пластиковую пробирку и центрифугировали при 4оС 20 мин 2500 – 3000 об/мин, 150-200 g. Плазму для анализа в объеме 1 мл замораживали в жидким азоте.

Далее по единой для крыс и обезьян методике на обращённо-фазной колонке ReproSil-Pur, ODS-3, 4x100 мм, размер частиц 3 мкм (Dr.Majsch GMBH, «Элсико», Москва) с использованием в качестве подвижной фазы 0,1 М цитратно-fosфатного буфера, содержащего 0,3 mM октансульфоната натрия, 0,1 mM ЭДТА и 10% ацетонитрила (рН 3,2) выделяли следующие катехоламины (только для крыс) и их метаболиты:

- норадреналин (NA) и метаболит 4-метокси-4-гидроксифенилгликоль (MHPG);
- дофамин (DA) и метаболиты 3,4 диоксифенилуксусную кислоту (DOPAC), гомованилиновую кислоту (HVA), 3-метокситирамин (3МТ);
- серотонин (5-HT) и метаболит 5-оксииндолуксусную кислоту (5-HIAA).

Концентрациюmonoаминов и их метаболитов определяли с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ионпарная хроматография) с электрохимической детекцией на хроматографе LC-304T (BAS, WestLafayette, США) с инжектором Rheodyne 7125, петля для нанесения образцов - 20 мкл. Изучаемые вещества разделяли на обращённо-фазной колонке ReproSil-Pur, ODS-3, 4x100 мм, 3 мкм (Dr.Majsch GMBH, «Элсико», Москва). Насос PM-80 (BAS, США), скорость подвижной фазы 1.0 мл/мин, при давлении 200 атм. Мобильная фаза: 0.1 M цитратно-fosфатный буфер, содержащий 1.1 mM октансульфоновой

кислоты, 0.1 mM ЭДТА и 9% ацетонитрила (рН=3.0). Скорость протока 1 мл/мин. Измерение проводили с помощью электрохимического детектора LC-4B (BAS, США) на стеклоугольном электроде (+0.85 V) против электрода сравнения Ag/AgCl. Регистрация образцов проводилась с применением аппаратно-программного комплекса МУЛЬТИХРОМ 1.5 (АМПЕРСЕНД). Все использовавшиеся для анализа реагенты были высокой степени чистоты: о.с.ч., х.ч. или analytical grade. Для калибровки хроматографа использовались смеси рабочих стандартов определяемых веществ в концентрации 500 пмоль/мл. Величины концентрацииmonoаминов в опытных образцах рассчитывали методом «внутреннего стандарта», исходя из отношений площадей пиков в стандартной смеси и в образце.

Определение содержания тормозных (ГАМК, глицин, таурин) и возбуждающих (аспартат, глутамат) нейромедиаторных аминокислот проводили методом ВЭЖХ/ФД согласно модифицированной методике [169]. Перед анализом замороженные в жидкому азоту и предварительно взвешенные биологические пробы гомогенизировали в 1 мл раствора 0,1 н HClO<sub>4</sub> с помощью гомогенизатора тefлон-стекло (5 мл). Затем образцы центрифугировали при 10000 об./мин в течение 15 мин. К 0,025 мл супернатанта добавляли 0,05 мл 0,1 н NaOH, и 0,025 мл ортофталевого реагента для запуска реакции дериватизации. Через 20 мин 20 мкл полученного деривата подвергали хроматографическому разделению. Гамма-аминомасляную кислоту, аспартат, глутамат, таурин, глицин в начальной концентрации 0,1 мкМ/мл в 0,1 н HClO<sub>4</sub> использовали в качестве стандартной смеси для калибровки. Регистрацию продуктов разделения проводили на хроматографе с аналитической колонкой Hypersil ODS (4,6 x 250 мм, 5 мкм) и флуоресцентным детектором Agilent 1100 (США) (длина волны возбуждения — 230 нм, длина волны испускания — 392 нм). Подвижная фаза для определения нейромедиаторных аминокислот состояла из 0,06 M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>\*H<sub>2</sub>O, 0,0032 M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,025 mM ЭДТА, и 1,24 mM CH<sub>3</sub>OH, pH=5,6. Скорость подвижной фазы составляла 1.0 мл/мин. Регистрация образцов проводилась с применением аппаратно-программного комплекса Agilent ChemStation v.B.04.02

## 2.7 Молекулярные исследования

Для анализа молекулярных механизмов нейробиологических эффектов ионизирующего излучения использовали метод обратной транскрипции и ПЦР в реальном времени (qRT-PCR). Исследования выполнялись на тканях мозга крыс.

Анализировали экспрессию мРНК белков, соответствующих ключевым ферментам и рецепторам дофаминергической системы – тирозингидроксилазе (TH),monoаминоксидазе (MAO-A), дофаминовому транспортеру (DAT), дофаминовому D1-рецептору, а также серотониновому 5-HT1A-рецептору. Для анализа брали части тех же проб, что и для нейрохимического исследования: гиппокамп, префронтальную кору, гипоталамус и таламус.

Также проводилось исследование изменений, возникающих в гиппокампе в работе SNARE-комплекса, представляющего собой большую группу внутриклеточных белков (у млекопитающих насчитывается около 60 молекул), осуществляющих слияние внутриклеточных транспортных везикул с клеточной мембраной или органеллой-мишенью. Исследованы были ключевые белки: синтаксин 1 и SNAP-25 в изоформах А и В, синаптобревин, альфа-синуклеин, комплексин, синаптотагмин, DNAJ5 и Munc18.

Суммарную РНК экстрагировали из исследуемых участков мозга животных, используя ExtractRNA (Evrogen, Россия), хлороформ и этиловый спирт, согласно инструкции производителя. Обратная транскрипция выполнялась с использованием набора ОТ-1, включающем в себя MMLV RT и случайные гексапраймеры (НПК Синтол, Россия) по инструкции производителя. Уровни экспрессии генов анализировали с помощью qRT-ПЦР, используя набор ПЦР-комплект R-402 (Набор реагентов для проведения ПЦР-РВ в присутствии красителя SYBR Green I) (НПК Синтол, Россия). Амплификация производилась с помощью термоцикlerа BioRad CFX96 (Bio-Rad, США) с  $\beta$ -актином в качестве эталонного гена для всех образцов. Список использованных праймеров дан в таблице 2.1. Полученные данные очищались (отбрасывались результаты, полученные позже 34-го цикла) и обрабатывались стандартным методом delta-delta-Ct для получения

относительного значения экспрессии [Livak, 2001]. Результаты анализировались с помощью теста Дункана и представлены в виде среднего  $\pm$  SE.

Таблица 2.1. Праймеры для ПЦР

Мишень	Прямой	Обратный
$\beta$ -Actin	5'-сactgcccgcattcttcctt-3'	5'-aaccgctcattgccatgtg-3'
TH	5'-tcggaagctgattgcagaga-3'	5'-ttccgcgtgtattccacatg-3'
D <sub>1</sub>	5'-cttcgatgttttgtggttt-3'	5'-tcttccttcaggcctcag-3'
DAT	5'-aatgctccgtgggaccaatg-3'	5'-caataaccatgaagagcagg-3'
MAO-A	5'-gccaggaacggaaatttta-3'	5'-tctcagggtggaaagctctgg-3'
5-HT <sub>1A</sub>	5'- gatctcgctcactggctca-3'	5'-acttcctgacagtctgcg-3'
SFC VAMP-2	5' - gcatctccatacccttca - 3'	5' - tttaggggtctgagggta - 3'
STX – 1a	5' – atgaaggaccgaacccaggagc -3'	5' – tctatccaaagatccccca - 3'
SNAP-25a	5'-aggacgcagacatgcgtaatgaactggagg-3'	5'-ttggttgatatggttcatgccttcgacacga-3'
Munc18	5'-agacatcatgaccgagggga-3'	5'-agacggggtgatgaggtaca-3'
SYT	5'-cttgtcccacacaatgccact-3'	5'-aaggaccgcaactatggct-3'
CPX-1	5'-atggagttcgatgaaacaag-3'	5'-ttacttctgaacatgtcctgca-3'
CPX-2	5'-atggacttcgtcatgaagca-3'	5'-atggacttcgtcatgaagca-3'
CSP-a	5'- aaggcgctgtcgtcgtctg -3'	5' – aaggcgctgtcgtcgtctg -3'

## 2.8 Обработка данных

Исходные данные поведенческого тестирования крыс – собранные вручную (для тестов «Открытое поле» и «Приподнятый крестообразный лабиринт»), либо полученные в виде текстовых таблиц от установок (Y-лабиринт, камера Симонова) или ПО (лабиринт Морриса) – сводились в таблицы MS Excel и обрабатывались в пакете Statsoft Statistica 8. Для проверки достоверности использовался непараметрический критерий Уилкоксона, уровень значимости принят как 0.05 (в случае, если на соответствующем графике явно не указано иное); пары значений,

различия в которых соответствуют этому критерию, отмечены на графиках звездочкой. Для построения графиков использовался MS Excel.

Результаты нейрохимических исследований выражали в виде средних величин  $\pm$  стандартная ошибка среднего. Полученные результаты анализировали с помощью односторонней ANOVA и апостериорного теста Дункана.

Данные ПЦР-амплификации, полученные от установки, очищались (отбрасывались результаты, полученные позже 34-го цикла) и обрабатывались стандартным методом delta-delta-C<sub>t</sub> для получения относительного значения экспрессии [170]. Результаты анализировались с помощью теста Дункана и представлены в виде среднего  $\pm$  SE.

**В первом эксперименте** с обезьянами для статистической обработки полученных данных был применен критерий Колмогорова-Смирнова [171]. Малая выборка в совокупности со значительным индивидуальным разбросом между животными делает применение стандартных методов матстатистики малопродуктивным. В частности, ввиду сильных индивидуальных отличий, понятие контрольной группы для обезьян не имеет смысла; наиболее адекватным контролем являются фоновые результаты самого животного, полученные до воздействий.

Это послужило основанием для разработки адаптации специализированного статистического метода, разработанного в ИМБП [172].

**Во втором эксперименте** для статистической обработки данных использовался однофакторный дисперсионный анализ. Основная математическая идея дисперсионного анализа состоит в применении критерия Фишера для оценки различия средней межфакторной и средней внутрифакторной дисперсий (именно поэтому в названии этого метода и присутствует термин дисперсионный) [173]. Межфакторная дисперсия характеризует собственно влияние фактора на отклики, поскольку представляет дисперсию средних значений для групп откликов относительно общего среднего для всей совокупности откликов. Внутрифакторная дисперсия (или остаточная дисперсия) характеризует влияние случайных причин, разброс значений внутри каждой группы откликов относительно среднего для этой группы. Чем больше межфакторная дисперсия по сравнению с остаточной, тем

больше влияние фактора на отклики на фоне случайной вариабельности внутри каждой группы [174]. В зависимости от получаемых результатов мы применяли методы анализа, изложенные в работе [175].

При анализе нейрохимических показателей для выявления статистически значимых различий между показателями в группах облученных и контрольных животных использовали однофакторный дисперсионный анализ. Апостериорные сравнения средних осуществлялись по критерию наименьшей значимой разности – LSD (ANOVA). Для установления общего направления сдвига в концентрациях веществ после облучения использовали непараметрический критерий Z-знаков. Статистически значимыми считались различия на уровне достоверности  $p < 0,05$ . Значения  $p$  от 0.05 до 0.1 рассматривались в качестве выраженной тенденции. Конечные результаты измерений выражались в виде средних величин  $\pm$  стандартная ошибка среднего.

## Заключение

Используемый арсенал методов позволяет моделировать и изучать воздействие факторов дальнего космического полета на крысах и обезьянах таким образом, чтобы, во-первых, получить максимальное представление о характере и природе возникающих когнитивных нарушений, а во-вторых, обеспечить максимально возможное единство при работе с различными животными.

Важную роль играет учет генетически обусловленных типологических особенностей высшей нервной деятельности. Для крыс используется модифицированная методика эмоционального резонанса по П.В. Симонову, для обезьян – типология по И.П. Павлову.

Для оценки когнитивных способностей на высшем – интегративном – уровне у крыс используется батарея тестов, состоящая из тестов, задействующих различные аспекты когнитивной деятельности – обучение (УРАИ и лабиринт Морриса) и ориентировочно-исследовательскую деятельность («открытое поле» и приподнятый крестообразный лабиринт). Для обезьян используется сложный компьютерный тест, максимально имитирующий реальную операторскую

деятельность и тем самым задействующий основные механизмы высшей нервной деятельности от простых до абстрактных: реакцию на стимул, моторные навыки, работу курсором, выбор объекта по образцу, предсказание траектории.

На нейрохимическом уровне оценивается метаболизм ключевых нейромедиаторов – у крыс прямым измерением в пробах таламуса, гиппокампа, гипоталамуса и коры мозга, у обезьян – косвенно, по выделению метаболитов в периферическую кровь.

На молекулярном уровне исследуются изменения концентраций ключевых элементов метаболизма нейромедиаторов – белков SNARE-комплекса, рецепторов дофамина и серотонина и ферментов, обеспечивающих этот метаболизм: моноаминоксидазы, тирозингидроксилазы.

Ключевую роль играет методика комплексного моделирования факторов дальнего космического полета и составляющие ее методы:

- модельная невесомость (антиортостатическое взвешивание для крыс, антиортостатическая гипокинезия – для обезьян),
- длительное гамма-облучение,
- облучение головного мозга или его отделов высокоэнергетическими ионами  $^{12}\text{C}$  либо протонами.

Применение на разных видах животных широкой совокупности методов моделирования и исследования вкупе с современными методами обработки полученных данных позволяет проводить достоверные высокоточные эксперименты, направленные на оценку нарушений функций ЦНС в диапазоне от элементарных до высших.

## ГЛАВА 3. НЕЙРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ КОМПОНЕНТОВ ГКЛ

### 3.1 Радиационный риск межпланетных полетов

Ключевым риском, ставящим под сомнение саму возможность пилотируемых полетов за пределами магнитосферы Земли, является угроза здоровью экипажа, возникающая вследствие воздействия солнечных и галактических космических лучей. При выполнении орбитальных полетов космический аппарат постоянно находится в пределах магнитосферы, отклоняющей заряженные частицы, и порядка 50% времени (в зависимости от орбиты) экранирован от солнечного ветра самой планетой. По мере удаления от планеты значительную роль – переходящую в определяющую на расстоянии порядка 6 тыс. км – приобретает воздействие солнечных космических лучей (СКЛ), представленных преимущественно протонами с энергиями до  $10^{18}$  эВ. При удалении от Солнца плотность потока протонов от СКЛ снижается, но растет плотность потока галактических космических лучей (ГКЛ), включающих помимо протонов также более тяжелые частицы. Компьютерное моделирование, проведенное в работе [176] на основе данных о составе ГКЛ, полученных в ходе наземных измерений и с аппаратов «Вояджер», дает следующие оценки частоты поражения различных областей нервной системы в ходе трехлетней Марсианской миссии:

- от 2% до 13% «критических областей» ЦНС (гиппокамп, базальное ядро, желтое пятно глазного дна, таламус) будут поражены ионом железа (наиболее вероятно -  $^{56}\text{Fe}$ ) минимум единожды;
- порядка 6 млн. из 43 млн. клеток гиппокампа и 55 тыс. из 1.8 млн. клеток таламуса будут поражены ионом железа;
- порядка 20 млн. клеток гиппокампа и 230 тыс. клеток таламуса будут поражены ионом с зарядом ядра ( $Z > 15$ );
- каждое клеточное ядро будут поражено протоном приблизительно раз в три дня.

Очевидно, столь значительная вероятность поражения требует специального исследования воздействия компонентов СКЛ и ГКЛ на функции ЦНС организма. В частности, в работе [28] и ряде других, выпущенных до появления биологических стендов на ускорителях ТЗЧ и получения массива экспериментальных данных, утверждается о принципиальной невозможности пилотируемых полетов за пределами земной магнитосферы. По большей части эти утверждения базируются на исследовании [29], обнаружившем чрезвычайно высокую ОБЭ ионов  $^{56}\text{Fe}$ , которое долгое время оставалось единственным и впоследствии в значительной мере опровергнуто, однако и по сей день встречаются утверждения о принципиальной невозможности выхода за пределы магнитосферы.

Неопределенность в данном вопросе проистекает из принципиального отличия механизмов взаимодействия ТЗЧ с веществом: если для гамма-кванта это чисто стохастический процесс, который с определенной вероятностью сводится к передаче энергии кванта атому (молекуле) вещества, то для ТЗЧ процесс приближается – по мере роста массы частицы – к механическому взаимодействию, влекущему потерю энергии самого иона и разрушение собственно материи.

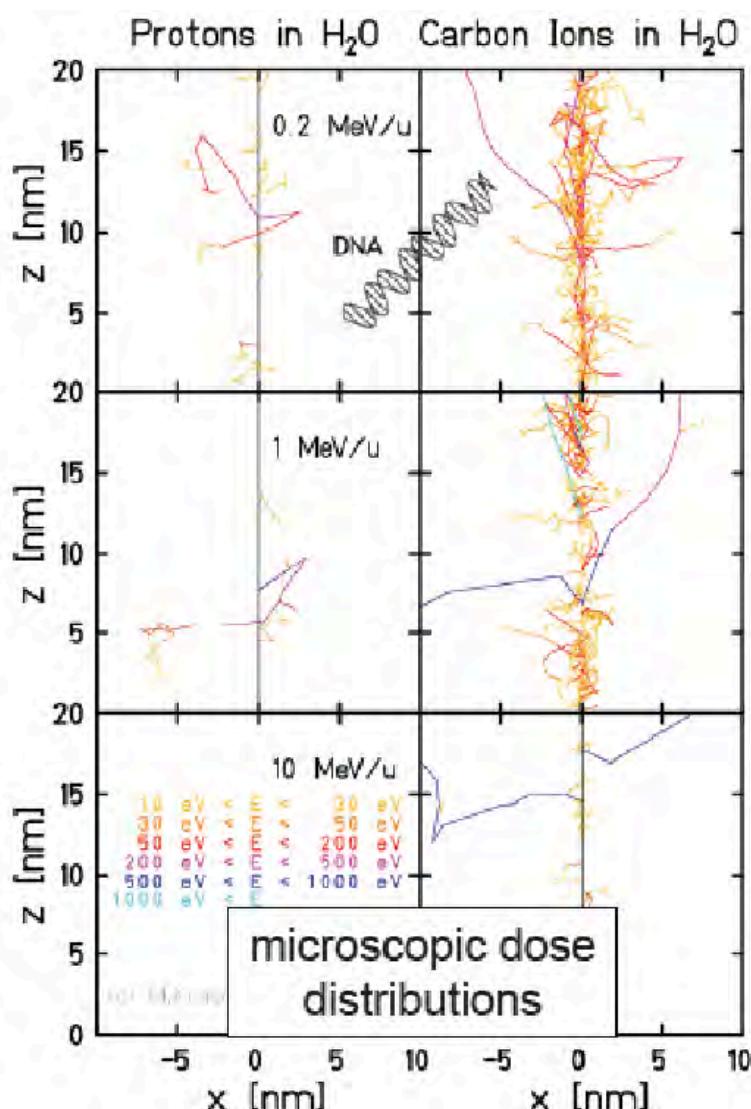
Соответственно, существует два взаимодополняющих подхода, описывающих действие ТЗЧ с живой тканью на нижнем, «клеточно-физическом», уровне.

Стохастический подход учитывает нарушения, возникающие в клетках (повреждения мембран, разрывы ДНК и т.п.), на основе значения ЛПЭ.

Механистический же подход исходит из картины формирования кластеров пораженных частиц на пути пролета иона, причем поражение происходит не только за счет непосредственного (первичного) взаимодействия с самим ионом, но и за счет вторичного, по большей части электронного, излучения, формирующего поперечное сечение трека ионизации. Плотность вторичных электронов, в свою очередь, прямо пропорциональна квадрату заряда ( $Z$ ) частицы и служит в физике достаточно точным способом измерения спектра частиц при мониторинге излучения. Трек ионизации, оставляемый в водной среде ионом углерода с низкой энергией, т.е. вблизи пика Брэгга, превосходит по поперечному размеру спираль

ДНК (рисунок 3.1), что означает, соответственно, крайне высокую вероятность гибели клетки, пересеченной ионом [177].

Стохастический подход пригоден для математического моделирования, выражающегося в определении количества и характеристик вторичных электронов, однако в биологии получаемые при этом величины ОБЭ – как было рассмотрено ранее и неоднократно подтверждено в экспериментах, проделанных в рамках настоящей работы – носят достаточно абстрактный характер, вплоть до принципиального расхождения с экспериментальными данными, что делает очевидно необходимым исследование именно биологических эффектов воздействия ТЗЧ.



*Рисунок 3.1 – Треки протонов и ионов углерода с разными энергиями – 0.2, 1 и 10 МэВ/мкм в сравнении со спиралью ДНК*

К настоящему времени эффекты обосабленного воздействия как протонов, так и ионов на ЦНС исследованы достаточно хорошо, и имеется значительное число публикаций по данной тематике, ввиду чего такие эксперименты не составили значительной части настоящей работы, являясь в значительной мере вспомогательными. Вместе с тем отказаться от проведения таких исследований вовсе не представлялось возможным по ряду причин.

Во-первых, заложенная в работу концепция рассмотрения реакции ЦНС на всех уровнях – интегративном, нейрохимическом и молекулярном – требует сбора соответствующих данных на одной и той же выборке животных, ставя целью установить связь между проявлениями эффекта на разных уровнях.

Во-вторых, исследований такого рода на обезьянах выполнено ничтожно мало: по сути, первой работой стороннего коллектива является [49], основанная на эксперименте 2023 года, тогда как в рамках данной работы схожий эксперимент был проведен одним из первых в цикле, в начале 2017 года.

Наконец, перед построением модели комплексного воздействия следовало решить техническую и методическую задачи организации облучения животных и отработать саму технологию воздействия.

### **3.2 Исследование воздействия облучения ионами $H^+$ на механизмы синаптической передачи у крыс**

Один из первых экспериментов данной работы был проведен на крысах в 2017 году и опубликован (с задержкой по ряду причин) в [178]. Целью исследования являлось изучение последствий протонного воздействия на головной мозг на интегративном уровне с учетом типологических особенностей ВНД и поиск возможного механизма изменений на уровне синаптического трафика, реализуемомо белками SNARE (soluble NSF attachment receptor)-комплекса в гиппокампе.

SNARE-комплекс представляет собой большую группу внутриклеточных белков (у млекопитающих насчитывается около 60 молекул), осуществляющих

слияние внутриклеточных транспортных везикул с клеточной мембраной или органеллой-мишенью. Для изучения изменения работы SNARE-комплекса были проанализированы изменения экспрессии генов, кодирующих ключевые белки, входящие в его состав или опосредованно связанные с его работой.

В качестве анализируемой структуры был выбран гиппокамп, являющийся наиболее очевидной мишенью для ионизирующих излучений в силу наличия в нем зоны активного нейрогенеза. Оценивалось содержание белков: синтаксина 1 и SNAP-25 в изоформах А и В, синаптобревина, альфа-синуклеина, комплексина, синаптотагмина, DNAJ5 и Munc18.

Синтаксин-1 и SNAP-25 составляют одну из ключевых структур SNARE-комплекса, обеспечивая слияние мембран. Синаптобревин, как часть VAMP-системы, находится на поверхности мембраны доставляемой пресинаптической везикулы. Альфа-синуклеин – специфический белок, находящийся в пресинаптических терминалях, который играет определенную роль в поддержании постоянного количества синаптических везикул в пресинаптических терминалях путем их кластеризации [179], [180]). Другой функцией данного белка можно назвать регулирование высвобождения дофамина в синаптическую щель; кроме того, при болезни Паркинсона показано патологическое накопление данного белка в виде телец Леви [181], [180]. Биохимические и генетические данные, полученные в том числе и на трансгенных животных, свидетельствуют о том, что синаптотагмин функционирует в качестве датчика содержания ионов  $\text{Ca}^{2+}$ , существенно ускоряя высвобождение нейромедиаторов за счет присоединения синаптических пузырьков с пресинаптической мембраной при взаимодействии со SNAP-25 [182], [183].

Munc18 связывается синтаксином и образует с ним единый комплекс, регулирующий обратный захват везикул [184]. Кроме этого, стоит отметить, что изоформа Munc 18-1 играет и другие роли в процессе экзоцитоза и повышает стабильность синтаксина [185].

Комплексин также участвует в работе SNARE-комплекса, он действует как ингибитор и катализатор синаптических везикул, модулируя высвобождение нейромедиатора. В одной конформации комплексин зажимает комплексы SNAREpin, предотвращая слияние везикул, в то время как в другой конформации

он освобождает SNAREpins, позволяя синаптотагмину вызвать слияние мембранны [186]. Стоит отметить, что комплексин не является необходимым белком для экзоцитоза синаптических везикул, однако он увеличивает высвобождение нейромедиаторов на 60 – 70%, как показали нокаут-мыши, трансгенные по синтезу комплексина [187].

Типологизация животных проводилась по методике, описанной в разделе 2.2, в течение двух дней. В результате из исходного пула в 32 животных были сформированы три группы: «тревожные» (они же «Альтруисты» в терминологии Симонова), «нетревожные» («Эгоисты») и «контроль», по 8 животных в группе. Параметры типологизации даны в таблице 3.1 – среднее и медианное для группы время нахождения в темном отсеке камеры Симонова и число входов-выходов в темный отсек.

Таблица 3.1. Типологизация животных, эксперимент «синаптический трафик»

Параметр\Группа	Общая	«Нетревожные»	«Тревожные»	«Контроль»
Время сред., сек.	252	121	294	258
Входы, ед.	3.4	7.8	1	2.8
Время медиана, сек.	281	130	294	278

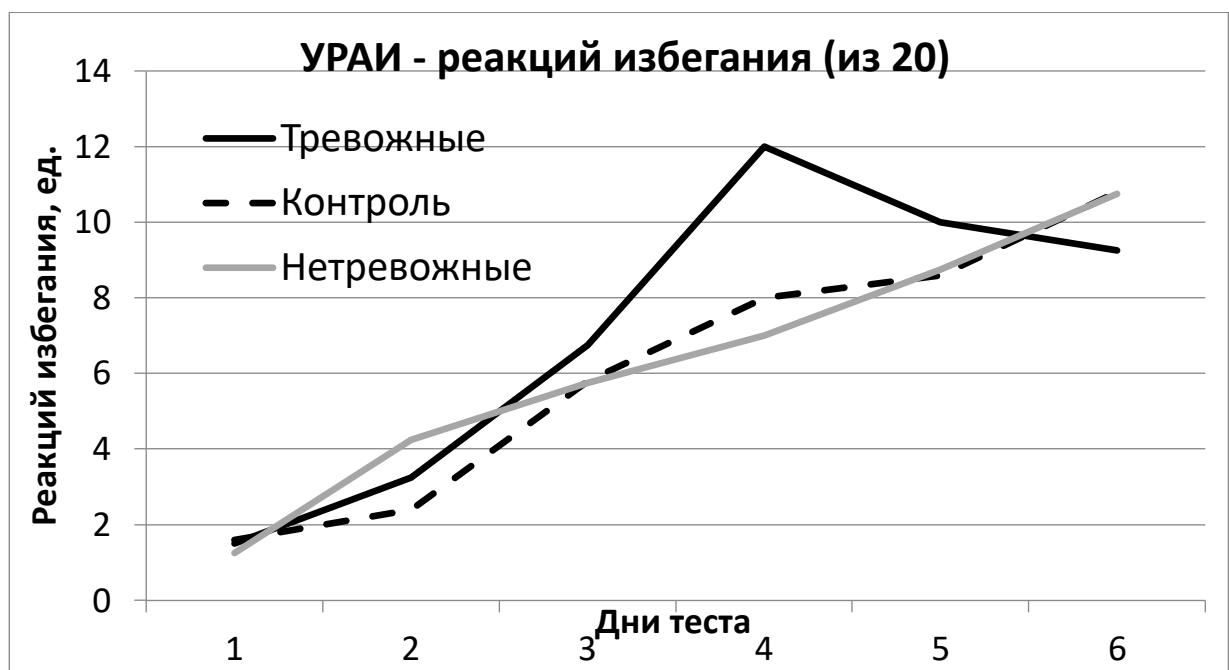
Обучение животных после воздействий было проведено по методике УРАИ в челночной камере. Динамика изменения числа реакций избегания (т.е. формирования рефлекса) представлена на рисунке 3.2.

Первые 4 дня обучение (тестирование) проводится ежедневно. Затем делается перерыв на 14 дней, за которым следует 5-й день тестирования, снова перерыв 14 дней – и 6-й день тестирования и т.д.

Видно, что в течение первых 4 дней обучения «тревожные» (т.е. с более возбудимой нервной системой) животные обучаются быстрее. На 5-й и 6-й дни тестирования возбудимые животные начинают утрачивать ранее выработанный

рефлекс. В то же время статистически достоверных различий между группами не наблюдается.

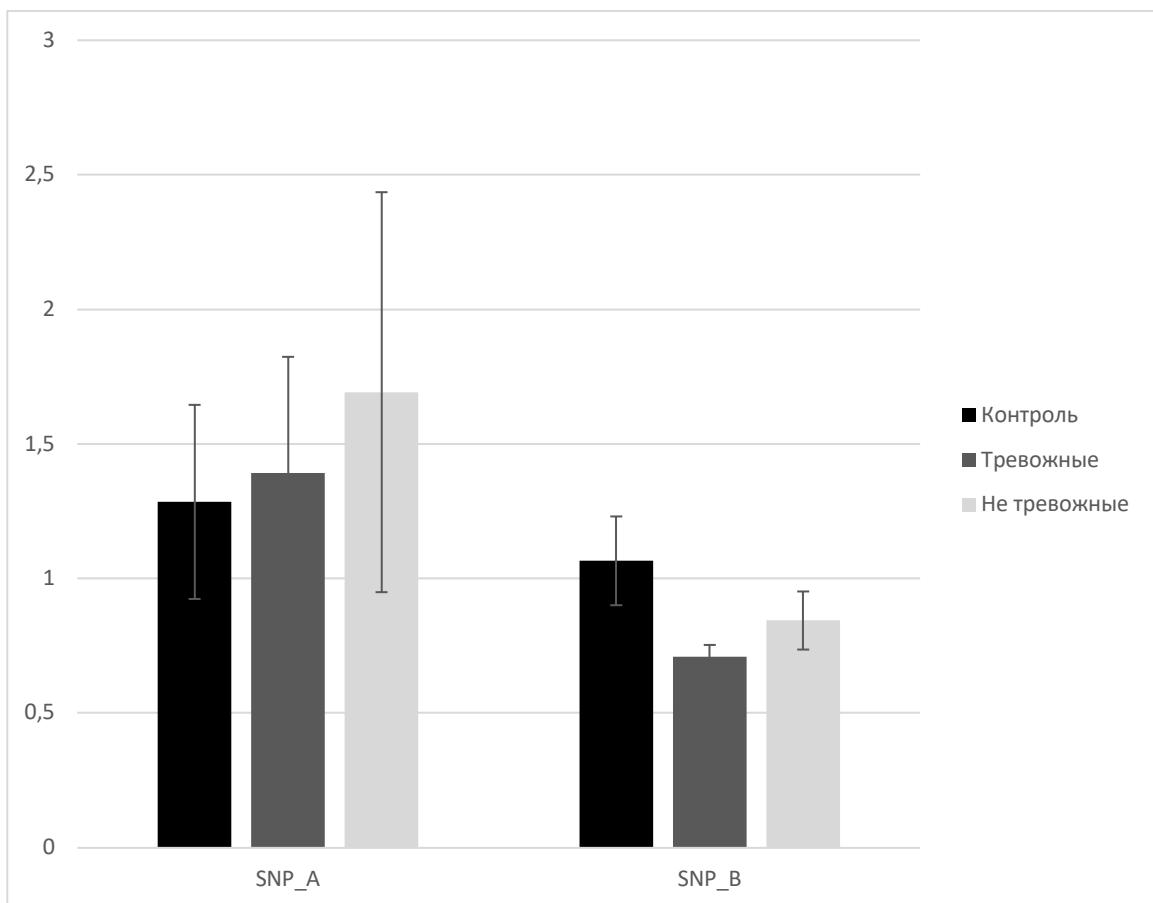
Для моделирования радиационного фактора космического полета в наземном эксперименте было проведено однократное облучение головы животных протонами в дозе 1 Гр с энергией 170 МэВ на протонном ускорителе на базе Медицинского радиологического научного центра им. А.Ф.Цыба (Обнинск). Выбор режима облучения основывался на том, что протоны составляют значимую часть галактического космического излучения (более 90 %). Характеристики облучения были подобраны исходя из видовой радиочувствительности крыс, в соответствии с расчетной дозой, которая может быть получена космонавтами в межпланетном полете.



*Рисунок 3.2 – Динамика формирования УРАИ у животных разных типологий*

После завершения поведенческого тестирования был проведен анализ экспрессии генов белков, входящих в состав SNARE-комплекса.

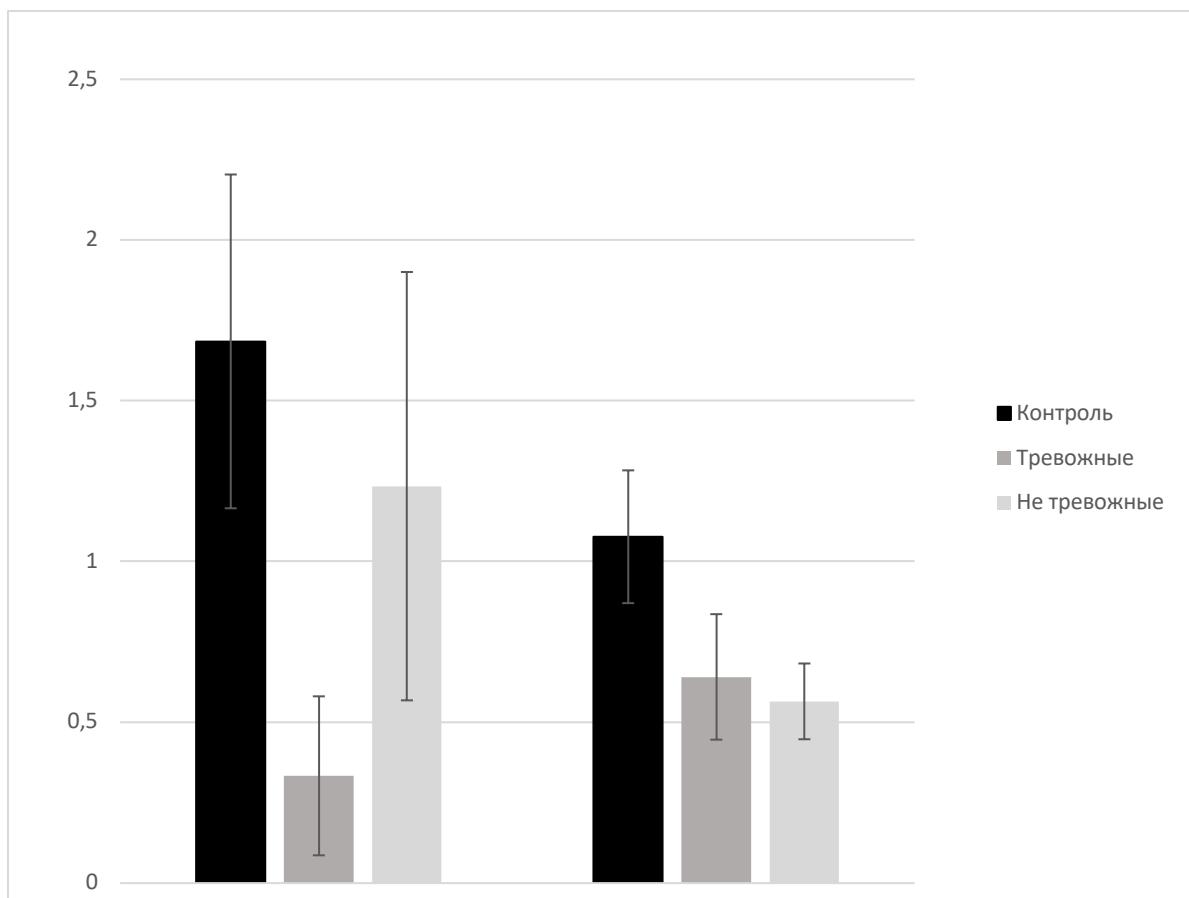
Сравнение экспрессии генов, кодирующих белки SNAP-25 А и В, приведено на рисунке 3.3.



*Рисунок 3.3 – Сравнение уровней относительной экспрессии генов, кодирующих белки SNAP-SNA25 A и B, между облученными и интактными крысами, разделенными в камере Симонова на тревожных и не тревожных*

Исходя из данных, представленных на рисунке 3.2, значимых изменений не наблюдается, хотя можно заметить тенденцию к уменьшению экспрессии SNAP-25B у группы «тревожных» животных по сравнению с контрольными и «нетревожными».

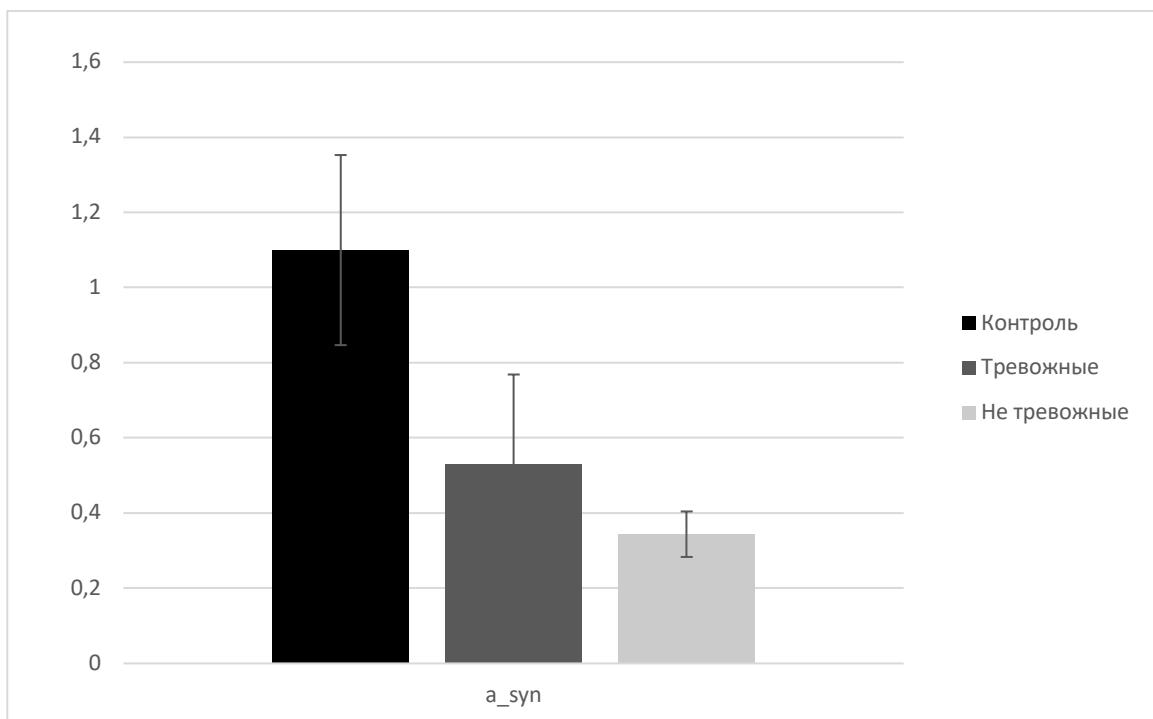
Сравнение экспрессии генов, кодирующих белки синтаксин-1 и синаптобревин, приведено на рисунке 3.4.



*Рисунок 3.4 – Сравнение уровней относительной экспрессии генов, кодирующих белки синаптобревин (VAMP) и синтаксин 1, между облученными и интактными крысами, разделенными в камере Симонова на тревожных и не тревожных*

Достоверных различий в экспрессии как синтаксина, так и синаптобревина, не наблюдается, однако можно заметить существенное снижение, более чем в два раза, в экспрессии синаптобревина у группы «тревожных» по сравнению с интактным контролем (на 80,19%) и группой «нетревожных» (на 72,97%). Полученные результаты могут быть связаны с высокой гетерогенностью данных в рамках одной группы совместно с малым числом исследованных животных (8 голов в каждой).

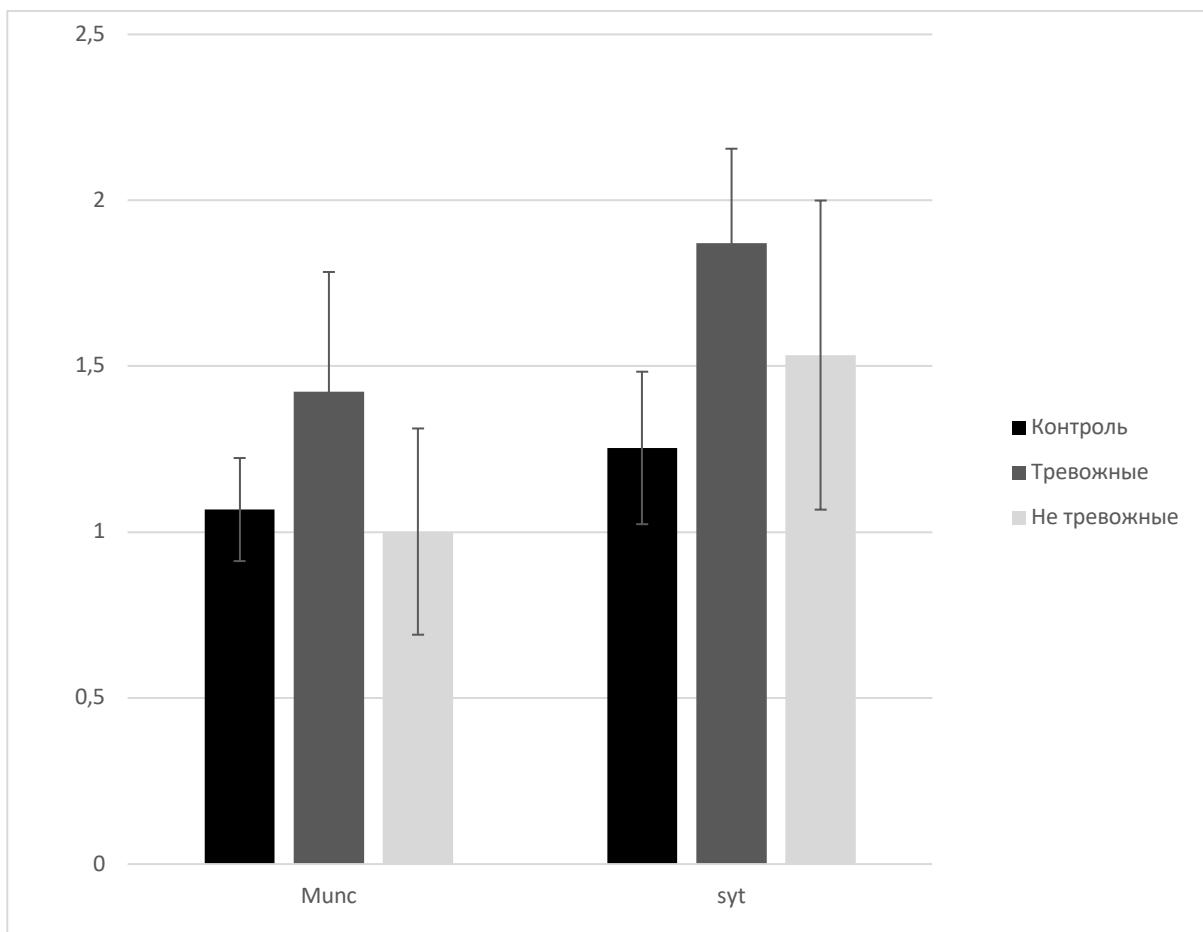
Сравнение экспрессии генов, кодирующих альфа-синуклеин, представлено на рисунке 3.5.



*Рисунок 3.5 – Сравнение уровней относительной экспрессии генов, кодирующих альфа-синуклеин, между облученными и интактными крысами, разделенными в камере Симонова на тревожных и не тревожных*

Можно наблюдать заметное снижение содержания альфа-синуклеина после облучения; кроме того, данные также отличаются в зависимости от тревожности крыс. Однако статистической значимости при подобном сравнении получено не было, что может быть связано с небольшой выборкой облученных животных.

Сравнение экспрессии генов, кодирующих белки tunc18 и синаптотагмин, показано на рисунке 3.6.

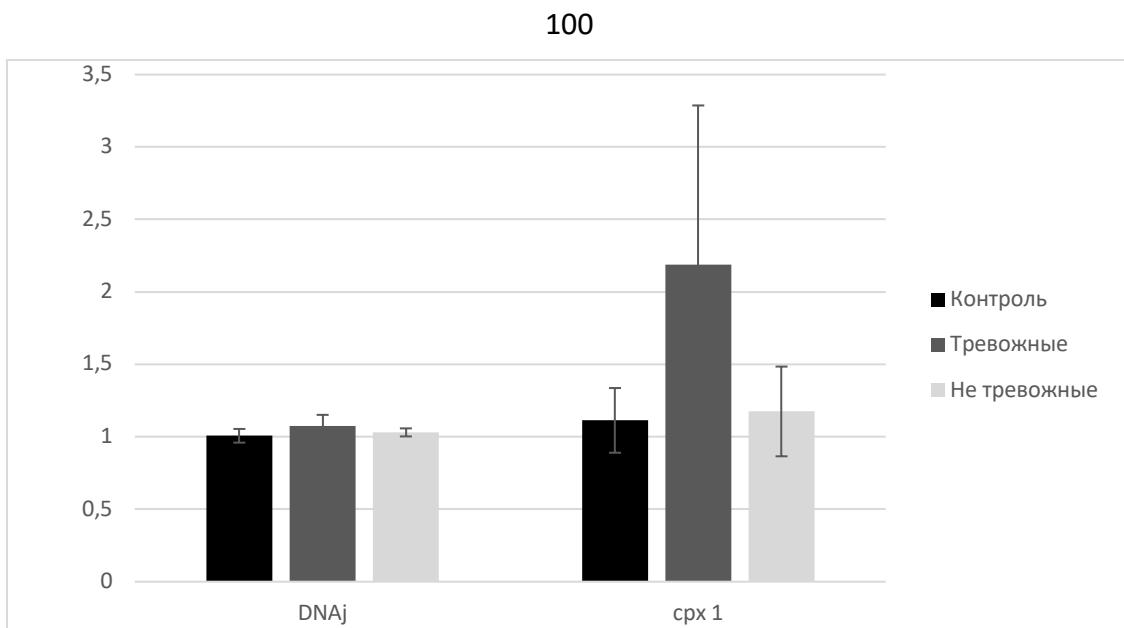


*Рисунок 3.6 – Сравнение уровней относительной экспрессии генов, кодирующих белки tunc18 и синаптотагмин, между облученными и интактными крысами, разделенными в камере Симонова на тревожных и не тревожных*

По результатам, представленным на рисунке 3.6, значимых изменений в содержании синаптотагмина и tunc18 не обнаружено.

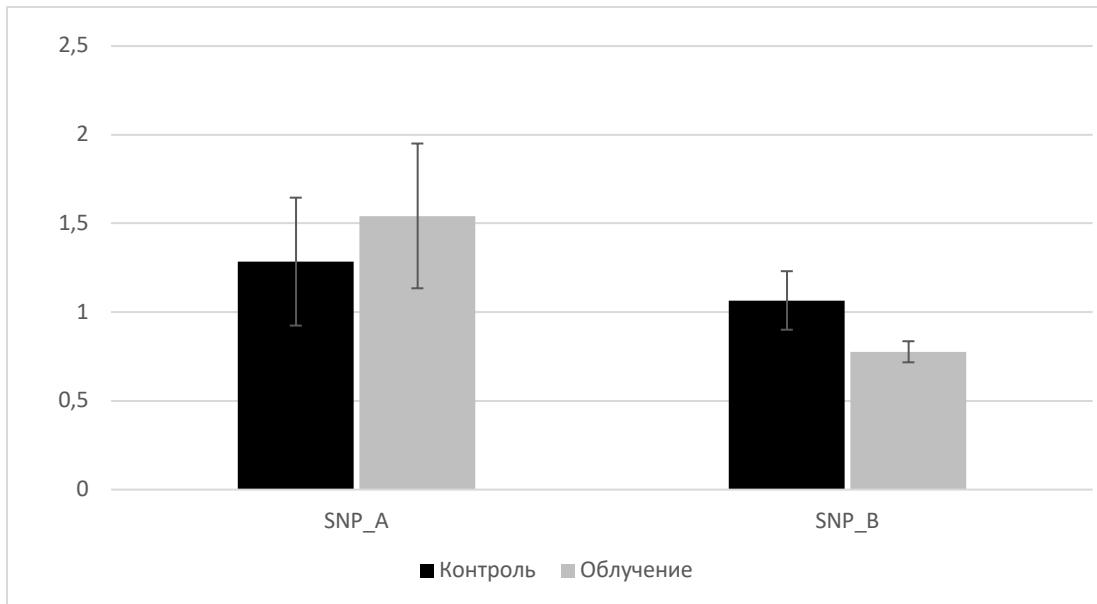
На рисунке 3.7 приведено сравнение экспрессии генов, кодирующих белки DNAJC5 и комплексин, между облученными и интактными крысами.

Статистически значимых различий в содержании комплексина и DNAJC5 между тревожными и не тревожными животными обнаружено также не было.



*Рисунок 3.7 – Сравнение уровней относительной экспрессии генов, кодирующих белки DNAJC5 и комплексин, между облученными и интактными крысами, разделенными в камере Симонова на тревожных и не тревожных*

Поскольку статистически значимых результатов между «тревожными», «нетревожными» животными и контролем обнаружено не было, было решено проанализировать различия в экспрессии генов между контролем и всеми облученными животными. Данные представлены на рисунках 3.8-3.12.



*Рисунок 3.8 – Сравнение уровней относительной экспрессии генов, кодирующих SNPA и SNPB, между облученными и контрольными крысами. Для SNPB  $p=0.0795$ ,  $F=3,5368$*

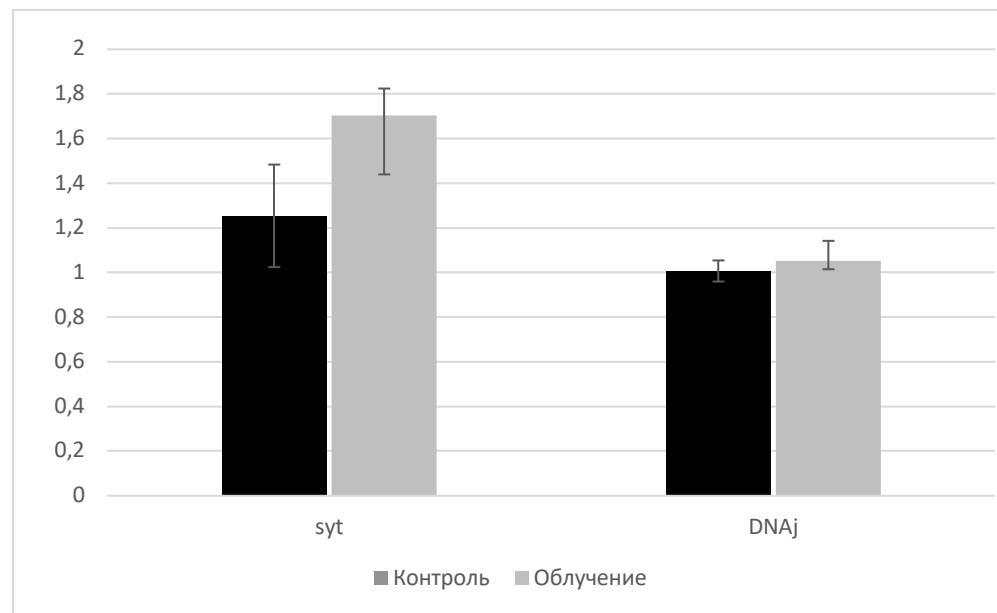


Рисунок 3.9 – Сравнение уровней относительной экспрессии генов, кодирующих синаптотагмин и *DNAJC5*, между облученными и контрольными крысами

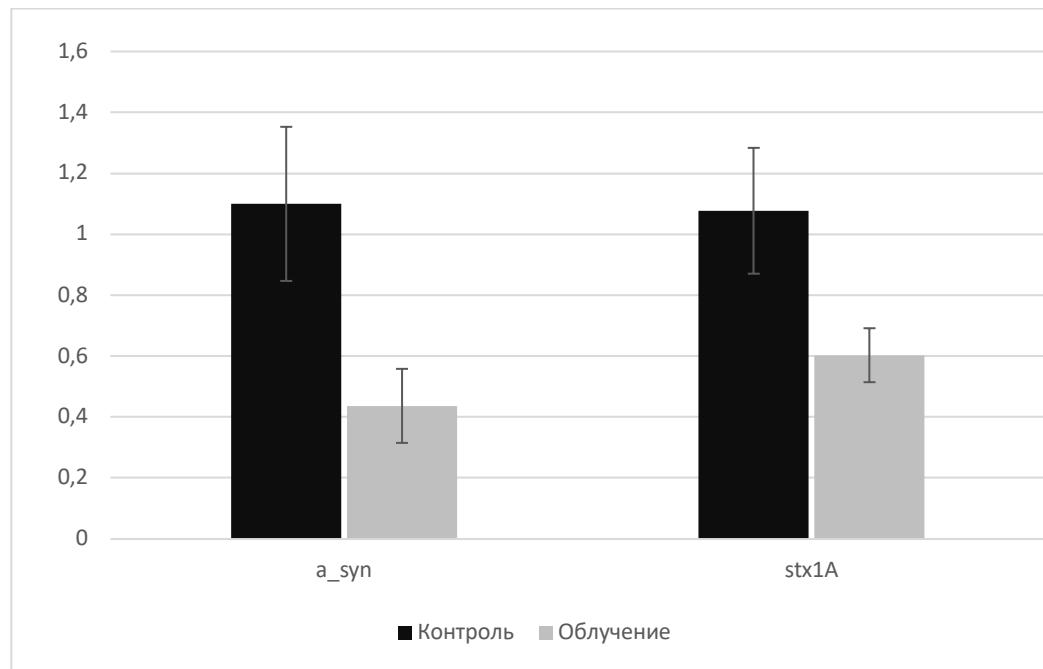
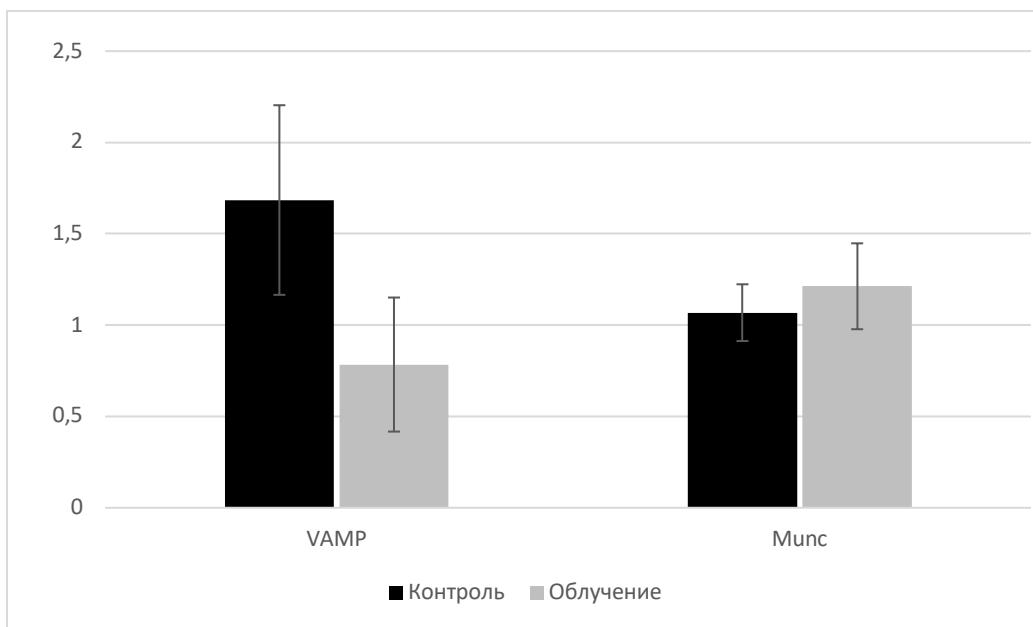
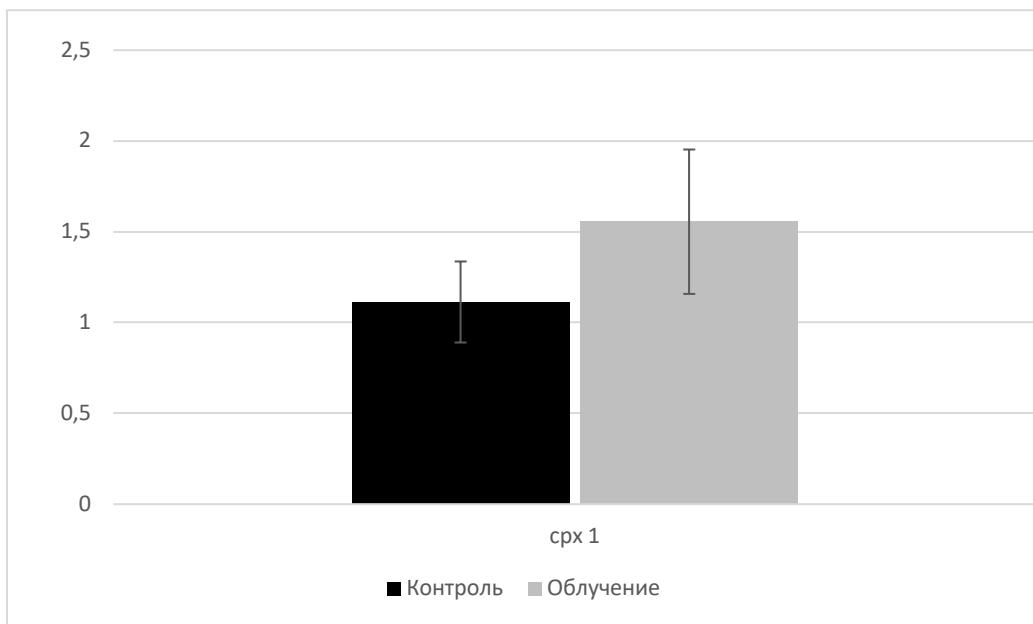


Рисунок 3.10 – Сравнение уровней относительной экспрессии генов, кодирующих альфа-синуклеин ( $p=0.02$ ,  $F=6,75268$ ) и синтаксин 1 ( $p=0.029$ ,  $F=5.935$ ), между облученными и контрольными крысами



*Рисунок 3.11. Сравнение уровней относительной экспрессии генов, кодирующих синаптобревин (VAMP) и тинс18, между облученными и контрольными крысами*



*Рисунок 3.12. Сравнение уровней относительной экспрессии генов, кодирующих комплексин 1, между облученными и контрольными крысами*

Статистически значимые различия наблюдаются в экспрессии синтаксина 1 и альфа-синуклеина. Кроме того, снижение экспрессии гена синаптобревина располагается в зоне, близкой к зоне достоверности.

Однозначный механизм работы альфа-синуклеина еще не до конца исследован [180]. По-видимому, альфа-синуклеин необходим для нормального развития когнитивных функций. Данный белок участвует в различных процессах, связанных с функционированием синаптической передачи. Мыши-нокауты с направленной инактивацией экспрессии альфа-синуклеина демонстрируют стойкие нарушения пространственного обучения и рабочей памяти [188]. Наблюдаемое снижение альфа-синуклеина может быть результатом адаптации к повышенному оксидантному стрессу, возникающему в результате облучения. Схожие результаты снижения экспрессии синуклеина наблюдаются у трансгенных мышей, полученных с целью создания модели старения [189].

Полученные данные свидетельствуют о наличии изменений в некоторых элементах SNARE-комплекса после облучения. Кроме того, есть косвенные свидетельства того, что изменения зависят от исходных типологических характеристик животных, однако недостаточная выборка не позволяет сделать однозначные выводы о работе SNARE-комплекса в гиппокампе у тревожных и не тревожных животных, что требует дополнительного изучения. Вместе с тем можно с достаточной уверенностью утверждать, что даже при отсутствии достоверных отличий на интегративном уровне (что, как будет показано далее, обусловлено, скорее всего, малой дозой) возникают нарушения на более низких уровнях – в частности, в механизме синаптической передачи. Из этого следует, что, по всей вероятности, нарушения более низких уровней являются первичными и до некоторых пор компенсируются на интегративном уровне, а по достижении определенного «порогового значения» проявляются и в поведении.

Одним из ключевых процессов, составляющих механизм воздействия корпуслулярного излучения на ЦНС, является нарушение нервной проводимости. Из результатов эксперимента следует, что это нарушение связано с изменениями в экспрессии генов, кодирующих ключевые белки, задействованные собственно в синаптической передаче – то есть, помимо непосредственного воздействия иона на нервное волокно, существенную роль играет также «химический» фактор.

### **3.3 Исследование воздействия ионов $^{78}\text{Kr}$ на нейромедиаторную систему обезьян**

В эксперименте на макаках [180] проведена оценка краткосрочных эффектов облучения ядрами тяжелых элементов: 4 самца макак-резусов были подвергнуты облучению головы ядрами криптона  $^{78}\text{Kr}$ : затылочная область головы была облучена узким пучком эллиптического сечения размерами по осям 7 x 17 мм при максимальной дозе в центре пучка 3 Гр. Несмотря на то, что затронута была небольшая часть головного мозга, в эксперименте обнаружились существенные достоверные отличия в биохимических показателях периферической крови – скачки уровня щелочной фосфатазы, рост содержания триглицеридов, изменения количества эритроцитов, уровней гемоглобина и гематокрита – что свидетельствует о наличии острой воспалительно-подобной реакции организма. Указанные показатели, равно как и число разрывов ДНК, могут служить критерием «биологической дозиметрии».

На нейрохимическом уровне эффекты облучения проявились длительно формирующейся картиной угнетения дофаминergicкой системы. Через 34 часа после облучения концентрации предшественника дофамина L-DOPA и серотонина (5-HT) снизились: концентрация L-DOPA – до 72 % ( $p = 0,064$  – выраженная тенденция), а концентрация 5-HT – до 31 % ( $p = 0,023$  – достоверное снижение) относительно показателей контрольной группы.

На 40-е сутки после однократного облучения ионами криптона концентрация исследуемых веществ также снизилась: концентрация предшественника дофамина, L-DOPA – до 52 %, а концентрация метаболита DA (DOPAC) – до 39 % относительно показателей контрольной группы. Концентрация NA снизилась до 65 % (выраженная тенденция,  $p = 0,065$ ).

Концентрации этих веществ на 40-е сутки снизилась по отношению к уровням, наблюдавшимся спустя через 34 ч после облучения: концентрация DA – до 73 %, DOPAC – до 27 %, а концентрация NA до 37% (выраженная тенденция,  $p = 0,065$ ). Сводные данные представлены в таблице 3.2.

Таким образом, однократное облучение ионами криптона через 34 ч вызывает достоверное снижение концентрации серотонина и выраженную тенденцию снижения концентрации предшественника DA (L-DOPA) в плазме крови обезьян. Через 40 сут нарушения в обмене моноаминов, вызванные облучением, усиливаются.

Таблица 3.2. Изменения концентраций нейромедиаторов после воздействия  $^{78}\text{Kr}$

	<b>L-DOPA</b>	<b>NA</b>	<b>5-HT</b>	<b>DA</b>	<b>DOPAC</b>
Контроль	$4,27 \pm 0,41$	$2,26 \pm 0,21$	$14,04 \pm 1,91$	$0,22 \pm 0,07$	$16,11 \pm 2,06$
34 часа	$3,08 \pm 0,21^*$	$4,00 \pm 0,95$	$4,34 \pm 2,00^*$	$0,61 \pm 0,21$	$23,40 \pm 3,41$
$P_{34/\text{контроль}}$	0,064	0,173	0,023	0,184	0,184
40 суток	$2,24 \pm 0,17^*$	$1,46 \pm 0,22^*$	$32,19 \pm 13,97$	$0,32 \pm 0,10$	$6,32 \pm 0,78^*$
$P_{40/\text{контроль}}$	0,007	0,065	0,307	0,473	0,009
$P_{40/34}$	0,034	0,065	0,138	0,340	0,006
	<b>HVA</b>	<b>3-МТ</b>	<b>5-HIAA</b>	<b>A</b>	
Контроль	$8,36 \pm 2,11$	$1034,54 \pm 145,05$	$12,90 \pm 3,79$	$2,25 \pm 0,42$	
34 часа	$8,15 \pm 2,63$	$1092,80 \pm 74,76$	$11,72 \pm 3,87$	$1,46 \pm 0,24$	
$P_{34/\text{контроль}}$	0,773	0,768	0,856	0,208	
40 суток	$14,39 \pm 2,53$	$1604,28 \pm 217,98$	$22,72 \pm 3,65$	$1,69 \pm 0,47$	
$P_{40/\text{контроль}}$	0,163	0,109	0,157	0,473	
$P_{40/34}$	0,189	0,103	0,124	0,712	

$P_{34/\text{контроль}}$  – уровень доверия группы «34 часа» относительно контроля;

$P_{40/\text{контроль}}$  – уровень доверия группы «40 суток» относительно контроля;

$P_{40/34}$  – уровень доверия группы «40 суток» относительно группы «34 часа»;

Значимые ( $p < 0,05$ ) различия отмечены звездочкой

Схожие результаты были получены в эксперименте на крысах [191], получавших облучение всей головы протонами 150 МэВ и ионами  $^{12}\text{C}$  500 МэВ/н. По-видимому, развитие нарушений связано с исследованным в вышеописанном эксперименте с крысами повреждением проводимости нервных волокон, выходящих из черной субстанции и формирующих таламокортикальные и

таламостриатные циркулирующие сети. Вторая циркулирующая система – это мезолимбическая, мезокортикальнаяmonoаминергическая система, которая формирует замкнутые циклы эмоционально-мотивационных состояний [79]. Оба эти цикла выходят из черной субстанции и возвращаются в нее. Нарушение хотя бы одного элемента в этих циклах приведет к тому, что нарушения начнут нарастать и усиливаться.

Нарушенная в результате облучения реакция циркулирующих систем мозга получает, по-видимому, реакцию обратной связи от дофаминергической системы в виде изменения концентраций нейромедиаторов, а уже эта компенсирующая реакция «выводится» на периферию, в частности, в кровь, через гипофиз.

## **Заключение**

Проделанные исследования, посвященные воздействию только корпскулярного облучения, служащего моделью ГКЛ, имеют ряд как фундаментальных, так и прикладных результатов.

**Во-первых**, в значительной степени подтверждены данные (в частности, [44], [80]) о том, что в основе нарушений, возникающих в ЦНС вследствие корпскулярного облучения, лежит нарушение нервной проводимости. Более того, исследованы и конкретные механизмы этого нарушения, а именно – изменения в работе SNARE-комплекса.

**Во-вторых**, показано, что нарушения более низкого – молекулярного – уровня первичны и могут до определенных пределов не проявляться в поведенческих функциях, по-видимому, в силу компенсаторных процессов.

**В-третьих**, показано, что на нейрохимическом уровне нарушения сходны у грызунов и приматов и проявляются в виде длительного изменения в работе нейромедиаторных систем – прежде всего, дофаминергической.

**Наконец**, в ходе исследований отработаны методика и технология воздействия корпскулярным излучением на грызунов и приматов, что необходимо для дальнейшей реализации комплексной модели.

Безусловно, с фундаментальной точки зрения чрезвычайный интерес представляла бы реализация хронического, а не острого, ионного воздействия, однако в обозримой перспективе это представляется нереализуемым по целому ряду причин:

- размер пучка современных ускорителей недостаточен для длительного облучения более чем одного животного; в частности, пучок У-70 имеет диаметр порядка 100 мм, что позволяет разместить четыре крысы, иммобилизованных в пеналах, но исключает проведение работ на животных, имеющих хотя бы некоторую свободу перемещения;

- мощность дозы, непосредственно связанная с плотностью потока частиц, при которой может работать фокусирующая система ускорителя, имеет ограничение снизу; для абсолютного большинства ускорителей минимальный флюенс составляет  $10^5$  частиц/ $\text{см}^2/\text{сек}$ , при этом мощность дозы приблизительно равна 1 Гр/сек;

- стоимость работы ускорителей весьма высока, а продолжительность, соответственно, низка – так, весь «биологический» сеанс на У-70 составляет порядка 2 недель за год, включая технические, дозиметрические и т.п. работы; соответственно, не может быть и речи о том, чтобы растянуть единичный эксперимент хотя бы на неделю.

## ГЛАВА 4. КОМБИНИРОВАННОЕ ДЛИТЕЛЬНОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ

Несмотря на то, что история исследования биологических эффектов гаммаизлучения насчитывает уже более ста лет, вопросам воздействия малых (заведомо нелетальных, т.е. условно меньших 20% от ЛД50 для конкретного вида) доз традиционно уделялось незначительное внимание; еще более скромно изучена проблематика хронического воздействия в сверхмалых дозах – целенаправленно такие работы велись только в космической отрасли с целью нормирования радиационной нагрузки космонавтов при полетах на низких околоземных орbitах (НОО) [59]. Хотя такие работы учитывали воздействие других факторов космического полета, делалось это посредством математического моделирования. Экспериментальных работ, оценивающих комплексное пролонгированное воздействие ФКП на ЦНС, как уже упоминалось в литературном обзоре, единицы [147], [6], [154].

Фактически центральной задачей настоящей работы – как минимум, в прикладном плане – являлась разработка методики комплексного моделирования синхронного пролонгированного воздействия основных факторов космического полета: гипогравитации и ионизирующего излучения. Поскольку, как было ранее отмечено, осуществить пролонгированное воздействие корпускулярного излучения при современном уровне техники не представляется возможным, модель должна состоять из двух фаз:

- первая, имитирующая часть полета, проходящую в рамках магнитосферы, включает в себя синхронное пролонгированное действие гамма-излучения и модельной гипогравитации и призвана нагрузить регуляторные и адаптационные системы организма;
- вторая фаза имитирует воздействие СКЛ/ГКЛ, следуя непосредственно за первой.

Соответственно, основной задачей настоящего раздела является исследование эффектов синхронного комбинированного действия гамма-

облучения и моделируемой невесомости с различными параметрами – продолжительностью, мощностью дозы и суммарной дозой и т.п.

Результатом является:

- во-первых, понимание характера этих эффектов – и в том числе оценка того, какое взаимно модифицирующее влияние оказывают друг на друга два воздействия;
- во-вторых – сформулированная с учетом вышесказанного методика осуществления воздействий – с конкретными параметрами, – позволяющая в наземных условиях моделировать воздействия в эквиваленте Марсианской миссии «по наихудшему сценарию», т.е. с максимальным проявлением негативных эффектов.

Поскольку выполнение такого исследования подразумевает проведение серии экспериментов и задействование значительного количества животных, работы этого этапа были выполнены на крысах, преимущественно линии Wistar, и мышах линии C57.

#### **4.1 О характере взаимодействия эффектов при комбинированном воздействии**

Поскольку в литературе встречаются указания на то, что при комбинированном воздействии реакция организма может принципиально отличаться от реакции на отдельные факторы – вплоть до получения противоположно направленного эффекта [147], [40] – был проведен ряд экспериментов с целью проверки гипотезы о сложном характере взаимодействия различных ФКП и исследования потенциальных механизмов, обосновывающих такой характер.

В эксперименте, описанном в [192], основное внимание было посвящено исследованию нейрохимических механизмов, обуславливающих комбинированное действие двух гравитационных факторов космического полета: невесомости, моделированной посредством длительного (30 суток) АиOB и последующей посадочной перегрузки, моделированной вращением на

центрифуге. Эксперимент, являясь в значительной мере первым в серии, имел целью также отработку технологий комбинированных воздействий и нейрохимического анализа.

В качестве экспериментальных животных использовались мыши линии C57BL/6 (суммарно 50 животных), самцы массой 20–25 г, которые были случайным образом разделены на несколько групп. В 1-й экспериментальной серии было 2 группы: контрольная и АнOB по 10 животных в каждой; во 2-й экспериментальной серии – 3 группы: «контрольная», «АнOB» и «АнOB + ЦФ (центрифуга)». За неделю до начала исследований всем животным под местной анестезией были внедрены транспондером в холку индивидуальные идентификационные чипы системы IntelliCage. Животные содержались в клетках по группам, со свободным доступом к еде и питью.

В качестве воздействия в 1-й серии экспериментов применялось 30-суточное АнOB, во 2-й серии была сформирована дополнительная группа для оценки влияния комбинированного воздействия гравитационных факторов. При создании АнOB использовали индивидуальные секции из оргстекла полностью аналогично тому, как описано в главе 2 для крыс.

В качестве моделирования перегрузки во 2-й серии эксперимента животных одной из групп (АнOB + ЦФ) подвергали однократному вращению на центрифуге ACEA. Данное воздействие осуществлялось до достижения перегрузки 8 g на протяжении 10 мин с градиентом нарастания и снижения перегрузки 0,4 g/сек, что соответствовало условиям полетного эксперимента. Подробно схема эксперимента представлена в таблице 4.1

Таблица 4.1. Схема эксперимента

Серия 1							
Группа	Этапы эксперимента						
Контроль	ОП	-	IntelliCage	-	-	Забой	
АнOB	АнOB			ОП	IntelliCage	Забой	
День эксперимента	1	2-15	16-30	31	32-47	47	
Серия 2							
Группа	Этапы эксперимента						
Контроль	ОП	IntelliCage	-	-	-	IntelliCage	Забой
АнOB	-	IntelliCage	АнOB	-	ОП	IntelliCage	Забой
АнOB + ЦФ	-	IntelliCage	АнOB	ЦФ	ОП	IntelliCage	Забой
День эксперимента	1	2-17	18-47	47	48	49-64	

Для удобства сопоставления результатов между сериями данные представлялись в виде гистограмм «ящик с усами», нанесенных на общую шкалу.

Данные по активности в открытом поле представлены на рисунке 4.1.

Изолированное действие АнOB достоверно значительно (2.5 раза в первой серии эксперимента и 1.7 раза – во второй) снижает все виды исследовательской активности в обеих сериях эксперимента, однако тот факт, что группа «АнOB + ЦФ» имеет более высокие показатели и достоверно отличается от контроля лишь по числу выходов в центр, дает основание утверждать, что два задействованных гравитационных фактора – гипо- и гипергравитация – имеют антагонистическое взаимодействие, т.е. фактически наблюдается компенсаторный эффект.

Двухнедельное обучение животных в установке Intellicage позволило подтвердить выводы, сделанные по результатам «открытого поля»: у животных группы АнOB наблюдалось значительное (на 46 % по сравнению с контролем) снижение общей двигательной активности, в то время как при комбинированном воздействии этого не происходило. Также у животных группы АнOB+ЦФ

наблюдалось снижение показателя стереотипии поведения (предпочтения одного из углов с поилкой), хотя и недостоверное, относительно как контроля, так и группы АНОВ; вероятнее всего, это является следствием повышенной исследовательской активности.

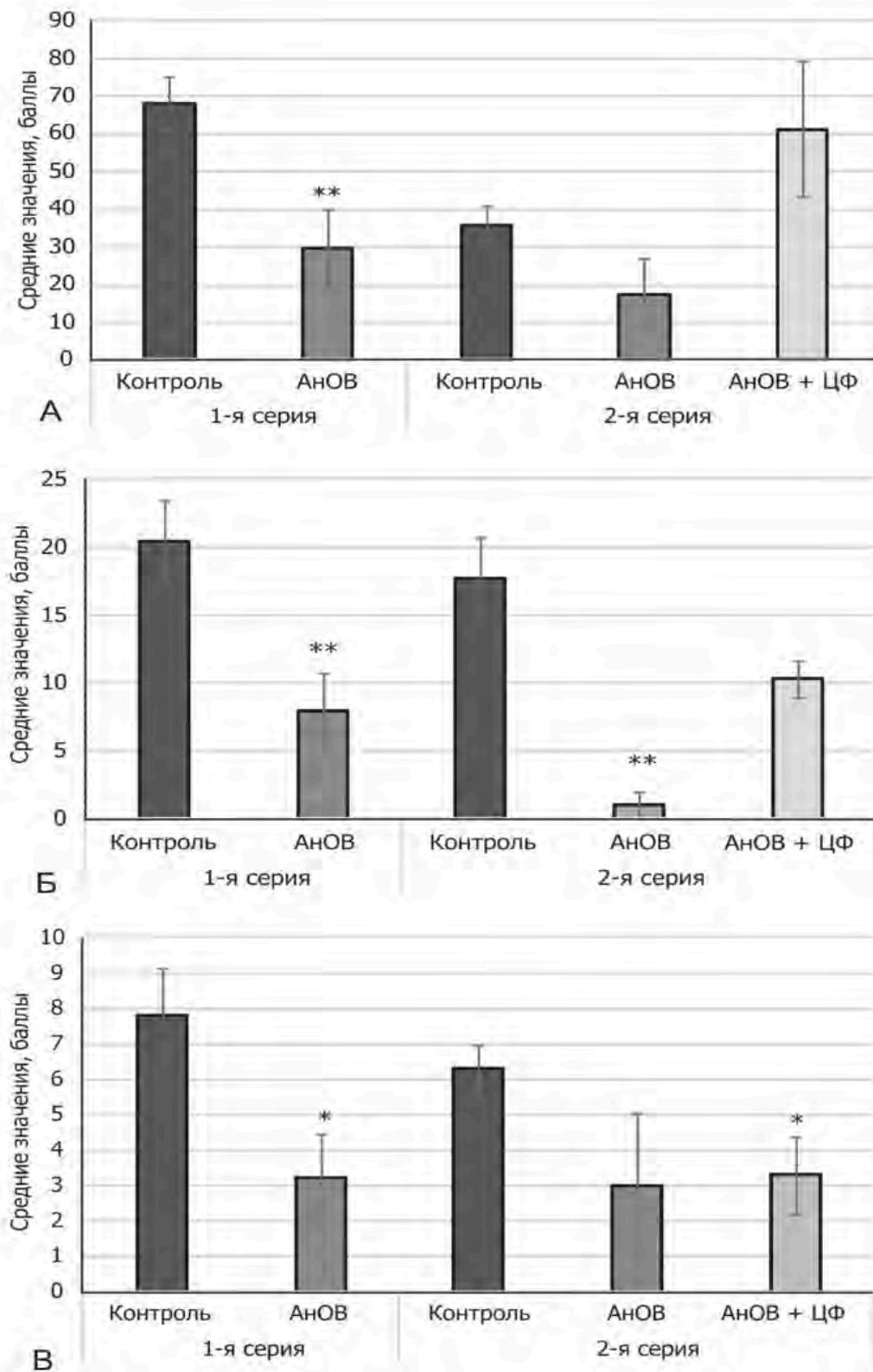


Рисунок 4.1 – Активность в открытом поле:  
А – пробег; Б – норковые реакции; В – выходы в центр

Результаты нейрохимического исследования концентраций основных нейромедиаторов и их метаболитов в ключевых структурах мозга представлены в таблицах 4.2 и 4.3.

Значимые ( $p < 0.05$ ) различия выделены жирным шрифтом и помечены символами:

# – различие между группами АНОВ+ЦФ и АНОВ;

“ – между АНОВ+ЦФ и контролем;

\* – между АНОВ и контролем.

Таблица 4.2 Концентрации ключевых нейромедиаторов и метаболитов, нМ/мг ткани

	НА	ДОФУК	ДА	5-ОИУК	ГВК
Префронтальная кора					
Контроль	1,04 ± 0,09	0,51 ± 0,06	0,2 ± 0,02	0,7 ± 0,07	0,39 ± 0,07
АНОВ	0,78 ± 0,07	0,66 ± 0,07	0,25 ± 0,03	0,062 ± 0,003	0,21 ± 0,03
АНОВ+ЦФ	1,1 ± 0,11	0,49 ± 0,04	1,02 ± 0,07	<b>0,52 ± 0,06</b> #	0,05 ± 0,01
Гиппокамп					
Контроль	1,08 ± 0,12	0,74 ± 0,06	0,27 ± 0,06	1,93 ± 0,07	0,26 ± 0,05
АНОВ	0,94 ± 0,15	0,5 ± 0,03	0,43 ± 0,12	2,86 ± 0,24	0,2 ± 0,02
АНОВ+ЦФ	1,14 ± 0,09	0,55 ± 0,05	0,2 ± 0,07	2,66 ± 0,13	0,27 ± 0,05
Гипоталамус					
Контроль	3,53 ± 0,06	0,75 ± 0,06	1,11 ± 0,19	1,55 ± 0,3	0,49 ± 0,03
АНОВ	3,69 ± 0,09	0,73 ± 0,04	1,34 ± 0,04	2,3 ± 0,2	0,55 ± 0,07
АНОВ+ЦФ	4,12 ± 0,11	1,02 ± 0,13	2,13 ± 0,52	2,67 ± 0,05	0,95 ± 0,22
Стриатум					
Контроль	0,07 ± 0,04	2,5 ± 0,12	51,99 ± 0,92	1,18 ± 0,12	3,61 ± 0,16
АНОВ	0,15 ± 0,07	2,61 ± 0,13	50,6 ± 1,1	1,19 ± 0,05	3,13 ± 0,17
АНОВ+ЦФ	0,11 ± 0,05	3,4 ± 0,55	54,61 ± 5,71	<b>1,71 ± 0,11</b> #"	<b>4,48 ± 0,48</b> #

Таблица 4.3 Показатели метаболизма дофамина и серотонина

	ЗМТ	5-ОТ	ДОФУК/ДА	ГВК/ДА	5-ОИУК/5-ОТ
Префронтальная кора					
Контроль	0,11 ± 0,06	7,45 ± 0,29	2,77 ± 0,57	1,86 ± 0,22	0,09 ± 0,01
АнОВ	0,07 ± 0,03	<b>5,96 ± 0,35</b> *	2,85 ± 0,61	0,85 ± 0,08	0,1 ± 0,01
АнОВ+ЦФ	0,05 ± 0,01	7,09 ± 0,48	1,37 ± 0,2	1,44 ± 0,2	<b>0,14 ± 0,002</b> “
Гиппокамп					
Контроль	0,05 ± 0,01	7,48 ± 0,62	4,49 ± 2,00	1,50 ± 0,70	0,27 ± 0,02
АнОВ	0,05 ± 0,01	8,33 ± 0,74	1,43 ± 0,31	0,55 ± 0,1	0,35 ± 0,02
АнОВ+ЦФ	0,05 ± 0,01	7,27 ± 0,41	3,83 ± 1,25	1,54 ± 0,21	<b>0,37 ± 0,01</b> “
Гипоталамус					
Контроль	0,03 ± 0,02	9,51 ± 1,43	0,74 ± 0,13	0,48 ± 0,08	0,16 ± 0,01
АнОВ	0,02 ± 0,01	11,46 ± 0,31	0,54 ± 0,02	0,41 ± 0,04	0,2 ± 0,01
АнОВ+ЦФ	0,03 ± 0,01	12,32 ± 0,39	0,53 ± 0,08	0,45 ± 0,04	<b>0,22 ± 0,01</b> #
Стриатум					
Контроль	0,58 ± 0,05	6,52 ± 0,54	0,05 ± 0,003	0,07 ± 0,004	0,19 ± 0,02
АнОВ	0,64 ± 0,07	5,94 ± 0,2	0,05 ± 0,002	0,06 ± 0,004	0,2 ± 0,006
АнОВ+ЦФ	0,65 ± 0,06	6,87 ± 0,31	0,06 ± 0,004	<b>0,08 ± 0,003</b> #	<b>0,25 ± 0,01</b> #

Достоверные изменения преимущественно относятся к метаболизму серотонина, в меньшей степени – дофамина.

Так, в префронтальной коре обнаружено достоверное уменьшение концентрации 5-ОТ у мышей группы АнОВ относительно контрольных.

В то же время соотношение 5-ОИУК/5-ОТ, указывающее на уровень метаболизма серотонина, значимо выше в группах АнОВ + ЦФ по сравнению с контрольными мышами. Концентрация метаболита серотонина повышается у группы АнОВ + ЦФ по отношению к АнОВ.

В гиппокампе мозга мышей достоверных изменений в концентрациях моноаминов не обнаружено, но при этом у группы АнОВ+ЦФ наблюдается

ускорение метаболизма ДА относительно АнOB и ускорение метаболизма серотонина относительно контроля.

В префронтальной коре наблюдается снижение уровня серотонина, сходное с процессами, происходящими после стрессирующего воздействия [193], и соотносящееся, в свою очередь, с изменениями поведения -усилением тревожности у мышей группы АnOB, что принято ассоциировать со снижением уровня серотонина [194].

Наблюдавшееся у группы АnOB стереотипное поведение в Intellicage позволяет предположить наличие более глубоких, нежели выявлены в данном случае, изменений в дофаминергической системе головного мозга, поскольку известно, что стереотипическое поведение напрямую связано с дофаминергической системой, о чем свидетельствует появление стереотипии после введения амфетамина [195].

В целом проведенный эксперимент позволяет сделать два существенных для дальнейшей работы вывода:

- во-первых, длительное изолированное воздействие АnOB приводит на интегративном уровне к повышению тревожности, которое на нейрохимическом уровне обусловлено изменениями в метаболизме серотонина (снижением его концентрации) в префронтальной коре [196];
- во-вторых, эффекты от воздействия гипо- и гипергравитационных факторов частично компенсируются, что проявляется и на интегративном, и на нейрохимическом уровне. Хотя гипергравитация не входит в круг задач данной работы, данный эксперимент имеет существенную важность именно ввиду того, что позволил наблюдать антагонистическое воздействие двух факторов на различных уровнях организации ЦНС.

Эксперимент, изучающий характер взаимодействия радиационного и гравитационного факторов, был проведен на 80 самцах крыс линии Wistar (60 крыс для поведенческих экспериментов, 20 крыс для нейрохимических экспериментов) с начальной массой 250–300 г. [197]. Животные были размещены в виварии по пять в клетке при естественных условиях освещения с продолжительностью светового дня приблизительно 8 ч, со свободным доступом

к воде и пище и разделены на четыре экспериментальные группы (по 15 крыс в каждой поведенческой группе и по 5 крыс в каждой группе для нейрохимических исследований):

- К («контроль») – интактный (виварный) контроль;
- В («вывешивание») – АнОВ;
- О («облучение») – облучение в суммарной дозе 3 Гр;
- В+О («вывешивание и облучение») – АнОВ + облучение.

АнОВ проводилось согласно описанному в главе 2 сроком 7 дней; облучение, поскольку активность источника была достаточно высока на тот момент, проводилось в течение одних суток, за сутки до завершения АнОВ.

Животные, предназначенные для нейрохимических исследований, были подвергнуты декапитации на вторые сутки после завершения воздействий с целью взятия проб префронтальной коры, прилежащего ядра, стриатума, гипоталамуса и гиппокампа.

С животными, предназначенными для поведенческого тестирования, проведены следующие тесты:

- открытого поля (на второй день после завершения воздействий);
- УРПИ (3, 4 и 12 дни после воздействий);
- лабиринт Морриса (5-11 дни после воздействий);
- приподнятый крестообразный лабиринт (13 день после воздействий).

Существенных различий в компонентах активного поведения в teste “открытого поля” не было обнаружено. Наблюдалась даже некоторая слабовыраженная тенденция к увеличению двигательной и исследовательской активности у крыс экспериментальных групп. Наблюдалось увеличение времени, проведенного крысами, подвергнутыми АнОВ, в центре “открытого поля”; в то же время было зарегистрировано существенное возрастание такого показателя пассивно-оборонительного поведения и тревожности как число реакций замирания у животных той же группы.

Наиболее существенным результатом тестирования крыс в приподнятом крестообразном лабиринте явилось статистически значимое увеличение суммарного времени, проведенного в открытом участке лабиринта, у облученных

крыс: как по отношению к контролю – на 416.8% ( $p < 0.01$ ), так и по отношению к другим экспериментальным группам – к «АнОВ + облучение» на 284% и к «АнОВ» на 321% соответственно ( $p < 0.05$ ).

У животных групп АнОВ и АнОВ + облучение этот показатель возрос относительно контроля на 134.2 и 95.7% соответственно.

Значения латентного периода выхода из центральной площадки лабиринта были низкими у крыс всех экспериментальных групп, причем наиболее резкое снижение наблюдалось у животных, подвергнутых комбинированному воздействию факторов (снижение на 14, 18 и 60% в группах «АнОВ», «облучение» и «АнОВ + облучение» соответственно), однако различия были недостоверны.

Среднее количество выходов в открытый участок лабиринта недостоверно возрастало в ряду «АнОВ + облучение», «АнОВ» и облучение на 50.5, 83, 110% соответственно (рисунок 4.2).

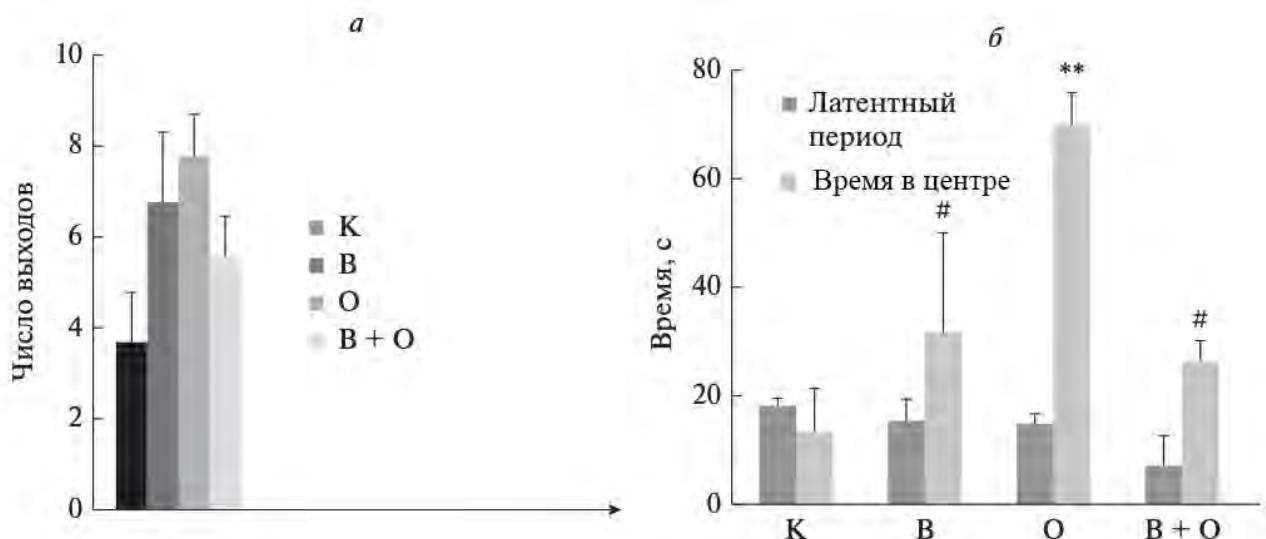


Рисунок 4.2 – Показатели в ПКЛ:  
а – число выходов в открытый рукав; б – время в открытом рукаве.

В тесте УРПИ крысы, подвергнутые АнОВ, продемонстрировали хорошее сохранение долговременной памяти при тестировании через все использованные в эксперименте промежутки времени: время пребывания в светлом отсеке камеры было больше на 101% относительно контроля ( $p < 0.05$ ) и на 131%

относительно показателей крыс группы АиОВ + облучение ( $p < 0.01$ ), хотя с увеличением интервалов времени с момента выработки рефлекса наблюдалась тенденция к его сокращению.

В группах облучение и АиОВ + облучение зафиксирована четкая тенденция к снижению времени пребывания в светлом отсеке камеры при тестировании через 7 сут, хотя различия были недостоверны (рисунок 4.3).

Данные наблюдения позволяют сделать вывод о различной природе нарушений: АиОВ приводит к росту тревожности, но не ухудшению памяти, тогда как облучение ухудшает работу памяти.

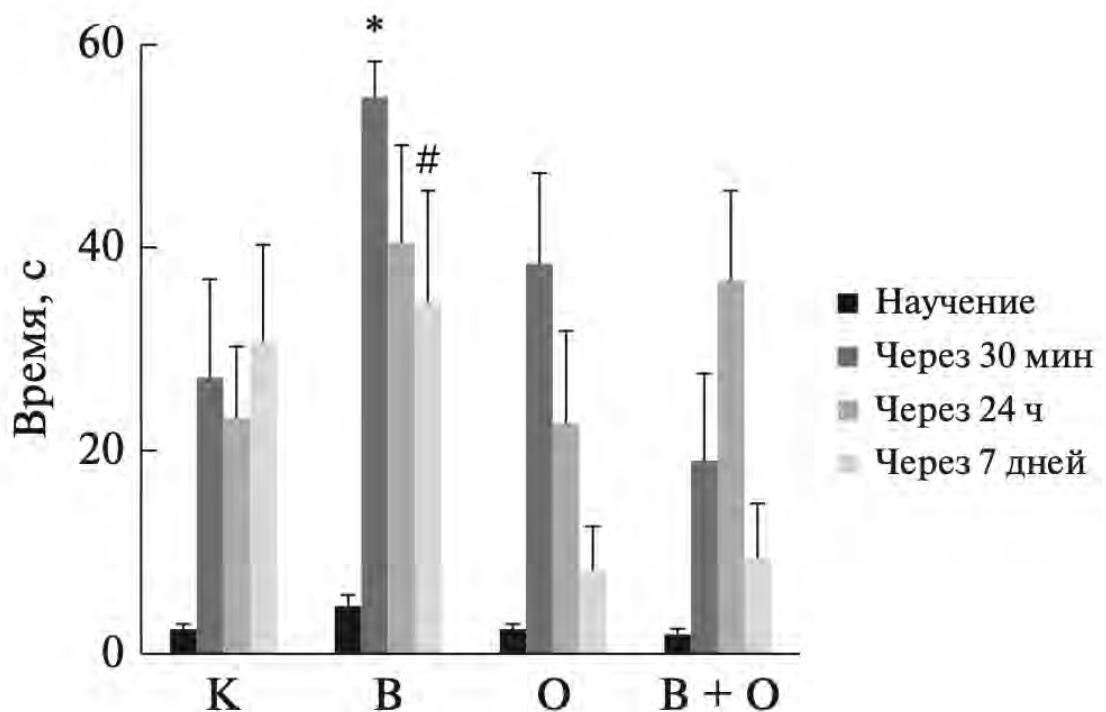
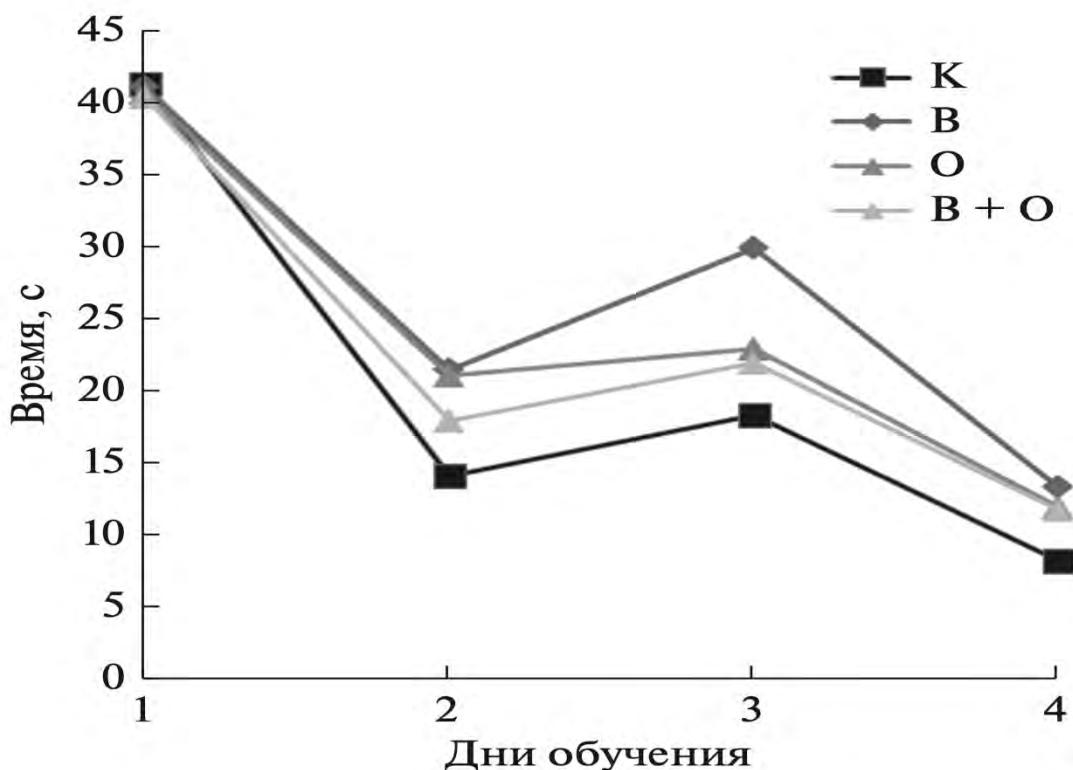


Рисунок 4.3. Показатели теста УРПИ

Наконец, в лабиринте Морриса, хотя и не было обнаружено достоверных различий, худшие результаты (наибольшее время отыскания платформы во все дни) показали животные, подвергнутые только АиОВ; животные, подвергнутые только облучению, демонстрировали результаты несколько лучшие, а наилучший показатель из экспериментальных групп имели крысы, подвергнутые комбинированному воздействию (рисунок 4.4).



*Рисунок 4.4 – Динамика обучения в лабиринте Морриса*

Таким образом, результаты поведенческих тестов дают основание утверждать, что в ряде случаев негативные эффекты различных модельных ФКП могут нивелировать друг друга. Хотя в teste УРПИ снижение эффективности долговременной памяти наблюдается в обеих группах, подвергнутых облучению, при решении более сложной задачи в лабиринте Морриса животные группы «АнОВ+облучение» показали себя как минимум не хуже, чем те, которые были подвергнуты только облучению.

Результаты нейрохимического исследования, приведенные в таблицах 4.4 – 4.8, подтверждают вышеизложенное: показатели контроля и группы «АнОВ + облучение» достоверно не различаются. При этом облучение вызывает статистически значимое снижение концентрации 3-МТ, метаболита ДА, значимое снижение концентрации серотонина 5-ОТ и тенденцию к снижению концентрации 5-ОИУК, метаболита серотонина, по отношению к контрольным животным. При сравнении показателей облученных животных и животных,

подвергнутых комбинированному воздействию, выявлена только тенденция к уменьшению концентрации ДА.

При вывешивании значимо снижается концентрация ДОФУК, метаболита ДА, по сравнению с контрольными и облученными крысами. По сравнению с облученными крысами была снижена также концентрация 3-МТ, метаболита ДА. У вывешенных крыс уменьшена концентрация метаболита серотонина 5-ОИУК по сравнению как с контрольной группой, так и с группой комбинированного воздействия. У вывешенных крыс концентрация серотонина значимо уменьшена по сравнению с контрольной группой.

В прилежащем ядре (таблица 4.5) не наблюдалось значимых различий между группами «контроль», «только облучение» и «АнOB + облучение». Однако группа «только вывешивание» (АнOB) продемонстрировала ряд существенных изменений, касающихся дофаминергической системы:

- концентрации метаболитов дофамина – диоксифенилуксусной (ДОФУК) и гомованилиновой (ГВК) кислот – были значительно, но без достоверности ( $p=0.06$ ) снижены по сравнению с остальными группами;
- концентрация самого дофамина также была снижена: значимо - по сравнению с группой «облучение», на уровне тенденций – по сравнению с контролем и группой крыс «АнOB + облучение»;
- концентрация еще одного метаболита дофамина, триметокситирамина (3-МТ), была снижена: по сравнению с группой «АнOB + облучение» - значимо, по сравнению с контролем и группой «только облучение» - на уровне тенденции ( $p=0.07$ ).

У вывешенных крыс была значимо снижена концентрация метаболита серотонина 5-ОИУК по сравнению со всеми тремя исследованными группами крыс, а концентрация серотонина в прилежащем ядре вывешенных крыс была статистически значимо уменьшена только по сравнению с контрольными крысами.

В дорсальном стриатуме (таблица 4.6) изменения были менее выражены, чем вентральном стриатуме (таблица 4.5, прилежащее ядро). Изменения в основном касаются НА системы. Выявлено значимое увеличение концентрации

НА у облученных и вывешенных крыс по сравнению с контрольной группой. Обнаружена тенденция к снижению концентрации ДОФУК, метаболита ДА, по отношению к контрольной группе крыс.

В гипоталамусе (таблица 4.7) облучение вызывает значительное повышение концентрации ДОФУК, ДА, ГВК, 5-ОИУК и 5-ОТ по сравнению с контрольной группой. При сравнении с группой комбинированного воздействия облучение вызывает повышение концентрации ДА, ГВК и тенденцию к повышению концентраций ДОФУК, 5-ОИУК и 5-ОТ. При вывешивании наблюдалась тенденция к повышению концентрации ДОФУК, ДА, 5-ОИУК и 5-ОТ по отношению к контролю и ярко выраженная тенденция к повышению концентрации ДА по отношению к группе комбинированного воздействия.

В гиппокампе (таблица 4.8) обнаружены:

- снижение концентрации 5-ОИУК, метаболита серотонина, у вывешенных крыс по отношению к группе комбинированного воздействия,
- выраженная тенденция к снижению концентрации НА у облученных крыс по отношению к группе комбинированного воздействия,
- а также выраженная тенденция к снижению концентрации 5-ОИУК, метаболита серотонина, по отношению к группам комбинированного воздействия и облучения.

Полученные результаты показывают, что изменение концентрацииmonoаминов и их метаболитов, а именно – достоверное их снижение по сравнению с виварным контролем – наблюдается при изолированном воздействии как облучения, так и АиОВ. Это можно интерпретировать как отрицательное влияние данных воздействий на метabolизм monoаминов и, соответственно, на поведение. При этом влияние этих факторов на метabolизм monoаминов проявляется более интенсивно, чем на поведение. Это связано с тем, что нейрохимические процессы более чувствительны к воздействиям физических факторов, чем поведение, в связи с тем, что поведение является интегративным показателем более высокого уровня, чем нейрохимические показатели, и предполагает значительно более широкие возможности компенсации нарушенных функций.

Отдельно следует отметить тот факт, что, хотя каждое из воздействий само по себе является негативным и влечет снижение уровня метаболизма катехоламинов, комбинация воздействий приводит к меньшим отклонениям, нежели любое из них само по себе.

Хотя на данный момент невозможно предложить точное объяснение этого явления (не говоря уже о математической модели), для работ, связанных с исследованием комбинированных воздействий, оно играет ключевую роль: по сути это означает, что любое комбинированное воздействие должно моделироваться на физическом уровне именно как комбинированное, поскольку характер взаимодействия индивидуальных факторов может варьировать от аддитивного до антагонистического.

Таблица 4.4. Нейрохимические показатели префронтальной коры

№	Группа	НА	ДОФУК	ДА	ГВК	3-МТ	5-ОИУК	5-ОТ
1	Контр.	1.91 ± 0.06	0.23 ± 0.01	0.42 ± 0.03	0.30 ± 0.04	0.05 ± 0.02	1.26 ± 0.06	2.90 ± 0.07
2	АнOB	1.20 ± 0.05	0.20 ± 0.01	0.52 ± 0.03	0.29 ± 0.01	0.08 ± 0.02	1.24 ± 0.08	2.76 ± 0.07
	<i>p</i> = 1 vs 2	0.596	0.201	0.820	0.747	0.379	0.884	0.220
3	Обл.	1.93 ± 0.09	0.24 ± 0.02	0.45 ± 0.02	0.39 ± 0.05	0.13 ± 0.01	1.07 ± 0.05	2.62 ± 0.06
	<i>p</i> = 1 vs 3	0.878	0.623	0.581	0.265	<b>0.013</b>	<b>0.070</b>	<b>0.026</b>
	<i>p</i> = 2 vs 3	0.821	0.130	<b>0.088</b>	0.113	0.102	0.152	0.216
4	Выв.	1.87 ± 0.09	0.18 ± 0.01	0.48 ± 0.08	0.27 ± 0.08	0.05 ± 0.02	0.94 ± 0.07	2.54 ± 0.13
	<i>p</i> = 4 vs 1	0.731	<b>0.050</b>	0.584	0.735	0.853	<b>0.014</b>	<b>0.050</b>
	<i>p</i> = 4 vs 2	0.469	0.401	0.645	0.832	0.297	<b>0.033</b>	0.201
	<i>p</i> = 4 vs 3	0.68	<b>0.042</b>	0.74	0.23	<b>0.009</b>	0.205	0.618

Таблица 4.5. Нейрохимические показатели прилежащего ядра

№	Группа	НА	ДОФУК	ДА	ГВК	3-МТ	5-ОИУК	5-ОТ
1	Контр.	3.63 ± 0.55	8.94 ± 0.7	52.34 ± 4.64	5.75 ± 0.44	0.63 ± 0.13	3.76 ± 0.12	4.52 ± 0.13
2	АнOB	4.37 ± 0.64	8.34 ± 0.40	49.12 ± 3.36	6.47 ± 0.58	0.55 ± 0.08	4.39 ± 0.45	4.82 ± 0.59
	<i>p</i> = 1 vs 2	0.465	0.559	0.649	0.401	0.682	0.234	0.648
3	Обл.	3.36 ± 0.60	7.50 ± 0.33	46.88 ± 2.07	5.42 ± 0.27	0.52 ± 0.11	3.45 ± 0.12	4.45 ± 0.39
	<i>p</i> = 1 vs 3	0.779	0.135	0.464	0.585	0.585	0.129	0.886
	<i>p</i> = 2 vs 3	0.350	0.189	0.620	0.165	0.855	0.091	0.653
4	Выв.	3.57 ± 0.73	5.60 ± 0.27	39.59 ± 1.86	3.94 ± 0.16	0.30 ± 0.03	2.86 ± 0.14	3.91 ± 0.12
	<i>p</i> = 4 vs 1	0.957	<b>0.040</b>	<b>0.052</b>	<b>0.009</b>	<b>0.064</b>	<b>0.002</b>	<b>0.016</b>
	<i>p</i> = 4 vs 2	0.506	<b>0.001</b>	<b>0.055</b>	<b>0.047</b>	<b>0.028</b>	<b>0.017</b>	0.189
	<i>p</i> = 4 vs 3	0.850	<b>0.004</b>	<b>0.047</b>	<b>0.003</b>	0.130	<b>0.020</b>	0.271

Таблица 4.6. Нейрохимические показатели стриатума

№	Группа	НА	ДОФУК	ДА	ГВК	3-МТ	5-ОИУК	5-ОТ
1	Контр.	0.73 ± 0.03	5.78 ± 0.36	60.18 ± 3.92	5.23 ± 0.35	1.14 ± 0.27	4.04 ± 0.21	3.31 ± 0.06
2	АнOB	1.21 ± 0.32	5.43 ± 0.42	56.34 ± 2.61	5.18 ± 0.48	0.73 ± 0.10	4.46 ± 0.31	3.41 ± 0.21
	<i>p</i> = 1 vs 2	0.213	0.584	0.487	0.956	0.240	0.354	0.679
	Обл.	1.04 ± 0.04	5.08 ± 0.24	56.14 ± 1.99	5.27 ± 0.26	0.97 ± 0.09	4.08 ± 0.22	3.49 ± 0.13
3	<i>p</i> = 1 vs 3	<b>0.003</b>	0.182	0.434	0.931	0.614	0.923	0.272
	<i>p</i> = 2 vs 3	0.632	0.530	0.957	0.897	0.155	0.399	0.766
	Выв.	1.01 ± 0.05	4.94 ± 0.13	58.37 ± 1.45	4.98 ± 0.12	1.08 ± 0.25	3.99 ± 0.27	3.12 ± 0.14
4	<i>p</i> = 4 vs 1	<b>0.002</b>	<b>0.085</b>	0.708	0.573	0.893	0.888	0.301
	<i>p</i> = 4 vs 2	0.582	0.349	0.560	0.718	0.283	0.338	0.332
	<i>p</i> = 4 vs 3	0.684	0.673	0.440	0.404	0.726	0.824	0.119

Таблица 4.7. Нейрохимические показатели гипоталамуса

№	Группа	НА	ДОФУК	ДА	ГВК	3-МТ	5-ОИУК	5-ОТ
1	Контр.	8.04 ± 1.63	0.19 ± 0.04	1.73 ± 0.35	0.18 ± 0.03	0.07 ± 0.03	2.35 ± 0.31	5.34 ± 0.48
2	АнOB	9.81 ± 0.80	0.23 ± 0.03	1.79 ± 0.10	0.18 ± 0.03	0.01 ± 0.006	2.9 ± 0.32	5.97 ± 0.49
	<i>p</i> = 1 vs 2	0.409	0.542	0.896	0.879	0.173	0.293	0.433
	Обл.	10.84 ± 0.53	0.33 ± 0.03	2.91 ± 0.25	0.30 ± 0.03	0.07 ± 0.05	3.86 ± 0.28	7.59 ± 0.44
3	<i>p</i> = 1 vs 3	0.183	<b>0.028</b>	<b>0.041</b>	<b>0.023</b>	0.9850	<b>0.012</b>	<b>0.015</b>
	<i>p</i> = 2 vs 3	0.385	<b>0.070</b>	<b>0.006</b>	<b>0.030</b>	0.344	<b>0.079</b>	<b>0.059</b>
	Выв.	13.30 ± 2.65	0.37 ± 0.07	3.31 ± 0.59	0.29 ± 0.06	0.08 ± 0.04	4.23 ± 0.67	8.86 ± 1.32
4	<i>p</i> = 4 vs 1	0.169	<b>0.080</b>	<b>0.075</b>	0.132	0.844	<b>0.052</b>	<b>0.056</b>
	<i>p</i> = 4 vs 2	0.292	0.141	<b>0.053</b>	0.165	0.169	0.149	0.105
	<i>p</i> = 4 vs 3	0.440	0.657	0.601	0.900	0.857	0.664	0.439

Таблица 4.8. Нейрохимические показатели гиппокампа

№	Группа	НА	ДОФУК	ДА	ГВК	3-МТ	5-ОИУК	5-ОТ
1	Контр.	2.57 ± 0.09	0.13 ± 0.01	0.17 ± 0.04	0.15 ± 0.04	0.06 ± 0.02	2.83 ± 0.1	3.07 ± 0.11
2	АнOB	2.79 ± 0.17	0.14 ± 0.01	0.20 ± 0.03	0.11 ± 0.01	0.03 ± 0.01	3.30 ± 0.2	3.27 ± 0.07
	<i>p</i> = 1 vs 2	0.360	0.442	0.566	0.364	0.229	0.102	0.187
	Обл.	2.33 ± 0.07	0.16 ± 0.01	0.15 ± 0.02	0.09 ± 0.02	0.04 ± 0.01	2.90 ± 0.14	3.11 ± 0.15
3	<i>p</i> = 1 vs 3	0.103	0.121	0.817	0.237	0.386	0.707	0.822
	<i>p</i> = 2 vs 3	<b>0.060</b>	0.308	0.272	0.463	0.618	0.195	0.436
	Выв.	2.37 ± 0.15	0.17 ± 0.02	0.26 ± 0.08	0.16 ± 0.05	0.09 ± 0.03	2.52 ± 0.09	3.01 ± 0.15
4	<i>p</i> = 4 vs 1	0.339	0.136	0.385	0.880	0.560	<b>0.072</b>	0.827
	<i>p</i> = 4 vs 2	0.143	0.261	0.543	0.410	0.152	<b>0.015</b>	0.208
	<i>p</i> = 4 vs 3	0.809	0.536	0.294	0.29	0.224	<b>0.074</b>	0.702

## **4.2 Зависимость эффектов от продолжительности воздействий**

Исследованию зависимости эффектов комбинированного воздействия АнОВ и гамма-облучения на интегративном, нейрохимическом и молекулярном уровнях от продолжительности воздействия посвящена серия экспериментов, описанная в [198].

В этих экспериментах были задействованы крысы-самцы линии Wistar, по 8 голов в каждой из групп (контроль и эксперимент различной продолжительности).

Стеллаж с вывешенными крысами находился в облучательской в течение 7, 14 и 30 дней в разных экспериментах. В течение этого времени проводили, соответственно, 1, 2 или 6 суточных сеансов гамма-облучения в суммарной дозе 1-3 Гр. По завершении гамма-облучения проводилось однократное облучение головы протонами с энергией 170 МэВ в дозе 1 Гр.

После экспериментальных воздействий исследовали функциональные реакции ЦНС животных на всех уровнях ее организации – от молекулярного до интегративного, а именно:

- уровень экспрессии серотониновых и дофаминовых рецепторов, ферментов и транспортеров;
- обменmonoаминов в ключевых структурах мозга;
- двигательную, ориентировочно-исследовательскую активность, тревожность, эмоциональность, долговременную память, пространственную память и ориентацию, когнитивные функции животных.

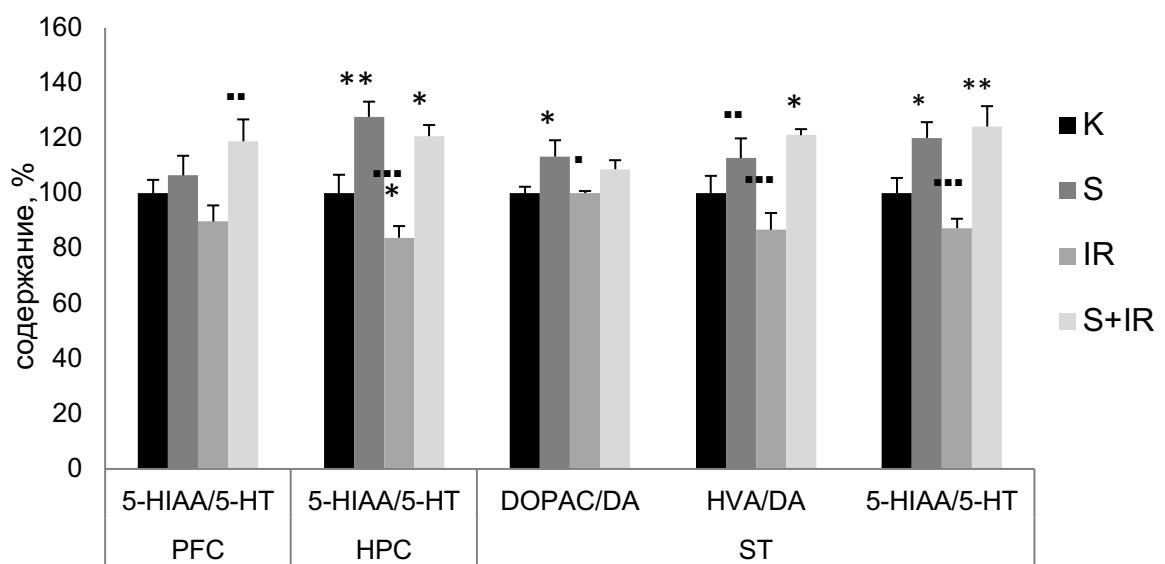
Исследования выявили зависимость нейробиологических эффектов от срока АнОВ.

Так, при месячном АнОВ наблюдали достаточно быстрое восстановление основных компонентов двигательной и ориентировочно-исследовательской активности у животных экспериментальных групп. При этом воздействие АнОВ превалировало в формировании эмоционально-мотивационной основы поведения в «открытом поле».

При комбинированном воздействии исследуемые факторы оказывали значительно более выраженное действие на эмоционально-мотивационные процессы, нежели на когнитивные функции. Воздействие АнOB (группа S) и комбинированное воздействие АнOB + облучение (группа S+IR) нарушало долговременную память; только облучение (группа IR) не давало такого эффекта.

В целом незначительное влияние исследованных факторов на когнитивную деятельность животных хорошо соотносилось с относительно слабо выраженным изменениями концентрацииmonoаминов в структурах мозга, отвечающих за когнитивное и эмоционально-мотивационное поведение.

В то же время при комбинированном воздействии АнOB +  $\gamma$ -облучение + протоны наряду с изменениями в гиппокампе и префронтальной коре были выявлены изменения в прилежащем ядре, являющемся основной интегрирующей структурой мезолимбической ДА системы, которая индуцирует мотивированное поведение (рисунок 4.5).



*Рисунок 4.5 – Нейрохимические показатели, % от контроля: K – контроль, S – АнOB 30 сут., IR – гамма+протонное облучение, S+IR – комбинированное воздействие; PFC – префронтальная кора, HPC – Гиппокамп, ST - стриатум*

Наряду с изменениями в содержании метаболитов было обнаружено изменение в содержании мРНК рецепторов серотонина: снижение экспрессии 5-

HT2c в префронтальной коре и увеличение экспрессии 5-HT2a в стриатуме. Одновременно с этим происходил рост уровня мРНК серотонинового транспортера в префронтальной коре (рисунок 4.6а). Также в стриатуме наблюдались выраженные изменения в работе дофаминергической системы, в частности, значимо повышенна экспрессия дофаминовых D2-рецепторов у группы «облучение + вывешивание» (рисунок 4.6б).

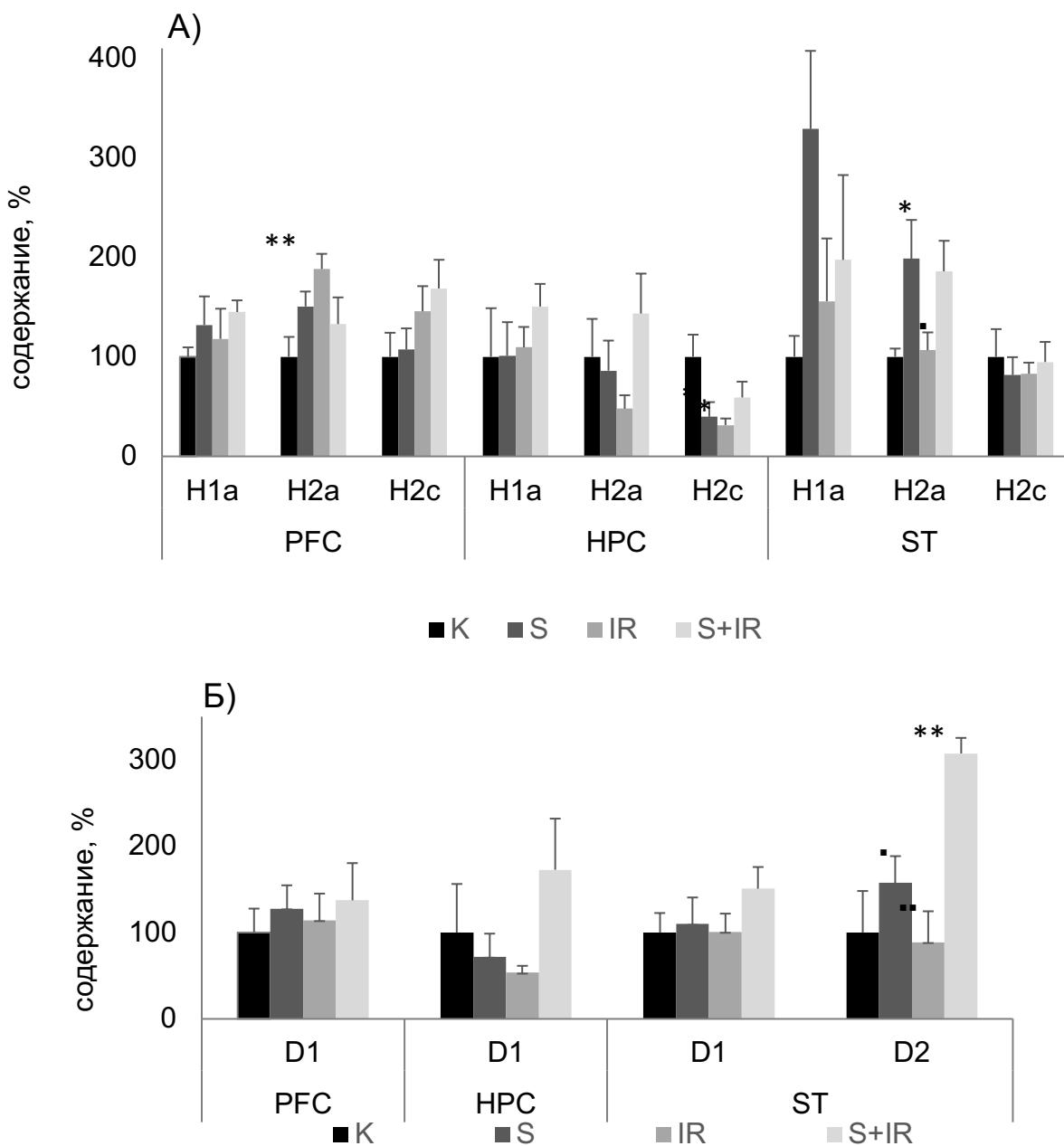


Рисунок 4.6 – Изменения в экспрессии генов серотониновых (а) и дофаминовых (б) рецепторов, % от контроля. Обозначения групп как на рис. 4.5.  
H1a - экспрессия мРНК рецептора 5-HT1a, остальные аналогично

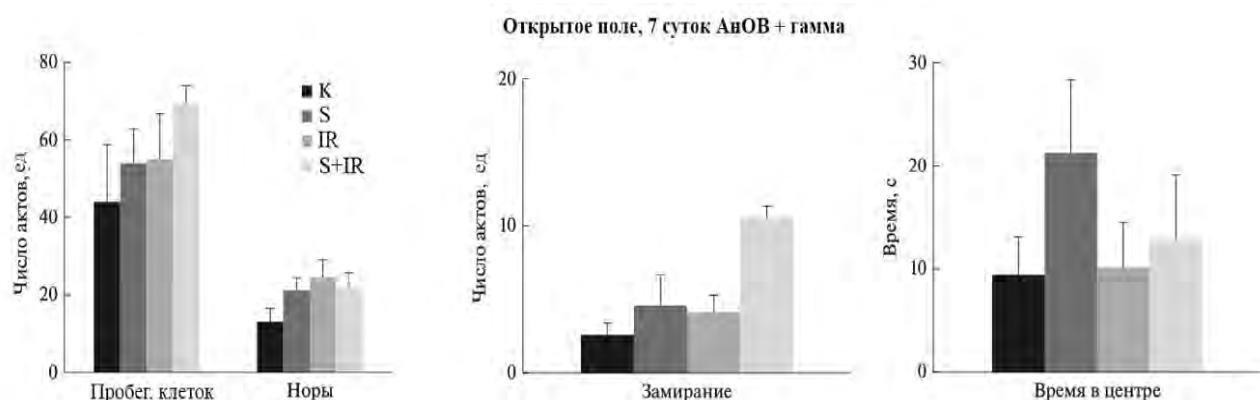
После 14-суточного АнOB по результатам исследования пространственной ориентации, обучения и воспроизведения пространственной памяти крыс в водном лабиринте Морриса достоверных различий не было получено. Отмечена тенденция к некоторому замедлению обучения у облученных крыс. Наиболее выраженное угнетение двигательной активности происходило у крыс, подвергнутых АнOB.

Исследование в приподнятом крестообразном лабиринте выявило снижение тревожности у крыс всех экспериментальных групп, что подтверждалось данными поведения в «открытом поле».

Исследование метаболизмаmonoаминов показало, что и в данном случае наиболее чувствительными структурами оказались префронтальная кора и прилежащее ядро.

При 7-суточном АнOB также наблюдались несущественные нарушения активных компонентов поведения, обусловленные, по-видимому, преимущественно воздействием АнOB, а не облучения. В то же время происходило усиление доли пассивно-оборонительных компонентов поведения и тревожности у крыс экспериментальных групп в тестах «открытого поля» и приподнятого крестообразного лабиринта (рисунок 4.7).

Зарегистрирована также тенденция к нарушению долговременной памяти при комбинированном воздействии.



*Рисунок 4.7 – Повышение активности и тревожности в teste открытого поля. K – контроль, S – АнOB 7 сут., IR – гамма+протонное облучение, S+IR – комбинированное воздействие*

Экспериментальные факторы практически не повлияли на успешность обучения крыс в водном тесте Морриса. Наиболее значительные изменения в обмене моноаминов в группе АиОВ, как и в предыдущих экспериментах, происходили в префронтальной коре и прилежащем ядре, что свидетельствовало об изменениях в интеграции эмоционально-мотивационных состояний из мезолимбических и мезокортикальных структур, отвечающих за обеспечение целенаправленного эмоционально мотивированного поведения.

В целом наиболее существенные нарушения наблюдались при 30-суточном воздействии, в то время как в 14-суточном эксперименте они в значительной степени нивелировались. По-видимому, это связано с разными стадиями общего адаптационного синдрома, на которые приходились эти воздействия.

В частности, 30-суточное воздействие с максимальной вероятностью приходится на фазу истощения; схожие выводы были получены после 30-суточной экспозиции животных в полетном эксперименте программы Бион-М1 [149], [151]. Воздействие сроком 14 суток позволяет наблюдать состояние организма после адаптации, т.е. в фазе резистентности; данные соотносятся с полученными на макаках в программе Бион-11 [143]. При 7-суточной продолжительности АиОВ и гамма-облучения наблюдается либо завершение фазы адаптации, либо ранний этап резистентности; такое состояние организма является наиболее показательным и представляет максимальный интерес для дальнейшего изучения.

#### **4.3 Интерференционный характер эффектов гравитационного и радиационного факторов**

Анализ нейробиологических эффектов взаимодействия АиОВ и ионизирующих излучений на различном уровне выявляет сложный характер этого взаимодействия: на всех уровнях организации ЦНС наблюдались как синергические, так и антагонистические отношения при комбинированном воздействии упомянутых ФКП.

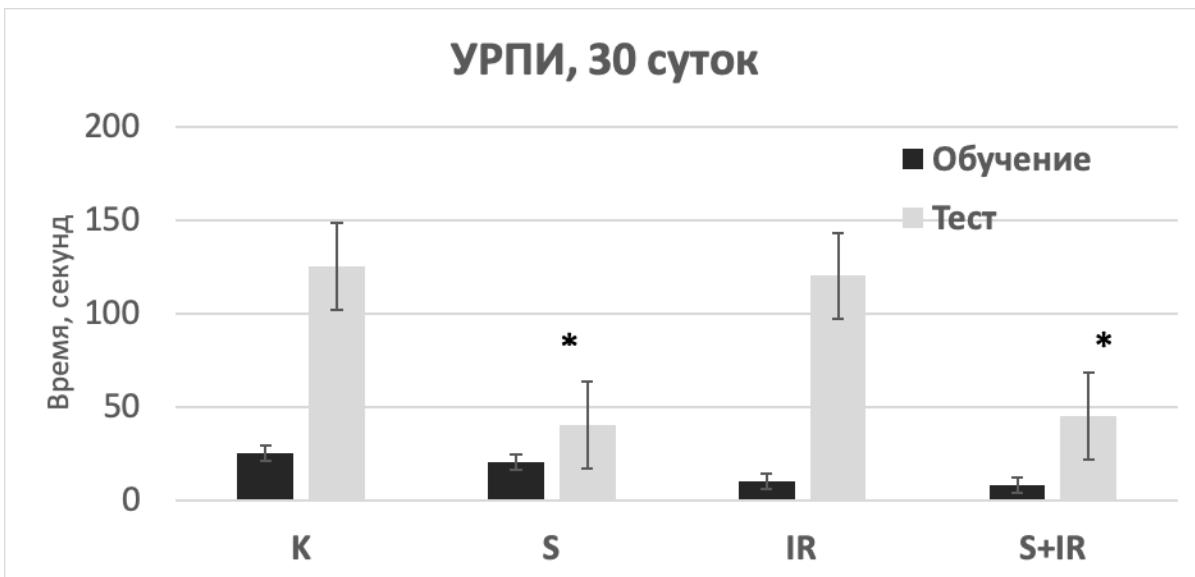
В физике известно понятие интерференции – взаимодействия двух электромагнитных волн, при котором энергия колебаний перераспределяется в пространстве, образуя сложную картину, называемую интерференционной, а интенсивность волнового процесса в каждой точке этой картины как правило не равна сумме интенсивностей исходных волн.

В психологии аналогичное понятие означает ухудшение когнитивных способностей (прежде всего – памяти, ассоциированной с префронтальной корой) при изучении нового материала, в результате чего могут либо нарушаться старые воспоминания, либо блокироваться формирование новых, либо создаваться ложные.

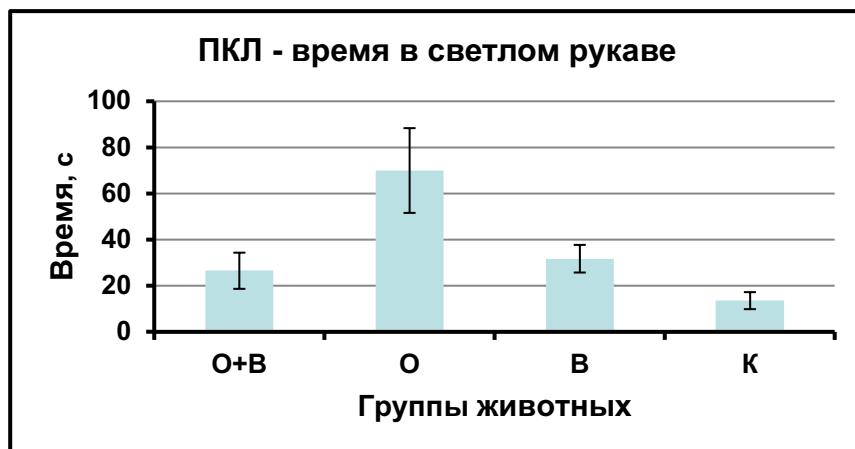
Проводя аналогию с этими явлениями, можно назвать характер взаимодействия эффектов ФКП интерференционным, поскольку результирующая картина эффектов модельного воздействия сложна и неоднородна как во времени, так и при рассмотрении этих эффектов на разных уровнях либо в разных аспектах организации ЦНС.

**Синергические эффекты** проявились в основном на интегративном уровне.

Примером синергического эффекта является нарушение долговременной памяти при комбинированном воздействии по критерию условного рефлекса пассивного избегания в 30-суточном эксперименте (рисунок 4.8), и тревожности в приподнятом крестообразном лабиринте, в частности, значимое снижение времени пребывания крыс в открытом участке приподнятого крестообразного лабиринта при комбинированном воздействии 14 суток (рисунок 4.9).



*Рисунок 4.8 – Изменения в тесте УРПИ.  
K – контроль, S – АнОВ 30 сут., IR – гамма-облучение 3 Гр, S+IR – АнОВ + облучение*



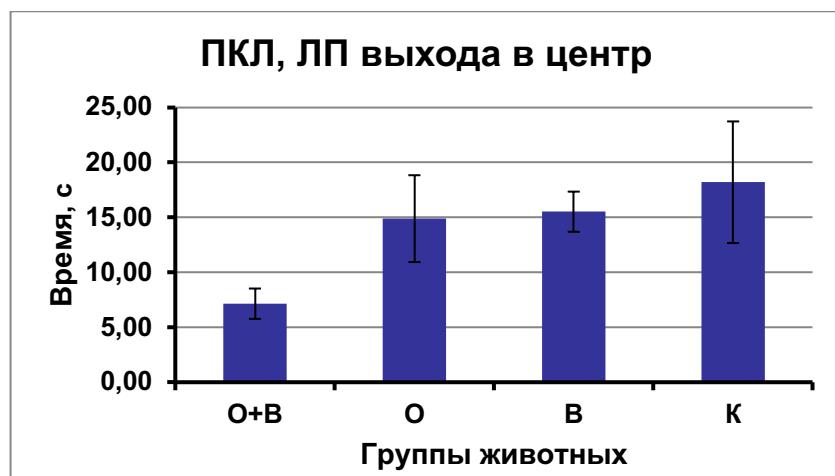
*Рисунок 4.9 – Изменения в тесте ПКЛ.  
K – контроль; B – АнОВ 14 сут., O – гамма-облучение 1 Гр, O+B – АнОВ + облучение*

Наибольший интерес представляют случаи **антагонистического взаимодействия** изучаемых факторов, когда комбинированное их действие приводило к более благоприятному результату, нежели изолированное действие каждого из них.

Следует отметить, что, в отличие от синергических, антагонистические эффекты проявились на всех уровнях организации ЦНС.

На интегративном уровне антагонистические эффекты проявились в том, что в значительном числе случаев изолированное действие АнОВ вызывало

более выраженное угнетение двигательной и ориентировочно-исследовательской активности и повышение показателей пассивно-оборонительного поведения и страха, нежели комбинированное воздействие АиOB + центрифуга (что может быть объяснено тем, что сами факторы одной природы и противоположной направленности) или же АиOB+облучение (факторы принципиально разной природы) в тестах «открытого поля» (рисунки 4.1, 4.2, 4.3). То же относилось к некоторым показателям уровня тревожности животных как при 7-суточном (рисунок 4.2б), так и при 14-суточном воздействии (рисунок 4.10).



*Рисунок 4.10 – Падение тревожности в ПКЛ при комбинированном 14-суточном воздействии.*

*К – контроль; В – АиOB 14 сут., О – гамма-облучение 1 Гр, О+В – АиOB + облучение*

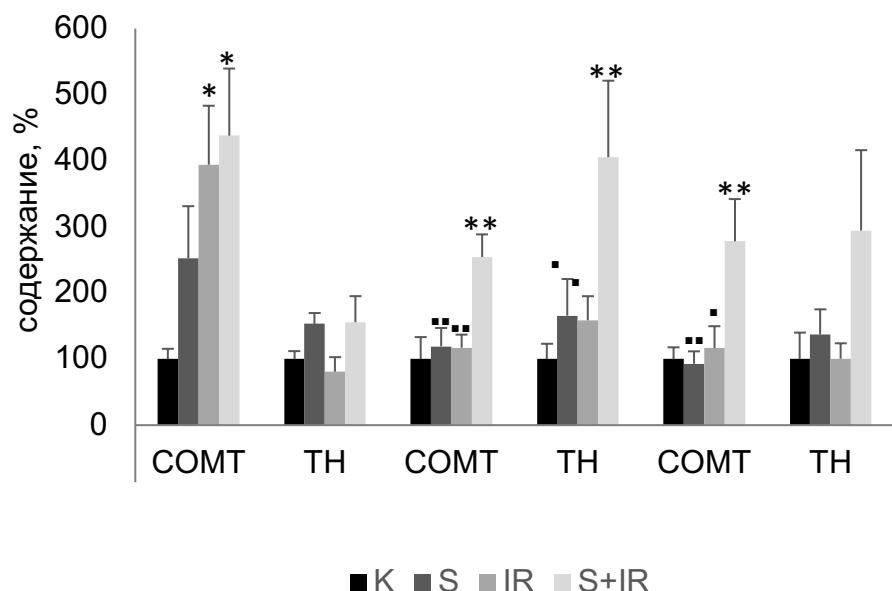
В моноаминергических системах эти эффекты проявились в более выраженным снижении концентрации норадреналина в прилежащем ядре при облучении, а также в более резком снижении в префронтальной коре содержания метаболитов дофамина – диоксифенилуксусной кислоты (ДОФУК) при вывешивании и триметокситирамина (ЗМТ) при облучении, чем при комбинированном воздействии.

Но наиболее ярко антагонистические эффекты взаимодействия этих факторов проявились на молекулярном уровне. Так, у группы «вывешивание» произошло резкое повышение экспрессии мРНК дофаминовых D1- (в гиппокампе) и D2- (в стриатуме) рецепторов. При комбинированном воздействии

наблюдалось повышение экспрессии серотониновых рецепторов в обеих этих структурах, превосходящее таковое у группы «только облучение», но меньшее, нежели у группы «только вывешивание» (рисунок 4.6 а, б).

В этих же структурах комбинированное воздействие сопряжено с резким повышением экспрессии СОМТ – фермента, обеспечивающего распад катехоламинов через катализ метилирования (рисунок 4.11).

Эти данные подтверждаются исследованиями зарубежных коллег [155], в которых при исследовании эффектов комбинированного действия АнOB и гамма-излучения выраженность апоптоза в коре мозга была выше при вывешивании, чем при комбинированном воздействии.



*Рисунок 4.11 – Рост экспрессии энзима СОМТ и тирозингидроксилазы, % от контроля. К – контроль, S – АнOB 30 сут., IR – гамма+протонное облучение, S+IR – комбинированное воздействие; справа налево попарно – кора, гиппокамп и стриатум*

Воздействие облучения оказало довольно ограниченное влияние на содержаниеmonoаминов и их метаболитов.

Так, снижение значения соотношения 5-ОИУК/5-ОТ на 16.1% позволяет сделать вывод о незначительном снижении метаболизма серотонина в гиппокампе. Вместе с тем было отмечено снижение содержание основного метаболита серотонина – 5-ОИУК на 36.3% и снижение значения соотношения

5-ОИУК/5-ОТ на 34.3% у облученных крыс по сравнению с показателями группы АиOB в гиппокампе.

Таким образом, наблюдались противоположные эффекты воздействия облучения и АиOB на серотонинергическую активность в гиппокампе. Известно, что проявление выработанной реакции замирания требует активации гипotalамо-гипофизарно-адренокортиkalной (ГГА) оси [199]. Более того, посредством активации серотониновых рецепторов в гиппокампе серотонин вызывает гиперполяризацию, подавление функций гиппокампа и последующее растормаживание оси ГГА. В свете этого значительное сокращение времени замирания (без влияния на тревожное поведение) в группе облученных животных может быть, напротив, связано с ингибиованием активности ГГА.

Рост уровня экспрессии 5-HT2a на 50.6% и СОМТ на 293.8% в префронтальной коре, снижение уровня экспрессии 5-HT2c на 68.6% в гиппокампе были выявлены в ответ на действие ионизирующих излучений. СОМТ является энзимом, метилирующим в катехоламинергических структурах ДА, НА, кофеин и катехолэстрогены. В префронтальной коре – структуре с низким метаболизмом ДА – СОМТ играет наиболее важную роль в модуляции трансмиссии ДА [200]. Таким образом, можно предположить, что изменения в экспрессии СОМТ могут выступать как гомеостатический регулятор ДА-иннервации в префронтальной коре, которая, в свою очередь, выступает, как предполагается, регулятором, обеспечивающим оптимальную активность структур префронтальной коры [201].

Многие пирамидальные нейроны активируются 5-HT1a и 5-HT2a рецепторами. Эти механизмы контроля способствуют уточнению паттернов активности, требуемых для решения когнитивных задач, что отражается в серотонинергической модуляции нейрональных осцилляций в префронтальной коре [202]. Вероятно, изменения в экспрессии СОМР и 5-HT2a могут быть маркерами тонких настроек активности нейросетей различного генеза в неокортексе. Возможно, за этими изменениями кроется известный в том числе и у человека, но не имеющий окончательного объяснения эффект дезингибиования ЦНС под действием небольших доз радиации.

Интересная картина наблюдается при анализе содержания моноаминов в группе животных, подвергнутых комбинированному действию факторов. Увеличение метаболизма серотонина было отмечено во всех анализируемых структурах, о чём свидетельствует рост содержания 5-ОИУК на 46.5% в префронтальной коре; 5-ОИУК и 5-ОИУК/5-ОТ – на 31.3% и 20.7% соответственно в гиппокампе; 5-ОИУК/5-ОТ – на 24% в стриатуме. Также было отмечено увеличение метаболизма дофамина в гиппокампе (увеличение концентрации ГВК на 76.9%) и в стриатуме (увеличение соотношения ГВК/ДА на 21%). Анализ экспрессии ключевых биомолекул-участников метаболизма моноаминов выявил следующие изменения: отмечается синхронный рост экспрессии СОМТ в префронтальной коре, гиппокампе и стриатуме на 337%, 154% и 87.5% соответственно; тирозингидроксилазы в гиппокампе на 305%; рецепторов D2 в гиппокампе на 207% и SERT в гиппокампе и стриатуме на 1953% и 757% соответственно.

Эти изменения, как и результаты поведенческого анализа, демонстрируют широкое разнообразие взаимодействий эффектов моделируемых ФКП, которое принимает различные формы – синергическую, антагонистическую, либо же приводит к появлению новых эффектов в отношении поведения, метаболизма моноаминов и их молекулярных механизмов.

## Заключение

Данные обширной серии экспериментов, проделанных в рамках настоящей работы, вкупе с опубликованными результатами независимых работ зарубежных коллег позволяют сделать ряд критически важных выводов.

**Во-первых**, из данных поведенческого тестирования, нейрохимического и молекулярно-биологического исследований можно заключить, что взаимное влияние факторов дальнего космического полета, моделируемых в наземном эксперименте – гипогравитации, гамма-облучения и облучения высокоэнергетическими ионами – носит сложный характер, зависящий от характеристик отдельных факторов и способа их сочетания, и не сводящийся к

аддитивному или антагонистическому взаимодействию – в частности, на поведенческом уровне возможно возникновение новых паттернов, например, одновременного повышения тревожности и уровня исследовательской активности.

**Во-вторых**, ведущая роль в характере нарушений, наблюдавшихся непосредственно по завершении синхронного действия гравитационного (АнОВ) и радиационного (гамма-облучение) факторов, принадлежит эффектам гравитационного фактора. В то же время эти нарушения являются переходящими и компенсируются сравнительно быстро, тогда как нарушения, вызванные действием радиационного фактора – в частности, ухудшение памяти, – сохраняются значительно большее время. Как следствие, картина эффектов действия модельных ФКП носит характер не только сложный, но еще и переменный во времени.

Изложенные обстоятельства приводят к необходимости использования в работах, посвященных воздействию факторов космического полета на нервную деятельность, комплексной физической модели, максимально близко воспроизводящей в наземных условиях все аспекты – характер, синхронность, продолжительность – нагрузок, имеющих место в реальном полете.

**Третьим выводом**, следующим из представленных данных, является формулировка параметров такой комплексной модели в виде ряда ключевых моментов (пункт №1 «Положений, выносимых на защиту»).

1. Гравитационный и радиационный факторы следует моделировать синхронным продолжительным воздействием АнОВ и гамма-облучения. Исходя из сравнительных результатов, полученных в ходе 7-, 14- и 30-дневного экспериментов, можно заключить, что для крыс наиболее показательные эффекты достигаются при продолжительности АнОВ 7 дней – в фазе первоначальной адаптации. Сответственно, первую фазу модели следует реализовать в виде 7-дневного АнОВ и параллельно проводимого синхронного гамма-облучения с низкой мощностью дозы (либо фракционированного, если иное невозможно по техническим причинам).

2. Исходя из данных [33] и [58] о потенциальной дозовой нагрузке, а также принимая в расчет видовую специфичность, дозу гамма-облучения за весь 7-дневный период первой фазы следует установить в промежутке от 1.0 до 1.5 Гр – в зависимости от энергии, фракционированности и иных технических параметров облучения.
3. Поскольку единственным возможным на современном этапе развития техники средством моделирования СКЛ/ГКЛ является острое облучение ионным пучком на ускорителе, вторую фазу моделирования следует проводить после первой, т.е. в период адаптации, с как можно меньшим разрывом по времени (технически реализуемо – на следующий день после завершения АиOB). Исходя из данных [176], воздействие следует осуществлять ионами с энергией, позволяющей считать градиент ЛПЭ незначительным (т.е. до пика Брэгга), за исключением ситуаций, когда требуется локальное облучение заданной области мозга. Чтобы отделить эффекты воздействия на ЦНС от последствий поражения других органов и лучевой болезни, которая может развиться при остром воздействии, целесообразно подвергать облучению только голову. Доза при этом может быть принята – в зависимости от Z используемых ионов – от 0.5 до 1.0 Гр, что соответствует модельным оценкам радиационной нагрузки в ходе Марсианской миссии с учетом видовой радиочувствительности.
4. Исследование эффектов модельных воздействий целесообразно проводить на двух временных отрезках: «ближнем» – в течение 7-10 дней после завершения модели – и «отдаленном» – в течение 3-4 месяцев для крыс и 1.5 - 3 лет для приматов.

## ГЛАВА 5. НЕЙРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ КОМБИНИРОВАННОЙ МОДЕЛИ ФКП И ИХ МЕХАНИЗМЫ

Данные, полученные в ходе экспериментов с синхронным комбинированным воздействием радиационного и гравитационного факторов космического полета, описанных в предыдущих главах, уникальны сами по себе, поскольку впервые позволили наблюдать картину сложного, названного интерференционным, взаимодействия нарушений, вызываемых этими различными факторами при синхронном действии. Очевидно, что как сами механизмы, так и развитие нарушений во времени требуют отдельного цикла исследований.

Поэтому в рамках диссертационной работы в целом сделано условное разбиение: ранние эксперименты, описанные в главах 3-4, можно считать скорее посвященными цели формирования самой модели комплексного воздействия, в то время как данная глава всецело посвящена именно нейробиологическим эффектам и механизмам.

Соответственно, в рамках экспериментов, проведенных в 2020-2023 годах на уже устоявшейся модели и описанных в данной главе, были решены следующие задачи:

- изучены краткосрочные и долгосрочные последствия воздействия модельных ФКП на ЦНС и возникающие на интегративном, нейрохимическом и молекулярном уровне нарушения; это позволяет полнее оценить взаимно модифицирующее интерференционное влияние ФКП;
- описаны механизмы возникновения нарушений и ответа организма на различных уровнях, что, в свою очередь, позволяет оценить степень риска для экипажа перспективных пилотируемых космических миссий;
- проведена оценка роли индивидуальных типологических характеристик ВНД в ответе организма грызунов и приматов на модельные воздействия, что, опять же, позволило экстраполировать полученные данные на человека и предложить направления для перспективных исследований.

В экспериментах этого цикла:

- использовались преимущественно крысы линии Long Evans и макаки-резусы;
- применялась схема с разделением животных по типологическим особенностям ВНД;
- внедрен тест УРАИ с пространственным ориентированием в Y-лабиринте (дифференцировочный УРАИ), позволяющий оценивать долгосрочные когнитивные нарушения у крыс;
- само воздействие производилось по отработанной и постоянной схеме, что позволяет сопоставлять данные, полученные в ходе различных экспериментов, не только качественно, но и количественно.

На рисунке 5.1 представлена общая план-схема единичного эксперимента на грызунах, по которой проводились все работы, описанные в данной главе.

Варьировались сроки тестирования после воздействий:

- для оценки **краткосрочных** последствий брали 4 последовательных дня в Y-лабиринте и не проводили тест Морриса, что позволяло взять пробы мозга для нейрохимических исследований спустя неделю после воздействий;
- для **средне-** (60 дней) и **долгосрочных** (240 дней) экспериментов после первых 4 дней тест в Y-лабиринте повторялся 3-5 раз с интервалом 1 месяц, что позволяло оценить сохранность ранее выработанного рефлекса.

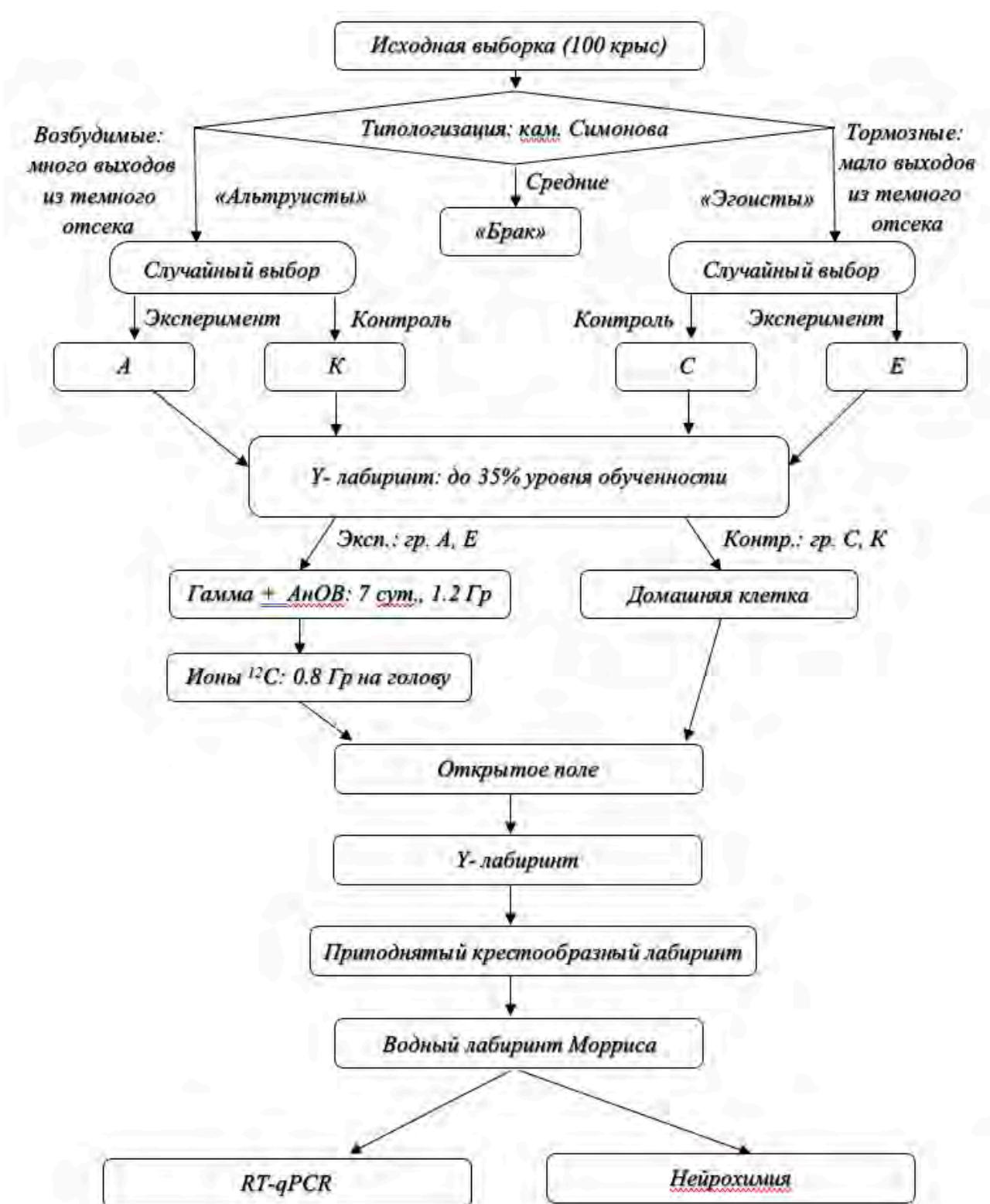


Рисунок 5.1 – Дизайн эксперимента на крысах

## 5.1 Кратко- и среднесрочные последствия у крыс

### Типологизация

Оценка индивидуальных типологических особенностей у крыс используется в мировой практике сравнительно редко, поэтому наряду с общим описанием технических аспектов методики, данным в главе 2, представляется разумным также привести описание реального эксперимента.

В первом эксперименте цикла (ноябрь 2019 – февраль 2020) [203] для определения животных с наиболее выраженными чертами различных типологий было взято 68 самцов линии LongEvans массой от 160 до 200г, содержавшихся в стандартных клетках по 7-8 особей в клетке. Доступ к корму (синтетический полнорационный) и воде свободный. Также было использовано 32 крысы линии LongEvans в качестве «жертвенных» для помещения в шоковый отсек камеры Симонова. Общее число животных в эксперименте – 100 голов.

В ходе тестирования все крысы, не задействованные в конкретный момент в teste, были удалены из помещения с установкой и не могли слышать происходящего.

Освещенность в комнате составляла 60 лк/см<sup>2</sup>, посторонние шумы, движение операторов установки и прочие раздражающие факторы сведены к минимуму.

Тестирование проводилось 2 дня по 5 минут (300 секунд) на каждое животное. Изначально животное высаживалось в дальний от входа в темный отсек угол светлого отсека. Замерялись: количество входов в темный отсек и общее время, проведенное в темном отсеке. Выяснилось, что эти параметры имеют обратную зависимость.

В первый день среднее время в темном отсеке составило 254 сек. (медианное – 272 сек.) с разбросом от 17 до 299 сек. при среднем количестве входов 4.4

На второй день общая тревожность крыс снизилась и среднее время составило 278 сек. (медианное – 288 сек.) с разбросом от 172 до 297 секунд, что демонстрирует расхождения в поведении индивидуумов. Среднее количество входов составило 2.8.

Для дальнейшей работы из общего массива были отобраны четыре группы по 8 животных:

- группа А («Альтруисты» по терминологии Симонова) – наименьшее время в темном отсеке, наибольшее число входов, соответственно, можно сделать вывод о наивысшей тревожности;
- группа Е («Эгоисты») – наибольшее время в темном отсеке, наименьшее число входов;
- группа С (контроль – «эгоисты») – подобраны таким образом, чтобы примерно соответствовать средним значениям группы Е;
- группа К (контроль – «альтруисты») – аналогично группе А.

Измеренные и осредненные параметры по группам даны в таблице 5.1.

Можно видеть, что крысы группы Е вообще не реагируют на сигналы «жертвенной» крысы, тогда как крысы групп А и К реагируют достаточно активно, совершая до 10 (в среднем 6 и 7 соответственно) кратковременных выходов из темного отсека.

Следует заметить, что животных, проявляющих выраженные черты «Эгоистов» или «Альтруистов» сравнительно мало (порядка 10% от исходной выборки – «Альтруисты» и 20% – «Эгоисты»), поэтому в последующих работах для повышения чистоты эксперимента были приняты две встречные меры – число животных в исходной выборке увеличено до 96, а число отобранных в рабочие группы животных – снижено до 6.

Таблица 5.1. Параметры типологизации крыс

Параметр\Группа	Общая	А	Е	С	К
Времяср.	278	234	296	278	234
Входы	2.8	6.1	1	2.8	7.0
Времямедиана	288	233	296	278	232

## Поведение

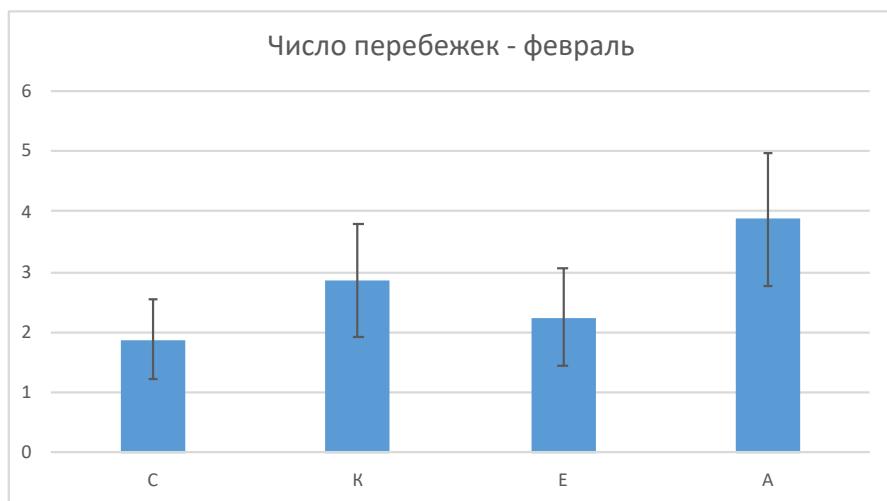
Через 2 недели после облучения в приподнятом крестообразном лабиринте обнаруживается разница между облученными (А и Е) и необлученными (С и К) животными. Необлученные животные активнее выходят на открытое пространство (всего вышли 14 из 16 необлученных и 7 из 16 облученных), проводят там больше времени (10.5 сек. против 3.7 сек. соответственно).

Аналогичная разница наблюдается между группами А и Е: количество вышедших на открытое пространство составило 2 и 5, суммарное время выхода – 3.3 и 4.0 сек. соответственно.

Вместе с тем никаких статистически достоверных различий между группами в числе перебежек, среднем количестве выходов, латентных периодах обнаружить не удалось.

Во втором тесте ПКЛ, проведенном спустя 2.5 месяца после воздействий, выходов на открытое пространство животные из групп С, Е и К не совершали, в группе А вышли только две крысы, поэтому данные о количестве выходов на открытое пространство можно считать вполне случайными.

Вместе с тем число перебежек между рукавами лабиринта во втором тесте достоверно варьировалось: возбудимые крысы продемонстрировали большую активность, нежели тормозные, а облученные – нежели контрольные (рисунок 5.2).



*Рисунок 5.2 – Возбудимые крысы (А и К) более активны в ПКЛ*

Обучение и тестирование по методике УРАИ проводилось после воздействий, начиная с третьего дня. В течение первых 4 дней был сформирован исходный уровень обученности порядка 50%, далее испытание повторялось по одному дню с интервалом в месяц (ноябрь, декабрь и январь), по 15 предъявлений для каждого животного.

При этом регистрировались:

- количество правильных переходов;
- время избегания (интервал между условным сигналом и правильным переходом – среднее по дню для животного);
- время избавления (интервал между шоковым сигналом и правильным переходом – среднее по дню для животного);
- количество отказов;
- количество межсигнальных реакций.

График, отражающий рост обученности (количество правильных переходов) по группам, приведен на рисунке 5.3, соответствующий график для времени избавления – на рисунке 5.4.

Можно видеть, что возбудимые крысы группы А за первые четыре дня теста достигли уровня обученности 55%, превзойдя остальные группы. Аналогично возбудимые крысы группы К (контроль – “альtruисты”) статистически достоверно превзошли тормозных крыс групп С и Е по обоим параметрам – времени избавления и обученности.

При последующих испытаниях, однако, группа А не только медленнее обучалась, но и демонстрировала частичную утрату выработанного УРАИ, аналогичный результат показала группа К. Тормозные облученные крысы группы Е демонстрировали практически линейное улучшение показателей вплоть до уровня обученности 74%.

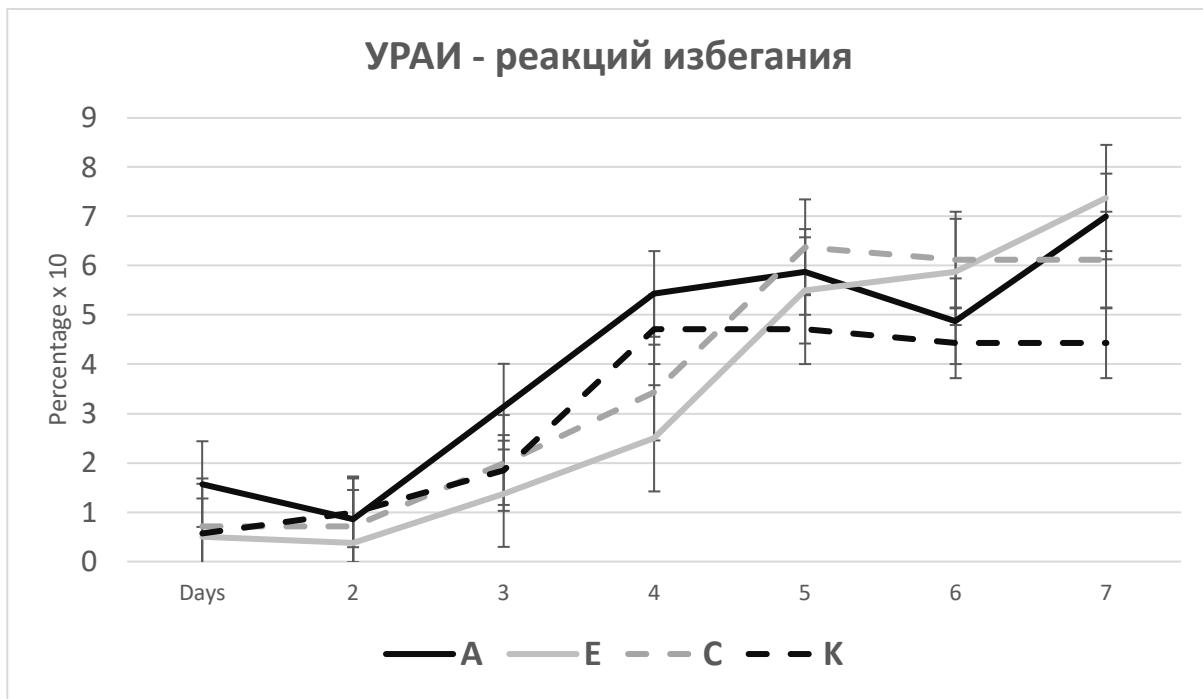


Рисунок 5.3 – Динамика обучения животных в У-лабиринте – % «правильных» переходов

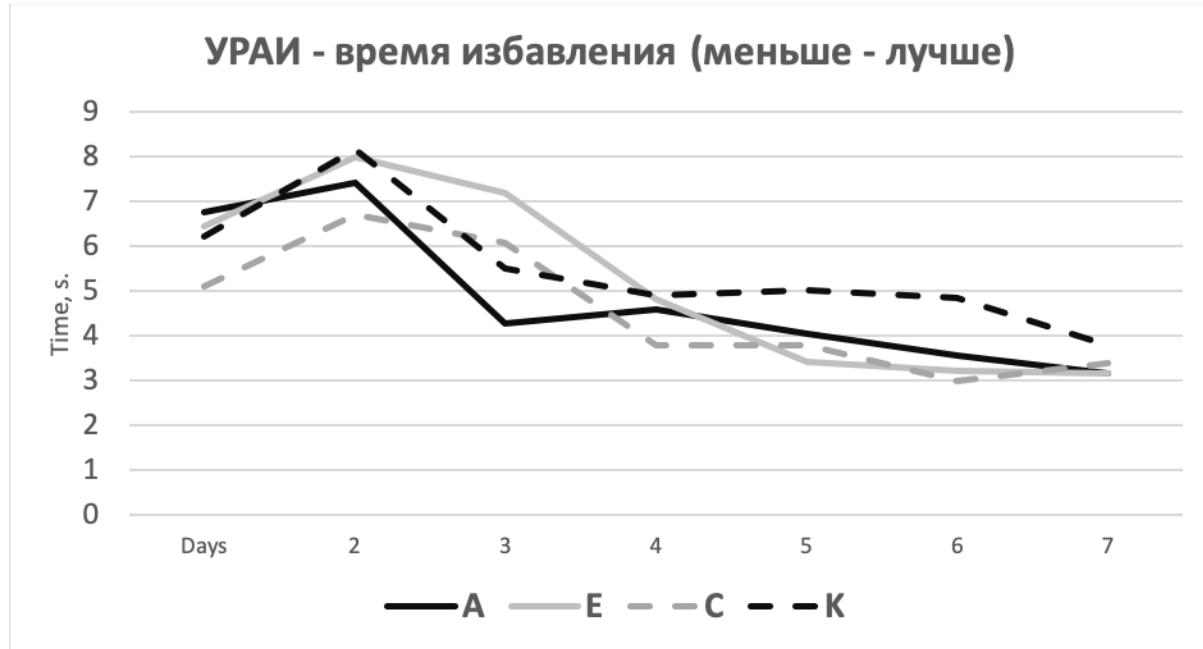
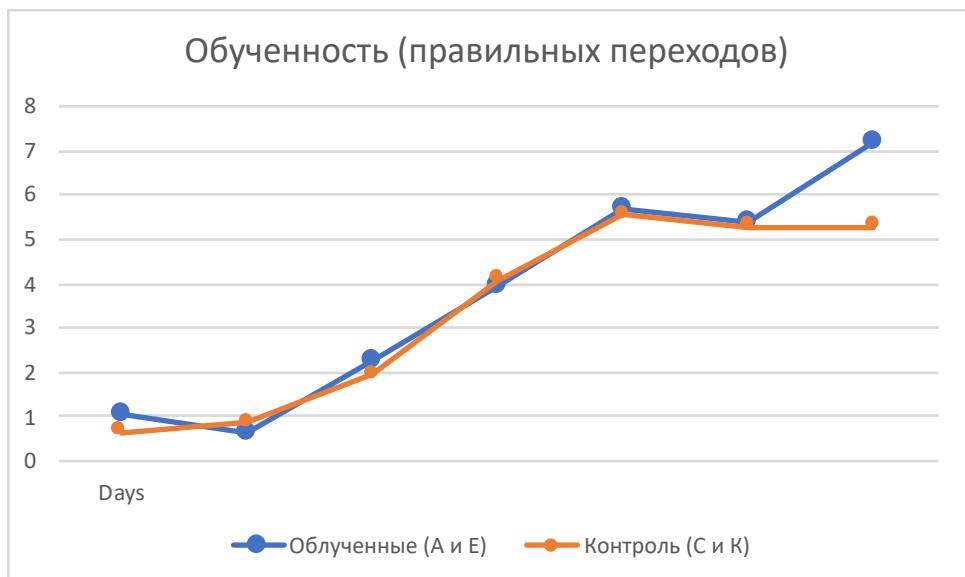


Рисунок 5.4 – Динамика обучения в У-лабиринте – время действия негативного стимула

В среднем облученные крысы из групп А и Е проходили тест практически идентично с контрольными, продемонстрировав преимущество только в последней сессии, в конце января, т.е. спустя 3 месяца после воздействий. Соответствующий график представлен на рисунке 5.5



*Рисунок 5.5 – Динамика обучения без разбивки по типам ВНД*

Аналогичные результаты наблюдались в ранее проводившихся тестах УРАИ с “челночной камерой”. По-видимому, такие результаты свидетельствуют, во-первых, о более высокой пластичности нервных процессов у крыс группы А в сравнении с группой Е, а во-вторых – о влиянии в долгосрочной перспективе компенсационных процессов в нервной ткани у облученных крыс (в сравнении с необлученными С и К).

Тестирование в водном лабиринте Морриса (далее – ВЛМ) производилось в течение 8 дней подряд в конце эксперимента, спустя 3 месяца после воздействий. В первые четыре дня платформа была установлена на одном месте, крыс запускали в лабиринт по 3 попытки в день, с интервалом между попытками 80-90 минут, максимальная длительность одной попытки – 60 секунд. Животное запускалось каждую попытку с нового места, соответственно, ориентирование производилось по внешним “маякам”. Замерялось время, требуемое на отыскание платформы, если 60 секунд не хватало для отыскания, то экспериментатор показывал платформу указкой, а время засчитывалось как 60 секунд.

На пятый день платформа была перемещена на другое место, и в течение 4 дней производилась переделка выработанного навыка при всех прочих идентичных условиях.

Все тесты записывались на видео и анализировались при помощи ПО Bonsai.

Ввиду задействования в ранее описанной методике УРАИ элементов пространственного ориентирования и, как следствие, заметной схожести методик УРАИ и ВЛМ в части задействования гиппокампа, полученные результаты оказались ожидающими схожи. Следует, однако, напомнить, что испытания по методике УРАИ проводились на протяжении 3 месяцев и отражают процессы восстановления ЦНС после воздействий, тогда как тест ВЛМ был выполнен фактически единоразово, в феврале, и больше отражает установившееся состояние ЦНС и отдаленные последствия воздействий.

Значимых различий между группами в ходе первоначального обучения не выявлено, однако после переноса платформы (5-8 дней) в ходе переделки навыка достоверно выражается разница между группами А и Е, причем тормозные крысы группы Е обучаются успешнее, как и в teste УРАИ (рисунок 5.6).

Также из графика видно, что в первый день после перемещения платформы возбудимые крысы справились с задачей ее отыскания лучше – это указывает на их более высокую активность в поиске, в частности, меньший процент дрифта и более высокую среднюю скорость (по данным, полученным с помощью видеонаблюдения).

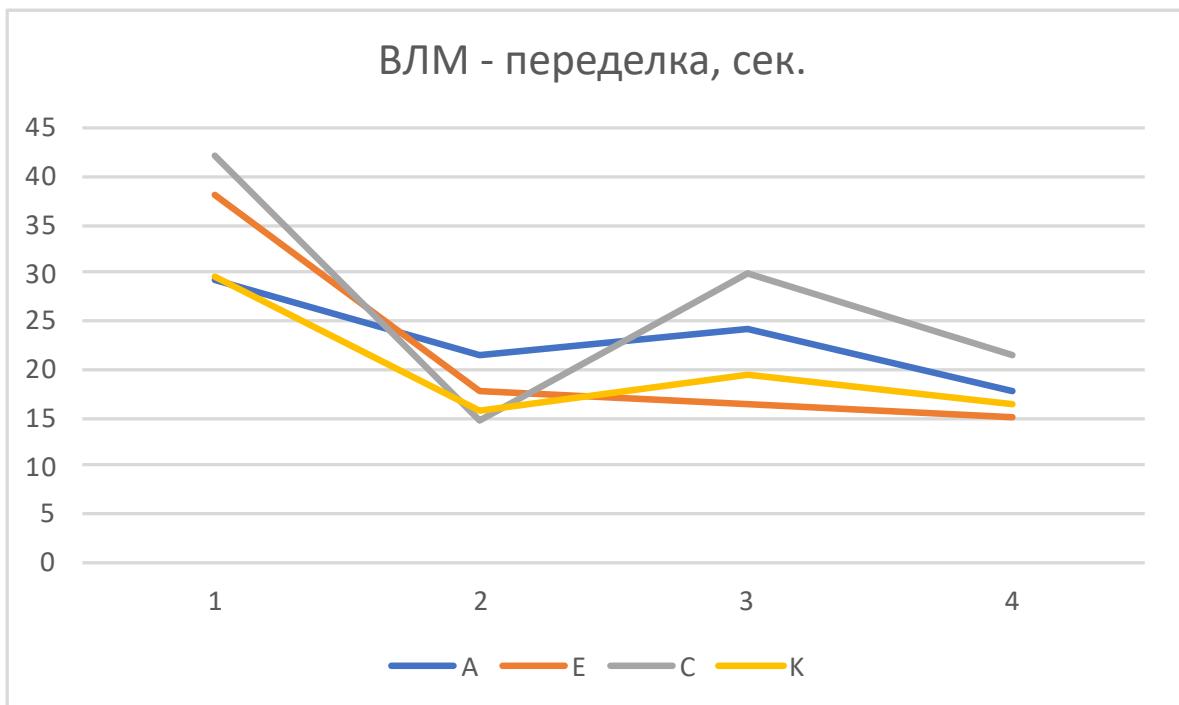


Рисунок 5.6 – Динамика обучения в ВЛМ после переноса платформы

## Нейрохимические изменения

Завершающим этапом исследований послужило взятие проб мозговой ткани всех подопытных животных (с умерщвлением) и исследование следующих нейрохимических показателей (концентраций нейромедиаторов и их метаболитов):

- норадреналина (*NA, HA*);
- дофамина (*DA, ДА*);
- серотонина (*5-HT, 5-OT*);
- 5-гидроксииндолуксусной кислоты (*5-HIAA, 5-ОИУК*);
- гомоанилиновой кислоты (*HVA, ГВК*);
- 3-метокситирамина (*3MT*);
- диоксифенилуксусной кислоты (*DOPAC, ДОФУК*).

Для исследования были взяты префронтальная кора, гипоталамус и таламус головного мозга. Значимые различия обнаружены в концентрациях:

- дофамина в префронтальной коре – между группами *A* и *E* (0,30 против 0,48 мкМ/г ткани соответственно) и *K* и *C* (также 0,30 и 0,48 мкМ/г ткани);
- дигидроксифенилуксусной кислоты в таламусе – между *A* и *E* (0,38 и 0,83 мкМ/г).

Результаты нейрохимического исследования представлены в таблице 5.2.

Таблица 5.2. Нейрохимические отличия. Крысы LongEvans, 3 месяца после воздействий; А и Е – «альtruисты» и «эгоисты» опыт; К и С – контроль к А и Е

Гр.	NA	5-HT	DA	5-HIAA	HVA	DOPAC	3МТ
<b>Префронтальная кора</b>							
A	<b>1,52±0,22</b>	<b>0,8±0,3</b>	<b>0,3±0,12 *</b>	<b>0,56±0,16</b>	<b>0,86±0,75</b>	<b>0,3±0,18</b>	<b>1,06±1,00</b>
E	<b>1,52±0,24</b>	<b>1,08±0,59</b>	<b>0,48±0,20</b>	<b>0,62±0,08</b>	<b>0,73±0,52</b>	<b>0,22±0,06</b>	<b>0,56±0,34</b>
K	<b>1,4±0,61</b>	<b>0,8±0,31</b>	<b>0,3± 0,12*</b>	<b>0,4±0,21</b>	<b>0,5±0,37</b>	<b>0,2±0,02</b>	<b>0,6±0,4</b>
C	<b>1,6±0,4</b>	<b>0,89±0,35</b>	<b>0,48±0,22</b>	<b>0,5±0,17</b>	<b>0,5±0,25</b>	<b>0,2±0,06</b>	<b>0,9±0,45</b>
<b>Таламус</b>							
A	<b>3,7±1,8</b>	<b>0,52±0,44</b>	<b>0,99±0,72</b>	<b>0,3±0,25</b>	<b>0,71±0,45</b>	<b>0,38±0,22 *</b>	<b>0,53±0,12</b>
E	<b>2,18±0,16</b>	<b>0,74±0,52</b>	<b>3,60±3,77</b>	<b>0,65±0,43</b>	<b>0,83±0,5</b>	<b>0,83±0,47</b>	<b>0,41±0,21</b>
K	<b>1,83±0,54</b>	<b>0,38±0,25</b>	<b>0,49±0,23</b>	<b>0,36±0,05</b>	<b>0,29±0,16</b>	<b>0,26±0,7</b>	<b>0,47±0,31</b>
C	<b>2,67±0,86</b>	<b>0,53±0,48</b>	<b>5,7±9,2</b>	<b>0,31±0,21</b>	<b>1,04±0,92</b>	<b>0,86±0,96</b>	<b>0,58±0,3</b>

Полученные данные хорошо сочетаются с данными статьи [204], демонстрирующей существенные различия в метаболизме дофамина и серотонина у мышей в зависимости от социальной активности.

По-видимому, животные группы А, более возбудимые и проявляющие более высокий уровень «социализации» в камере Симонова, обладают повышенным метаболизмом нейромедиаторов. Также на метаболизм, скорее всего, влияют (в сторону ускорения) процессы, вызванные компенсаторными процессами в нервной ткани после облучения ТЗЧ. Повышенный метаболизм, в свою очередь, ускоряет как формирование навыков – в частности, в тесте УРАИ – так и их утрату.

Более высокий метаболизм нейромедиаторов должен провоцировать и более высокий общий тонус организма, что хорошо согласуется с данными, полученными в ходе тестов, не требующих обучения – “Открытое поле”, “Приподнятый крестообразный лабиринт”, а также с результатами взвешивания животных [205].

## 5.2 Долгосрочные последствия комбинированного воздействия у крыс

Исследование долгосрочных (8 месяцев, приблизительно 1/3 продолжительности жизни) последствий модельного воздействия проведено на крысах Long Evans возрастом 1.5-2 месяца на начало эксперимента (масса животного 150-200г.) [206]. Исходная выборка составляла 100 голов, из которых по методике Симонова были отобраны группы с выраженными признаками типологии:

- «Альтруисты – опыт» (*A*),  $n=6$ ;
- «Эгоисты – опыт» (*E*),  $n = 6$ ;
- «Альтруисты – контроль» (*K*),  $n = 5$ ;
- «Эгоисты – контроль» (*C*),  $n = 5$ .

Животные, не вошедшие в рабочие группы, т.е. показавшие средние значения числа выходов и времени пребывания в темном отсеке, были возвращены в виварий.

Воздействия осуществлены по описанной в главе 4 модели: 7-суточное комбинированное АнОВ+Гамма (1.2 Гр) и на следующий день – облучение головы ионами  $^{12}\text{C}$  450 МэВ/нуклон в дозе 0.8 Гр.

### Поведенческие тесты

#### • Открытое поле

Результаты тестирования животных в «открытом поле», проведенного на следующий день после воздействий, в целом не выявили значимых различий в поведении крыс разных типологических групп. Различия между экспериментальными группами и контролем выражались лишь в виде тенденций, подтверждающих, однако, выводы предыдущих исследований. Они проявились в более высоких показателях двигательной активности крыс с высокой возбудимостью по сравнению с преимущественно тормозными животными и контролем.

По показателям латентного периода выхода в центр «открытого поля» и времени пребывания в нем существенных различий между экспериментальными группами получено не было, однако по времени пребывания в центре показатели крыс обеих экспериментальных групп были существенно ниже контрольных, что может свидетельствовать о повышении тревожности в результате экспериментальных воздействий. В то же время понятия «тревожности» в общепринятом виде и «возбудимости» по Симонову связаны сравнительно слабо.

#### • Приподнятый крестообразный лабиринт

Исследование тревожности животных в приподнятом крестообразном лабиринте для крыс всех 4 групп было проведено через месяц после экспериментальных воздействий по методике, описанной в главе 2.

Полученные результаты в целом укладываются в выдвинутую ранее гипотезу о различиях в поведении крыс исследуемых групп с противоположными характеристиками ВНД. Экспериментальные крысы с повышенной возбудимостью (grp. A) продемонстрировали самое низкое число выходов в открытый отсек ПКЛ по сравнению с животными с преобладанием торможения и контролем ( $P<0.05$ , тест Левена), что свидетельствует о сохраняющейся повышенной их тревожности через месяц после экспериментальных воздействий (рисунок 5.7).

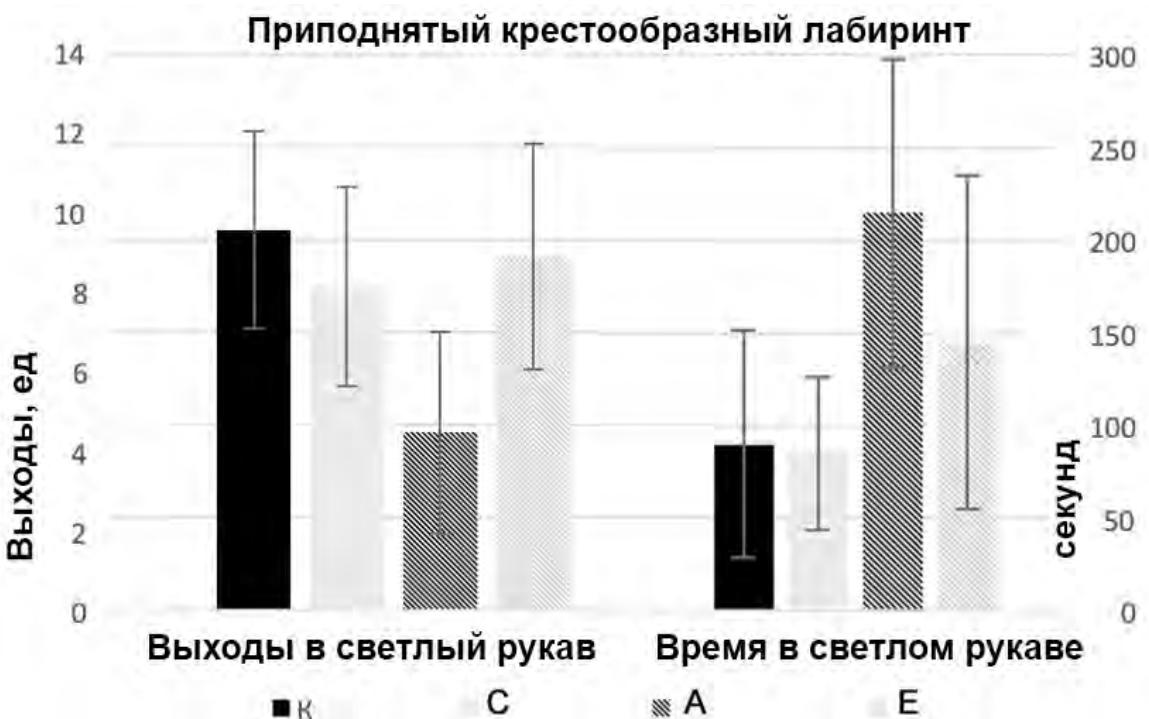


Рисунок 5.7 – ПКЛ через месяц после воздействий: тревожность групп А и Е повышена

Несколько неожиданным результатом явились более высокие (на грани достоверного,  $p \sim 0.06$ ) показатели общего времени в светлом отсеке для обеих экспериментальных групп по сравнению с контролем. Можно предположить, что это может быть связано с угнетением исполнительных механизмов ориентировочной реакции в гипоталамусе и ретикулярной формации в результате облучения [211].

Таким образом, тестирование в ПКЛ в целом выявило тенденции, подтверждающие результаты исследования поведения животных в «открытом поле». Экспериментальные воздействия приводят к повышению тревожности, различия между крысами разных типологических групп отчетливо выявляются в данном teste. Как было показано ранее, эти различия сохраняются в течение достаточно длительного времени после экспериментальных воздействий – как между экспериментальными и контрольными животными, если не учитывать типологического разделения, так и между крысами разных типологических групп, если сравнивать экспериментальных «альtruистов» и «эгоистов» [203].

Поскольку эффекты воздействия АнОВ без облучения не имели такой длительности, следует в очередной раз отметить сложный характер сочетания последствий моделируемых ФКП.

#### • УРАИ в У-лабиринте

Исходный уровень обучения крыс, достигнутый в результате 4-дневного обучения до воздействий, составлял 35% правильных переходов. Соответственно, целью тестирования после воздействий было закрепление приобретенного рефлекса либо фиксация факта его утраты при редко повторяющемся тестировании.

В данном эксперименте тестирование повторялось после первоначального обучения по одному дню с интервалом в месяц, по 15 сеансов для каждого животного.

График, отражающий общую динамику обучения по группам, приведен на рисунке 5.8.

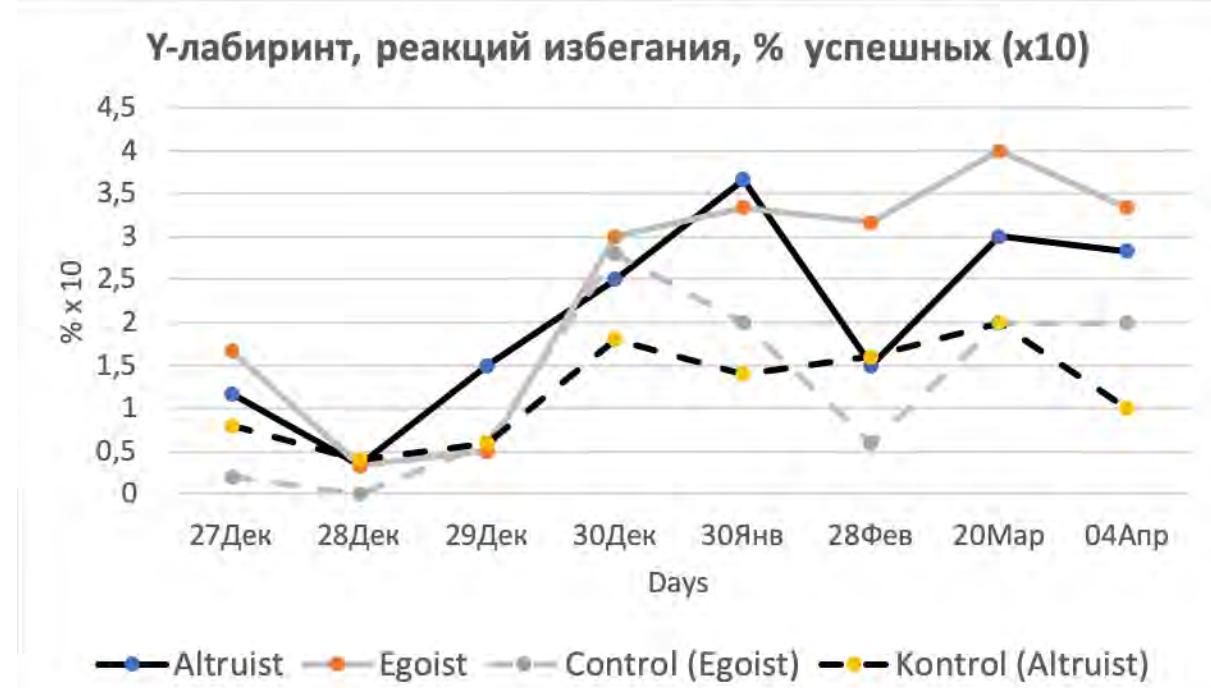
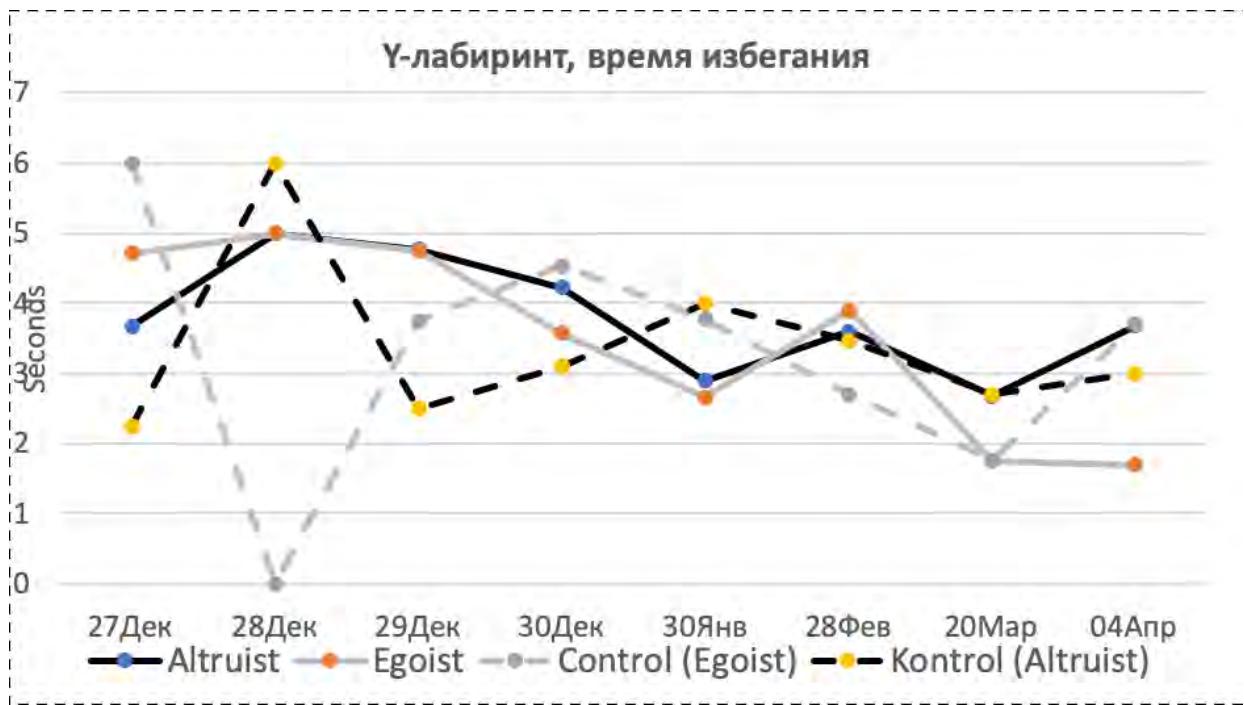


Рисунок 5.8 – Динамика УРАИ в Y-лабиринте после воздействий

Можно видеть, что возбудимые крысы группы А за первый этап (пять дней последовательно) теста достигли уровня обучения 37%, превзойдя животных остальных групп и восстановив показатель 35%, имевший место до воздействий.

При последующих тестированиях (один раз в месяц), однако, крысы группы А не только медленнее обучались, но и демонстрировали частичную утрату выработанного УРАИ; аналогичный результат показала группа К. После 3-го месяца редкого (раз в месяц) повторения теста выработанный УРАИ начинает ослабевать у всех групп. Особенно хорошо это заметно при измерении времени избегания, которое к апрелю начинает возрастать у всех групп (рисунок 5.9).

Тормозные облученные крысы группы Е, однако, демонстрировали практически линейное улучшение показателей вплоть до уровня обучения 40%, в итоге продемонстрировав наилучшие показатели среди всех животных. Интересно, что хотя крысы из групп А и Е проходили предварительное обучение наравне с контролем, тесты после воздействия они выполняли лучше контрольных, что, по-видимому, свидетельствует о большей пластичности нервных процессов в период восстановления после экспериментальных воздействий.



*Рисунок 5.9 – Динамика времени избавления в тесте УРАИ (памятный след)*

В целом очевидно, что повторение теста с интервалом в месяц плохо укрепляет исходно приобретенный УРАИ, тормозные крысы некоторое время сохраняют уровень обученности, тогда как более возбудимые животные могут утрачивать навык.

Через 3 месяца после воздействий все животные начинают утрачивать памятный след, что характеризуется одновременно ростом времени избегания и падением числа правильных попыток.

Особо следует отметить «шестой день» теста, т.е. повтор 28 февраля 2021 года, через два месяца после воздействий. Данный день характеризовался крайне неблагоприятными метеорологическими условиями: если накануне атмосферное давление составляло 736 мм.рт.ст, то к утру следующего дня оно поднялось до 753 мм.рт.ст, скорость подъема достигала 1 мм.рт.ст. в час (данные метеоархива gr5.ru). По-видимому, такое колебание погоды оказало сильное угнетающее действие на животных, однако следует констатировать, что группа Е опять-таки оказалась наиболее устойчивой и к этому воздействию.

Сходные результаты наблюдались в ранее проводившихся тестах УРАИ с “челночной камерой” [208]. По-видимому, такие результаты свидетельствуют, во-

первых, о более высокой пластичности нервных процессов у крыс группы А в сравнении с группой Е, а во-вторых – о влиянии в долгосрочной перспективе компенсационных процессов в нервной ткани у облученных крыс (в сравнении с необлученными С и К). Здесь уместно вспомнить о наблюдавшемся в работе [98] феномене «голографической памяти», когда удаление даже значительных, более 50%, участков коры приводило к ухудшению воспроизведения, но не утрате рефлекса, что свидетельствует не просто о чрезвычайных компенсационных возможностях, но и о колossalном резервировании памяти.

#### • *Взвешивание*

Взвешивание крыс было произведено 7 апреля 2021г., по завершении поведенческих тестов. Использовались электронные весы с заявленной точностью 0.1 грамм. Результаты сведены в таблицу 5.3.

Таблица 5.3. Масса крыс по группам

Группа	А	Е	К	С	Опытные, сп.	Контроль, сп.
Масса	418,6	444,3	472	449	431,5	460,5
Ст. откл.	28,5	33,8	32,6	35,4	32,7	34,3

В первом эксперименте серии возбудимые крысы весили достоверно больше тормозных, а контрольные – больше опытных. В 2021 году статистически достоверного различия между группами выявить не удалось, хотя контрольные животные близки к тому, чтобы быть достоверно тяжелее. Ранее было выдвинуто предположение, что возбудимые крысы больше едят, а, будучи в условиях тесной клетки, лишены возможности активно двигаться, набирают вес. С учетом того, что в прошлом эксперименте в клетках содержалось по 8 животных, а в этом – по 6 (по 5 в контроле) и, следовательно, крысы получили больше пространства для движения, изменение разницы в весе выглядит логичным.

## Нейрохимические изменения

Завершающим этапом исследований послужило взятие проб мозговой ткани всех подопытных животных (с умерщвлением) и исследование концентраций нейромедиаторов и их метаболитов.

Для исследования были взяты префронтальная кора, гипоталамус и таламус головного мозга.

В результате исследований в таламусе и префронтальной коре обнаружены существенные различия между группами:

- «возбудимые» А и К имеют достоверно ( $p=0.03$ ) значительно более высокую концентрацию ГВК в таламусе (рисунок 5.10);
- опытные А и Е имеют умеренно достоверно ( $p=0.05$ ) повышенный метаболизм дофамина (отношение ДОФУК/ДА) во фронтальной коре (рисунок 5.11).

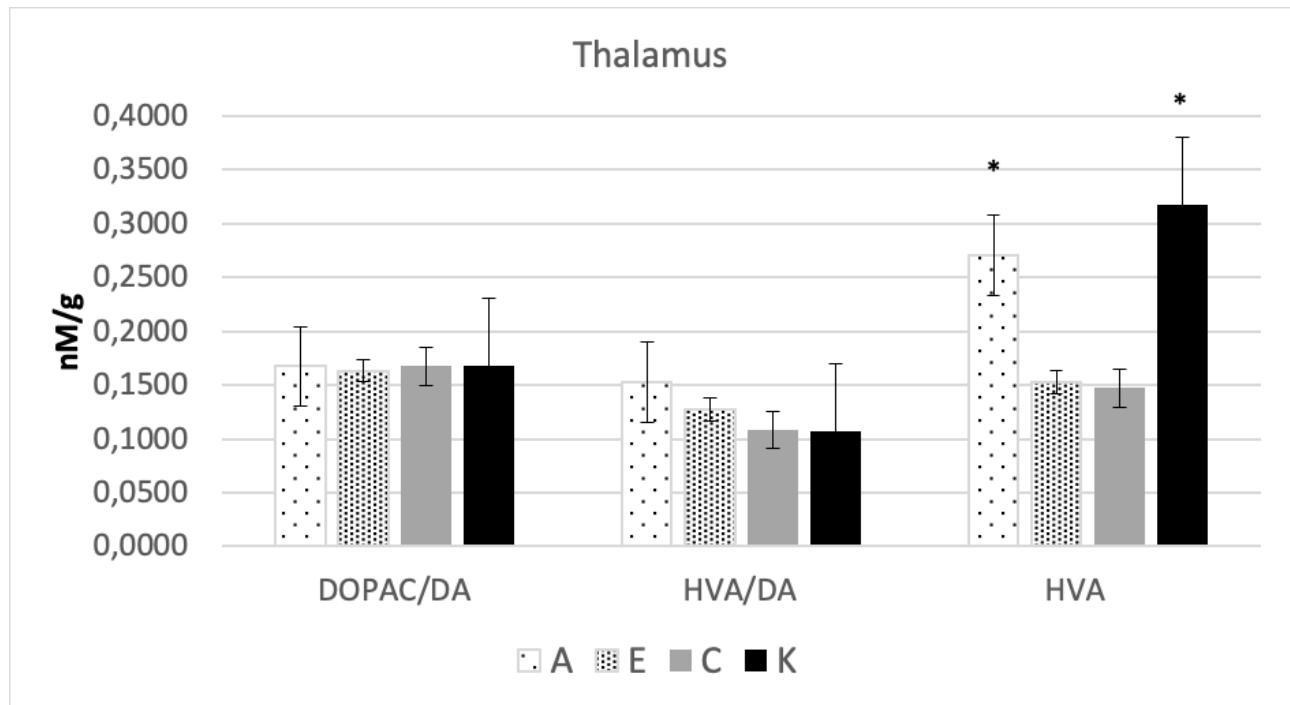
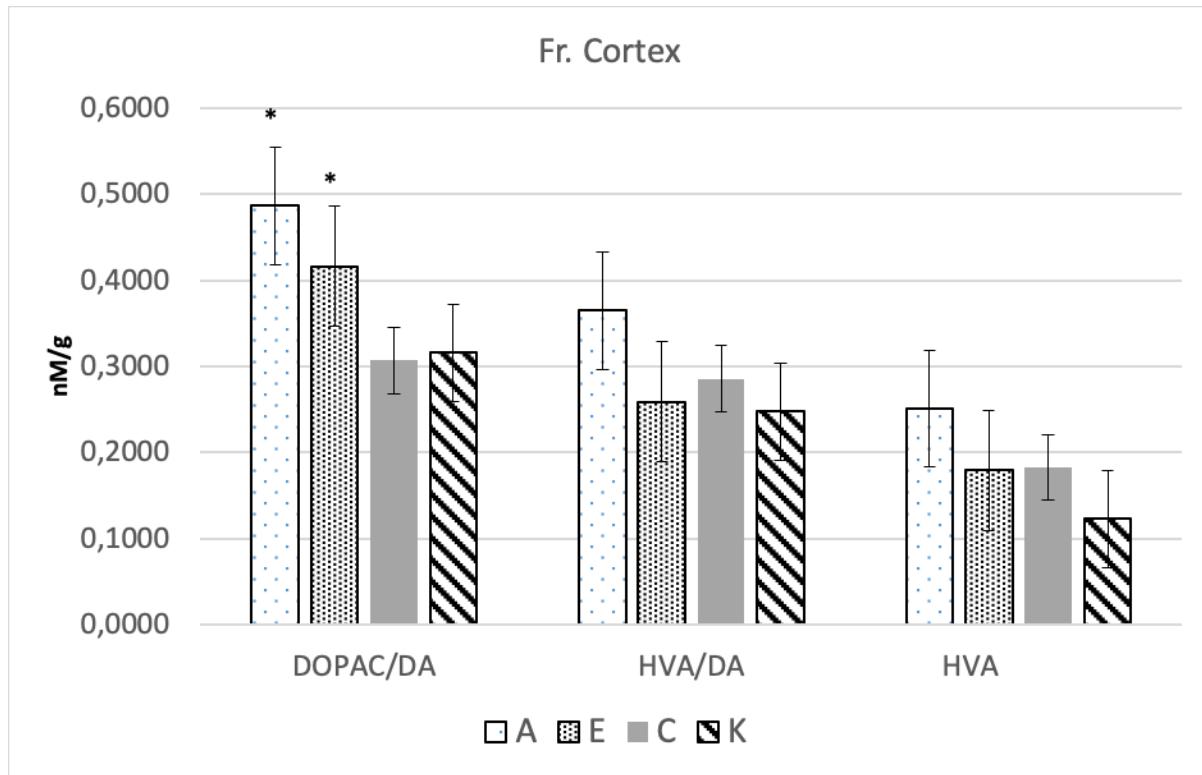


Рисунок 5.10 – Возбудимые (A и K) имеют достоверно большую концентрацию ГВК



*Рисунок 5.11 – Повышенное отношение ДОФУК/ДА у облученных сохраняется через 5 мес. после воздействий*

Значимых различий в концентрациях нейромедиаторов и метаболитов в гиппокампе выявить не удалось.

По-видимому, животные группы А, более возбудимые и проявляющие более высокий уровень «социализации» в камере Симонова, обладают повышенным метаболизмом нейромедиаторов. Также на метаболизм, скорее всего, влияют (в сторону ускорения) процессы, вызванные компенсаторными процессами в нервной ткани после облучения ТЗЧ. Повышенный метаболизм, в свою очередь, ускоряет как формирование навыков – в частности, в тесте УРАИ – так и их утрату.

Более высокий метаболизм дофамина должен провоцировать и более высокий общий тонус организма, что хорошо согласуется с данными, полученными в ходе тестов, не требующих обучения – “Открытое поле”, “Приподнятый крестообразный лабиринт”, а также с результатами взвешивания животных.

Полученные данные подтверждают ряд существенных тезисов, послуживших основным мотивом исследования.

**Во-первых**, показано, что воздействия, моделирующие ключевые факторы дальнего космического полета, хотя и имеют последствия для работы ЦНС, тем не менее, не являются фатальными и не нарушают работы ключевых структур мозга, в частности, гиппокампа, фронтальной коры, прилежащего ядра. Как следствие, не нарушается фатальным образом работа основных механизмов на интегративном уровне – краткосрочной и долгосрочной памяти, пространственного ориентирования, выработки рефлексов.

Период, в течение которого обнаруживаются различия на интегративном уровне, составляет порядка одного месяца, в дальнейшем различия утрачиваются. Вместе с тем на нейрохимическом уровне отдельные различия наблюдаются даже спустя 5 месяцев после воздействий.

**Во-вторых**, была впервые показана радиочувствительность префронтальной коры, считавшейся до недавних пор исключительно резистентной. Несмотря на сохранность в целом когнитивных функций, ассоциируемых с этим отделом мозга – прежде всего, исполнительной функции, – на нейрохимическом уровне наблюдаются значительные изменения в работе реципроко связанных дофаминергической и серотонинергической нейромедиаторных систем. Тот факт, что эти изменения не полностью зеркальны аналогичным изменениям в таламусе, может указывать на нарушение связности между отделами и требует дальнейшего исследования.

**В-третьих**, даже линейные, содержащиеся в абсолютно одинаковых условиях, животные объективно подразделяются на различные группы, соответствующие врожденным типологическим особенностям функционирования их ЦНС, при этом животные из этих групп демонстрируют статистически достоверную разницу как при прохождении тестов, так и при нейрохимическом исследовании.

Животные возбудимого типа более подвержены воздействию как модельных факторов, так и факторов внешней среды.

**В-четвертых**, более возбудимые животные («Альтруисты» по терминологии Симонова) в силу особенностей своей ЦНС быстрее обучаются, но также быстрее утрачивают приобретенные навыки. В частности, выработка условного рефлекса по

методике УРАИ происходит быстрее, но при возникновении месячного перерыва в обучении может происходить и утрата рефлекса. Менее возбудимые животные («Эгоисты») обучаются хуже, но более стабильно.

Схожие различия наблюдаются в других тестах, связанных с обучением. В то же время, тесты, не задействующие обучение, прямо или косвенно подтверждают наличие разницы между группами. По всей видимости, различие обусловлено разницей в работе дофаминергической системы головного мозга, в частности – более высоким метаболизмом дофамина, что подтверждалось результатами нейрохимических исследований. Более того, наблюдаемые на нейрохимическом уровне отдаленные последствия, связанные с нарушениями в дофаминергической системе, более выражены именно у возбудимых животных.

Подтверждается также тезис, выдвинутый в работе [38] о зависимости степени проявления нарушений от индивидуальных особенностей животных, что, в свою очередь, позволяет с достаточной уверенностью говорить о нарушениях в эмоциональной сфере.

### **Сопоставление нейрохимических и молекулярных механизмов**

Эксперимент, проведенный в 2022 году с целью изучения молекулярных механизмов краткосрочных (30 суток) последствий модельных воздействий, поставлен на животных линии Wistar, n=8 в каждой из групп – «Контроль» (К) и «Опыт» (С) [205]. Животные прошли предварительное обучение по методике УРАИ в челночной камере в течение 6 дней, что позволило достигнуть уровня обученности порядка 45-55% до достижения фазы консолидации рефлекса. Это позволит изучать в дальнейшем изменения способности животных воспроизводить и улучшать уже частично приобретенный рефлекс.

Анализ данных, полученных в teste «Открытое поле», не показал различий между контрольными и опытными животными ни в двигательной активности, ни в прочих показателях. Такая картина достаточно типична для животных, подвергнутых описанным модельным воздействиям [206].

Следует отметить, что картина как поведенческих, так и нейрохимических изменений весьма схожа между всеми экспериментами серии, что в значительной

мере подтверждает достоверность каждого из них. Одновременно с этим предпринимавшиеся в отдельных экспериментах попытки «прощупывания» изменений в других системах мозга – в частности, норадреналинергической, ГАМК/глутаматергической – не увенчались успехом. Вместе с тем было показано, что типологические различия между «альtruистами» и «эгоистами» в значительной мере опираются на различие в метаболизме ГАМК в коре головного мозга.

Данные тестирования по методике УРАИ в челночной камере, показанные на рисунке 5.12, наглядно иллюстрируют эффект модельных воздействий на поведенческом уровне: количество реакций избегания у группы С (опытные) на 7-й день (сразу после воздействий) сократилось на 35% и вернулось к показателям группы К (контроль) лишь через два дня. Примечательно, что на 9-й день теста (два дня после воздействий) группа С демонстрировала наибольшее (хотя и без достоверности) число реакций избегания – по-видимому, сказывается известный краткосрочный тонизирующий эффект ионизирующего излучения. В среднесрочной перспективе (10-й день теста, 30 дней после воздействий) крысы группы К выполняли тест достоверно ( $p = 0,05$ ) лучше – очевидно, в дни 7-9 они закрепляли рефлекс, тогда как животные группы С испытывали сложности с этим.

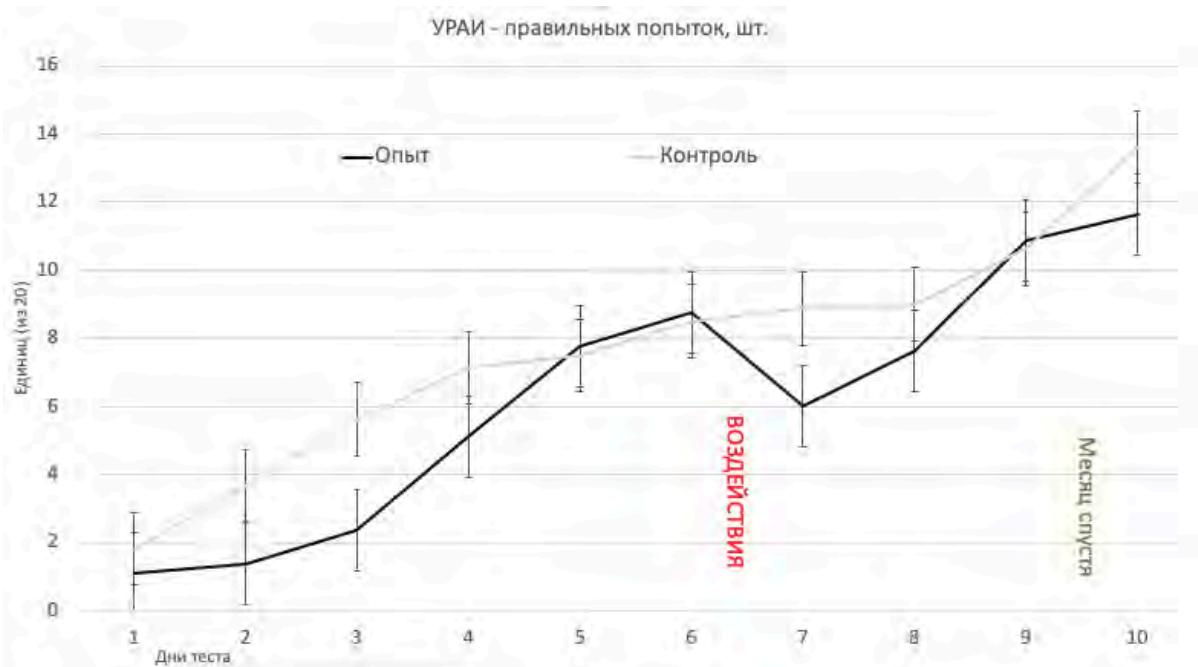


Рисунок 5.12 – Динамика выработки и воспроизведения УРАИ при комбинированном воздействии

Нейрохимическое исследование среднесрочных изменений (по сути – восстанавливающегося равновесия) концентраций основных нейромедиаторов, их метаболитов и ключевых аминокислот в структурах головного мозга позволило зафиксировать ряд последствий, наблюдаемых даже спустя месяц после воздействий.

В данном эксперименте поставлена задача проследить связь между изменениями на нейрохимическом и молекулярном уровнях, для чего каждая проба ткани мозга, взятая у крысы, разделялась на две части – для нейрохимии и для ПЦР. Соответственно, полученные и представленные ниже данные относятся к одним и тем же животным.

Для удобства в таблице 5.4 даны концентрации только тех нейромедиаторов, по которым есть значимые различия, а также связанных с ними метаболитов.

Таблица 5.4. Нейрохимические различия, Wistar, месяц после воздействий

<b>Префронтальная кора</b>				
Группа\В-во	5-ОИУК	5ОИУК/5ОТ	5-ОТ	
K (контроль)	1,89 ±0,13	0,67 ±0,06	0,365±0,111	
C (опыт)	1,63 ±0,11	0,46 ±0,07	0,298±0,063	
T-тест K/C	0,16	<u>0,05</u>	0,63	
<b>Гипоталамус</b>				
Группа	DA	DOPAC	DOPAC/DA	HVA/DA
K (контроль)	0,46 ±0,06	1,92 ±0,26	0,247±0,016	0,041±0,006
C (опыт)	0,62 ±0,04	2,32 ±0,13	0,270±0,018	0,044±0,005
T-тест K/C	<u>0,05</u>	0,22	0,38	0,74
<b>Таламус</b>				
Группа	DA	DOPAC	DOPAC/DA	HVA/DA
K (контроль)	0,62 ±0,06	4,45 ±0,55	0,14 ±0,01	0,05 ±0,01
C (опыт)	0,98 ±0,11	5,88 ±0,60	0,17 ±0,01	0,04 ±0,00
T-тест K/C	<u>0,03</u>	0,13	0,16	0,66

Картина изменений в целом типична для всей серии экспериментов, равно как и наблюдающиеся поведенческие нарушения, что дополнительно подтверждает одновременно и воспроизведимость феномена, и верный подбор методик.

Можно констатировать, что в префронтальной коре наблюдается сдвиг (понижение у опытной группы С) в метаболизме серотонина. Разницы в концентрациях дофамина, его метаболитов, аминокислот – не обнаруживается.

В то же время в гипоталамусе и таламусе изменения затрагивают дофаминергическую систему: концентрации дофамина и метаболитов, а равно отношение ДОФУК/ДА выше у облученной группы С, нежели у контрольной К. При этом различий в отношениях концентраций остальных метаболитов ДА к самому ДА в таламусе не наблюдается.

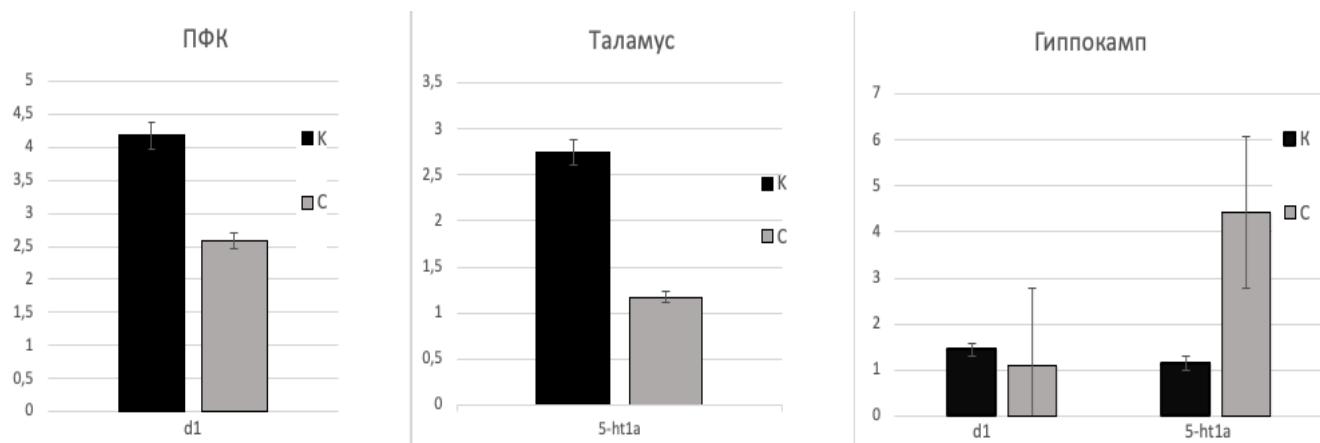
Разницы в концентрациях основных аминокислот (ASP, GLU, GLY, TAU, GABA) не удалось обнаружить ни в одном отделе мозга.

В таблице 5.5 даны общие результаты ПЦР-анализа, парные к таблице 5.4.

Таблица 5.5. Различия в экспрессии генов рецепторов и ферментов, Wistar, месяц после воздействия

Ген	Префронтальная кора	Гипоталамус	Таламус	Гиппокамп
<b>K</b>				
MAO-A	1,17418382	1,13100997	1,05793678	1,1425903
TH	1,34376908	1,05619925	1,14395747	1,05227808
DAT	1,408576	1,06953948	1,16949721	1,21999424
D <sub>1</sub>	4,18246015	1,72485951	1,20460704	1,43836365
5-HT <sub>1A</sub>	2,0279236	1,37150927	2,75041312	1,14712498
<b>C</b>				
MAO-A	1,17562592	1,0606883	1,05416201	1,08344153
TH	1,43033675	1,03991701	1,1468484	1,12866586
DAT	1,54535465	1,34610471	1,38758998	1,32820212
D <sub>1</sub>	2,58685647	1,45490575	1,34784974	1,11048506
5-HT <sub>1A</sub>	1,58232307	1,4588531	1,17590676	4,42872924

Для простоты чтения те величины, по которым выявлены различия, вынесены на рисунок 5.13.



*Рисунок 5.13 – Различия в экспрессии ДА и 5-ОТ рецепторов, Wistar, 30 дней*

Затронута дофаминергическая система в префронтальной коре: экспрессия гена, кодирующего дофаминовый D1-рецептор значительно снижена у опытной группы. При этом нейрохимический анализ выявил отсутствие значимых различий в концентрации собственно дофамина (0.279, 0.239 нМ/г соответственно у К и С, различия незначимы), равно как и его метаболитов.

В то же время в таламусе наблюдаются отличия в серотонинергической системе: значительное падение экспрессии серотонинового 5-HT1A-рецептора в опытной группе.

В гиппокампе при незначительной разнице в экспрессии D1 обнаружаются искажения в серотонинергической системе, обратные тем, что выявлены в таламусе: на этот раз у опытной группы значительно повышена экспрессия серотонинового 5-HT1A-рецептора относительно контроля.

В главе 4 было показано, что сочетание воздействий моделируемых факторов полета на организм животных носит сложный, зачастую антагонистический характер даже на интегральном уровне. По-видимому, одна из причин этого состоит в разных механизмах воздействия разных факторов.

Так, АнOB (гипогравитация) действует на уровне организма в целом и отдельных систем, прежде всего – сердечно-сосудистой и костно-мышечной [4], затрагивая ЦНС косвенно, в основном посредством перераспределения жидкости.

Механизм воздействия гамма-излучения – клеточный; известен, хотя и не объяснен до конца, возбуждающий эффект малых доз гамма-облучения [203]. Воздействие пучка ионов приводит к гибели клеток вдоль трека каждой частицы и формированию кластерных повреждений, способных, предположительно, нарушать функционирование отдельных систем мозга – в частности, таких, как дофаминергические пути.

Поскольку ни одно из такого рода воздействий не встречается в естественной среде обитания, эволюционным путем не могли сформироваться специфические реакции, поэтому резонно предполагать неспецифическую стресс-подобную реакцию организма, осложненную нарушениями, вызванными действием тяжелых ионов, и ведущую к падению дофаминергической передачи, в частности, в мезокортикальном пути [210]. Наряду с этим, в работе [204] у мышей, подвергнутых стрессу социальной изоляции, наблюдали повышение активности дофамин- и серотонинергической систем в гиппокампе и одновременно падение – в коре большого мозга. В нашем исследовании не выявлено существенных различий между группами в гиппокампе – вероятно, в силу того, что нейрохимические исследования проведены спустя месяц после воздействий, однако картина угнетения DA- и 5OT-систем в префронтальной коре схожа с таковыми в работах [210] и [204].

Хотя кора головного мозга относительно недавно считалась одной из наиболее радиационно-стойких структур мозга, наблюдаемые изменения как в концентрации серотонина и его метаболитов, так и в экспрессии генов, связанных с D1-рецептором и дофаминовым транспортером, указывают на существенные изменения, происходящие, в частности, в префронтальной коре и, как следствие, на ее чувствительность. Можно предположить, что одним из центральных эффектов модельных воздействий являются нарушения в мезокортикальном дофаминергическом пути. Принято считать [211], что такие нарушения связаны с проявлениями шизофрении, в частности, пониженной мотивацией. Детальный

анализ данных поведенческого тестирования указывает именно на понижение мотивации у животных, а не на нарушение когнитивных функций: так, при падении числа реакций избегания общее время теста возрастает незначительно, а время избавления от негативного стимула составляет 1-2 секунды. Это указывает на то, что сформированный рефлекс актианого избегания не нарушен, равно как и пространственная память, но в силу ряда причин нарушена (либо замедлена) реакция на условный стимул.

Соответственно, в качестве основного физиологического механизма кратко- и среднесрочных нарушений, возникающих в результате модельных воздействий, можно предположить нарушение проводимости мезокортикального дофаминергического пути и падение активности дофамин- и серотонинергической систем в коре головного мозга, ведущие к нарушению мотивационной сферы. Эта гипотеза была высказана ранее А.С. Базяном [79] и в данной работе находит экспериментальное подтверждение.

Полученные данные позволяют с новой стороны взглянуть на нарушения, выявленные вследствие ионного воздействия в работах [29] и [8], ассоциировав эти нарушения (увеличение времени обследования нового объекта либо времени поиска выхода из лабиринта Барнс) не с нарушениями памяти, а с изменением мотивации – наиболее простым объяснением может быть падение стремления завершить тест, хотя рост возбуждения и исследовательской активности даст схожий результат. В статье [212] рассматриваются случаи и причины нестандартного поведения крыс в teste распознавания нового объекта и делается вывод, что тест подвержен влиянию эмоциональных факторов, ввиду чего далеко не всегда наблюдаемые в нем изменения свидетельствуют об изменениях именно памяти. Впрочем, в работе [44] авторы сразу предложили схожую трактовку – при сохранности памятного следа мышам, по их мнению, в силу неясных причин стал неприятен сам акт копания стружки, закрывающей лаз. Хотя очевидным предположением служит нарушение обоняния, нельзя исключать и эмоционального компонента, особенно в свете того, что обонятельная система тесно связана с эмоциональной [213].

### **5.3 Когнитивные и биохимические изменения у обезьян**

Цикл исследований на обезьянах Macaca mulatta [214] является, в известной мере, кульминацией данной работы в силу ряда причин.

**Во-первых**, хотя Macaca mulatta и не считаются человекообразными, их физиология – в частности, в вопросах гормональной системы, зрительного аппарата, моторики – весьма близка к человеческой и позволяет прямую экстраполяцию на человека. Например, тестовые установки для макак фактически представляют собой обычный персональный компьютер, дополненный только защитой от вандализма (каковой, впрочем, встречается и у операторов-людей).

**Во-вторых**, работа с приматами, использующими сложный когнитивный тест, имитирующий работу (или игру, т.к. сам процесс напоминает компьютерные игры начала 1980-х) на компьютере, позволяет оценить когнитивные способности на действительно интегративном уровне. В этом наборе тестов, воспроизводящем ключевые элементы операторской деятельности, задействованы практически все системы организма и механизмы ВНД, и с одной стороны – критическое нарушение в любой из них повлияет на результат теста, а с другой – может быть использован также и весь спектр компенсаторных возможностей организма.

**Наконец**, широкий спектр и хорошая выраженность типологических особенностей ВНД позволяют в полной мере оценить связь между этими особенностями и характером нарушений, возникающих вследствие модельных воздействий.

Всего в экспериментах было задействовано 12 животных, по 6 в каждой из партий. Животные приобретались в НИИМП РАН в возрасте 1 года (вес 2-3 кг), в течение года адаптировались в виварии ИМБП и обучались работе с установкой, после чего в течение 1.5 – 2.5 лет активно задействовались в экспериментальной работе. По достижении периода половой зрелости и веса 12-15 кг обезьяны первой партии были возвращены в питомник НИИМП РАН.

## Типологизация

Животные обеих партий на этапе приобретения отбирались из общего пула животных, имевшихся на тот момент в питомнике (как правило, в наличии несколько десятков обезьян подходящего возраста). Отбор осуществлялся путем визуального наблюдения за поведением животных в естественной среде обитания в течение нескольких дней; поскольку целью отбора было выделить по возможности ярко выраженные типологии, задача сводилась к определению наиболее характерных животных, исключая необходимость детально анализировать (тем более – тестировать) каждую из наличных обезьян. Дальнейшая типологизация по методике, описанной в главе 2, проводилась уже с 6 приобретенными обезьянами. Такая схема позволила, с одной стороны, избежать колоссальных (и, в целом, не оправданных) затрат на оценку типологии животных в самом питомнике – а с другой стороны обеспечила в каждой из партий репрезентативную выборку темпераментов: по два «холерика», по одному-два – «сангвиника» и «флегматика» и по одному «меланхолику». Следует еще раз подчеркнуть, что такое описание несколько условно и принято для удобства, так как в чистом виде темпераменты встречаются крайне редко. Типологические характеристики животных обеих партий приведены в таблице 5.6.

Далее на графиках животные упоминаются по порядковым номерам (в контексте с номером партии), в необходимых случаях даются названия темперамента, что является упрощением, служащим для удобства чтения. Следует отметить также, что, как сказано ранее в главе 2, понятие «контрольная группа» для обезьян имеет достаточно условное значение. В большинстве случаев это животные, получавшие иное (меньшее) воздействие, данные которых используются не для прямого сопоставления, но для сличения тенденций.

Для соблюдения чистоты эксперимента контрольные обезьяны первой группы подвергались перевозке в Дубну и всем процедурам, сопровождающим облучению, что позволило исключить фактор перевозки как значимый среди воздействий.

Таблица 5.6. Типологизация обезьян

№ п.п.	Личный №	Типологические характеристики
Экспериментальная группа – партия 1 (2016)		
1	365	Сильный, неуравновешенный с преобладанием процессов возбуждения (агрессии) (холерик)
2	401	Сильный, уравновешенный, инертный (флегматик)
3	558	Сильный, уравновешенный, подвижный (сангиник)
№ п.п	Личный №	Типологические характеристики
Контрольная группа – партия 1 (2016)		
4	383	Слабый, инертный, с сильно выраженнымми процессами возбуждения и торможения, но с плохой их подвижностью или пластичностью. (меланхолик)
5	487	Сильный, неуравновешенный с преобладанием процессов возбуждения (холерик)
6	402	Сильный, уравновешенный, инертный (флегматик)
Экспериментальная группа – партия 2 (2020)		
1	743	Сильный, уравновешенный, подвижный, процессы возбуждения и торможения сбалансированы (сангиник)
2	795	Сильный, неуравновешенный, преобладание возбуждения, агрессивность (холерик)
3	657	Сильный, уравновешенность нервных процессов, периодические проявления агрессивности (ближе к сангвинику)
Контрольная группа – партия 2 (2020)		
4	491	Сильный, уравновешенный, инертный. Слабые проявления реакций на различные эмоциональные раздражители (флегматик)
5	565	Сильный, неуравновешенный, с преобладанием процессов возбуждения, агрессивность (холерик)
6	726	Неустойчивая психика, слабо выраженная пластичность нервных процессов, преобладание страха, тревожности (ближе к меланхолическому типу нервной системы)

## **Воздействия**

Поскольку количество животных ограничено, воздействия, в целом описанные в главе 2, планировались «по нарастающей» и осуществлялись с небольшими перерывами, таким образом, чтобы с одной стороны иметь возможность оценить эффект каждого из видов воздействия, а с другой – получить в итоге картину, максимально приближенную к длительному воздействию невесомости в комбинации с СКЛ и ГКЛ.

**В первом эксперименте** облучение головы обезьян протонами проводили на установке «Фазотрон» в Объединенном институте ядерных исследований (Дубна). Доза облучения составила 3 Гр, энергия протонов 170 МэВ. После облучения в течение 40 дней исследовали воспроизведение выработанных навыков и дальнейшее обучение. Для нейрохимических исследований у животных брали под кетоналовым наркозом кровь из локтевой вены на следующий день и через месяц после облучения.

Через 40 дней проводили облучение головы обезьян ионами  $^{12}\text{C}$  на установке «Нуклотрон» в Объединенном институте ядерных исследований (Дубна). Доза облучения составила 1 Гр, энергия 160 МэВ/нуклон, линейная передача энергии (ЛПЭ) – 0,53 КэВ/микрон.

Контрольных животных подвергали тем же воздействиям, что и экспериментальных, кроме облучения. Взятие крови осуществляли через восемь дней и через месяц после второго облучения.

**Во втором эксперименте**, посвященном исследованию нейробиологических эффектов комбинированного действия трех видов ионизирующих излучений и антиортостатической гипокинезии (АНОГ) на приматах, животных подвергали семисуточному воздействию АНОГ. Облучение проводили в состоянии АНОГ гамма-лучами на шестой день гипокинезии в течение суток в суммарной дозе 1 Гр. Животных из экспериментальной группы помещали на сутки в специально оборудованную комнату с гамма-установкой ГОБО-60. Таким образом, было

смоделировано синхронное комбинированное воздействие длительного гамма-облучения и эффектов гипогравитации.

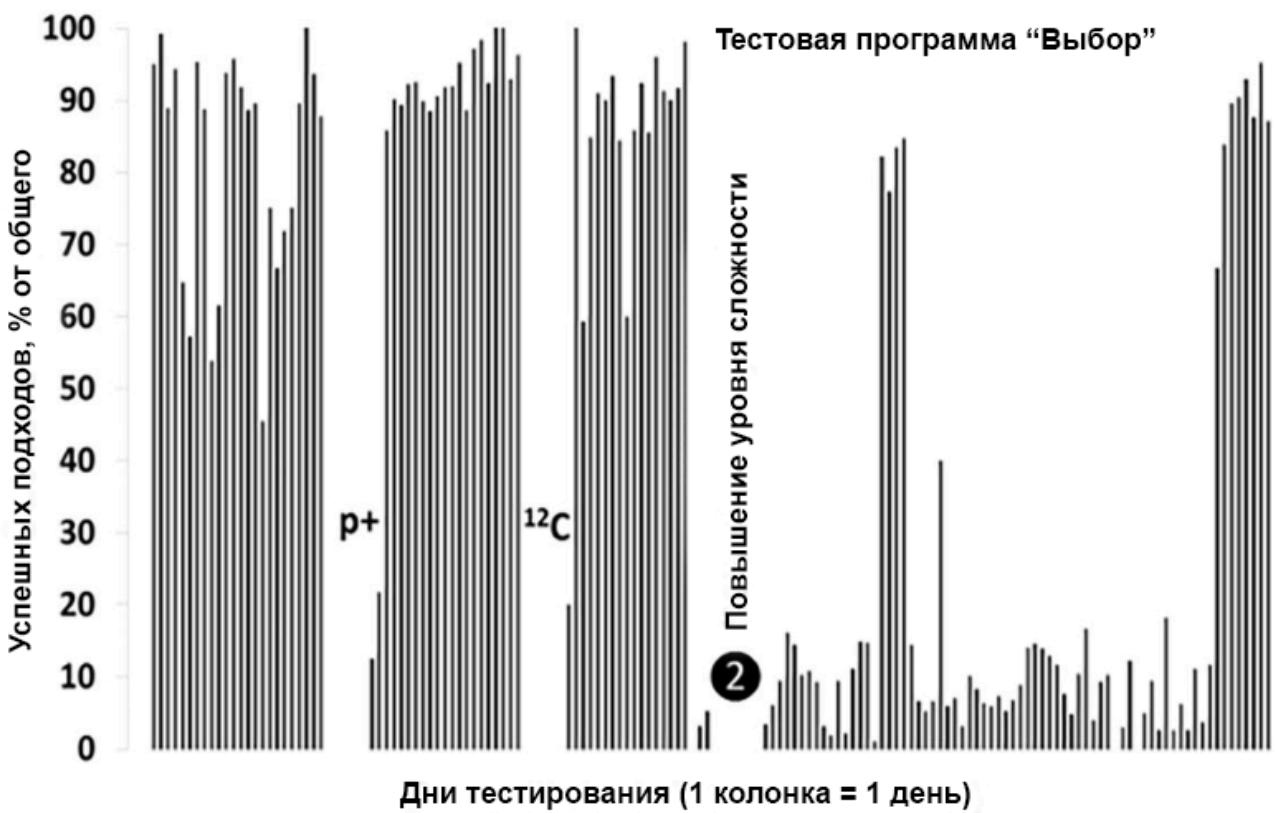
Животные из контрольной группы находились в отдельной комнате в условиях, имитирующих режим экспериментальной группы. Световой режим и режим питания в двух группах был одинаковый.

Облучение головы животных ионами  $^{12}\text{C}$  проводили на пятый день после выхода из гипокинезии в дозе 1 Гр на базе Института физики высоких энергий (Протвино). Через неделю было проведено облучение головы животных ионами криптона  $^{84}\text{Kr}$  с энергией 2,3 ГэВ/нуклон на установке «Нуклон» (ОИЯИ, Дубна), что позволило достигнуть воздействия радиационного фактора, подобного тому, что реализуется на синхротроне EBIS [34].

### **Поведенческое тестирование**

Реакция животных на модельные воздействия чрезвычайно сильно зависит от типологических особенностей ВНД (темперамента), вплоть до того, что животные с неуравновешенным типом (холерики) отказываются работать на протяжении нескольких дней после воздействий. В силу этого за «базовый сценарий» принято поведение обезьяны сильного уравновешенного типа и в ряде случаев рассматриваются показатели только одного животного.

В частности, рисунок 5.14 иллюстрирует изменение результативности (процент успешных попыток игры за сутки) по мере осуществления различных воздействий в первом эксперименте.

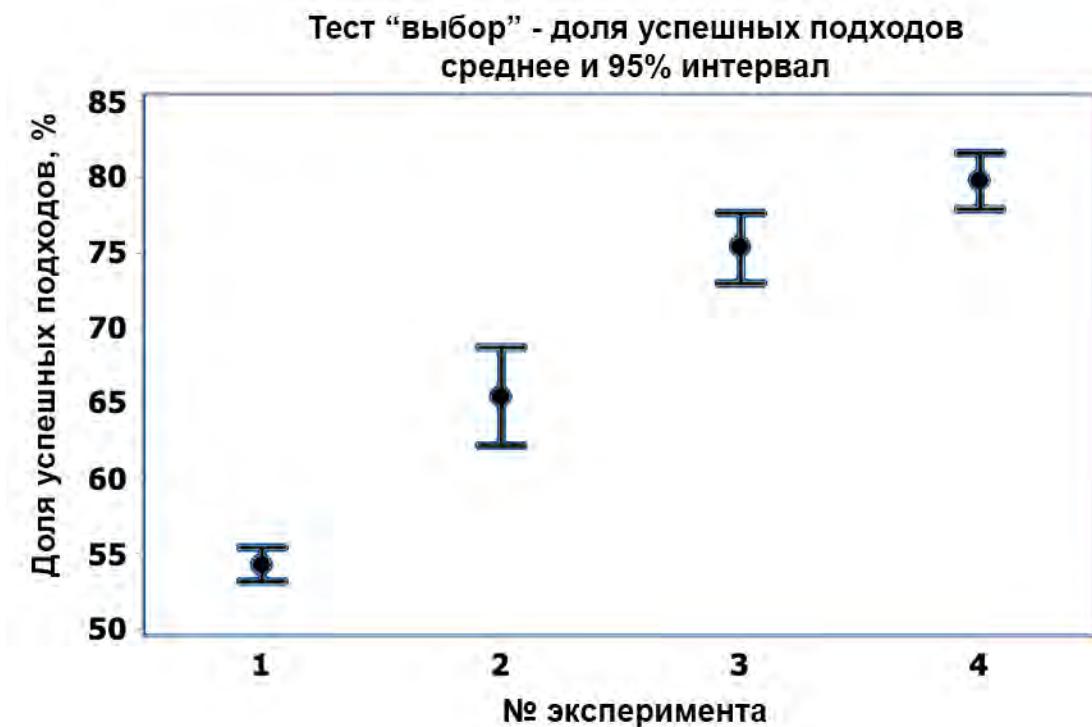


*Рисунок 5.14 – Повышение успешности обезьян после протонного и углеродного воздействий; каждый столбик - сутки*

Видно, что в течение достаточно длительного времени – порядка двух недель – после облучения головы протонами среднее число успешных попыток находится вблизи 90%, хотя до воздействия оно заметно колебалось. Воздействие ионами углерода имеет схожий, хотя и менее выраженный эффект. Можно заметить также некоторое угнетение сразу после воздействий, связанное, скорее, с общим стрессом от перевозки, самой процедуры облучения и т.п.

Анализ плотности распределения показал, что в экспериментальной группе после облучения протонами у всех обезьян увеличился процент успешно выполненных тестов по сравнению с предрадиационным фоном ( $p < 0,05$ ). В то же время у обезьян со слабой нервной пластичностью (флегматик, меланхолик) этот показатель значительно снизился ( $p < 0,05$ ) после облучения ионами углерода, а также при переходе на новый уровень сложности. У обезьяны сильного уравновешенного (сангвинического) типа показатели сохранялись на прежнем или более высоком уровне (рисунок 5.15). У обезьян сильного неуравновешенного (холерического) типа ВНД было отмечено повышение уровня агрессивных реакций

при взаимодействии с компьютером, что отразилось на нестабильности всех показателей после сеансов облучения; для таких животных характерен или полный отказ от игры или активное, но кратковременное включение в игровой процесс.



*Рисунок 5.15 – Плотность распределения процента успешно выполненных тестов у «сангиника» по этапам: 1 – обучение; 2 – АнОГ+гамма; 3 –  $^{12}\text{C}$ ; 4 –  $^{84}\text{Kr}$*

Анализ динамики когнитивных процессов у обезьян после воздействия двумя видами ионизирующих излучений показал, что облучение протонами не вызывает заметных нарушений, в то время как облучение ионами углерода приводит к снижению когнитивных функций у животных со слабо выраженной пластичностью нервных процессов. В то же время обезьяна с сильным уравновешенным типом ВНД оказалась устойчивой к обоим видам излучений. Таким образом, данные работ [29] и [8] находят, с одной стороны, частичное подтверждение – в ряде случаев эффективность (условная ОБЭ) воздействия ионов  $^{12}\text{C}$  действительно весьма высока. С другой стороны, подтверждается ранее сделанный по результатам эксперимента на крысах вывод о том, что сама причина наблюдаемых нарушений – не когнитивного, а эмоционального порядка. Поскольку рассмотрение типологии не входило в задачи вышеупомянутых работ, такой вывод, очевидно, и не мог быть сделан ранее.

Результаты выполнения теста «Выбор», в котором оценивается краткосрочная память (животному предъявляется «цель», затем следует пауза и через несколько секунд дается выбор из двух изображений, только одно из которых похоже на цель) обезьянами экспериментальной группы после недельного комбинированного воздействия АНОГ и гамма-облучения показаны на рисунке 5.16.

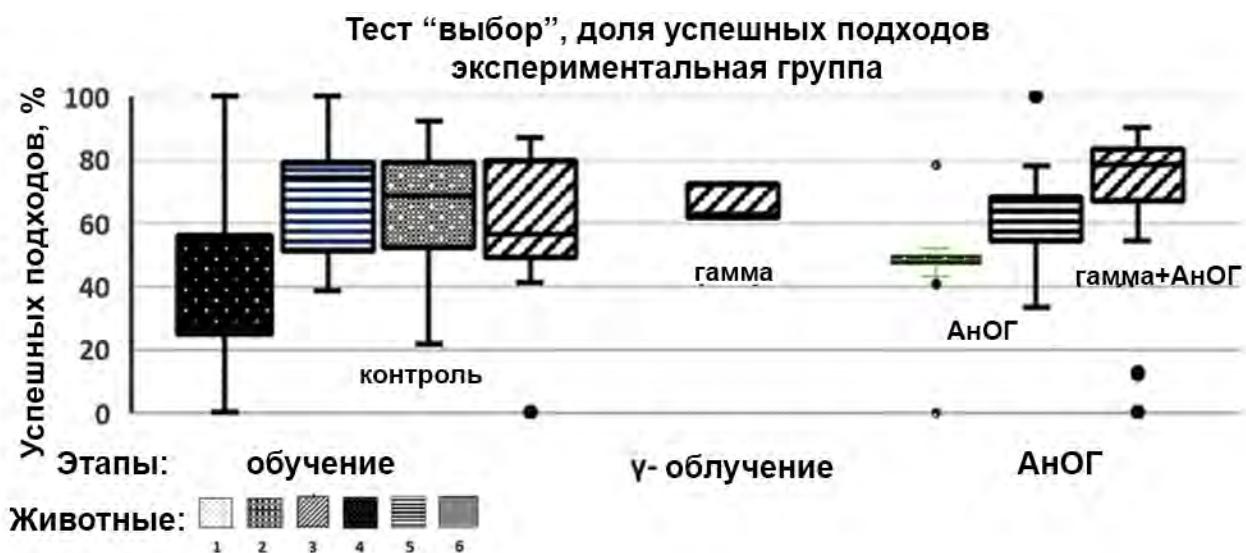


Рисунок 5.16 – Рост успешности у сангвиника (№3) после АНОГ и гамма-облучения

У одного из животных экспериментальной группы, относящегося к сильному уравновешенному типу ВНД (№3 на рис. 5.16), количество выполняемых тестов сохранилось на том же уровне, что и до воздействий, а процент успешности в среднем вырос с 60 до 80%. У остальных обезьян процесс дальнейшего освоения программы происходил по-разному.

Высокий уровень агрессивных реакций не позволил полноценно выполнять задания обезьяне с возбудимым неуравновешенным типом ВНД (№1). В первые три дня после семидневной гипокинезии и γ-облучения количество подходов к компьютеру резко увеличилось, животное могло выполнить до 2300 тестов в сутки. Высокая степень возбуждения и резкие смены состояний в период после выхода из эксперимента привели к агрессивному (вандальному) взаимодействию с компьютерной установкой и постепенному снижению количества выполняемых

заданий, хотя в процентном соотношении успешность выполнения осталась на том же уровне и достигала 59%.

У одной из обезьян контрольной группы, подвергнутых только воздействию АНОГ, в случаях неудачных попыток при выполнении тестов также наблюдались кратковременные вспышки агрессии и, как следствие, уменьшение числа подходов к компьютерной установке. Это отразилось в нестабильности и малом количестве выполняемых заданий.

У второй, наоборот, агрессия приводила к частым взаимодействиям с компьютером и резкому возрастанию количества выполненных проб, однако успешность их выполнения составляла не более 50%, что говорит о практически случайном выборе предъявляемой фигуры на экране и непонимании условий теста ([164]).

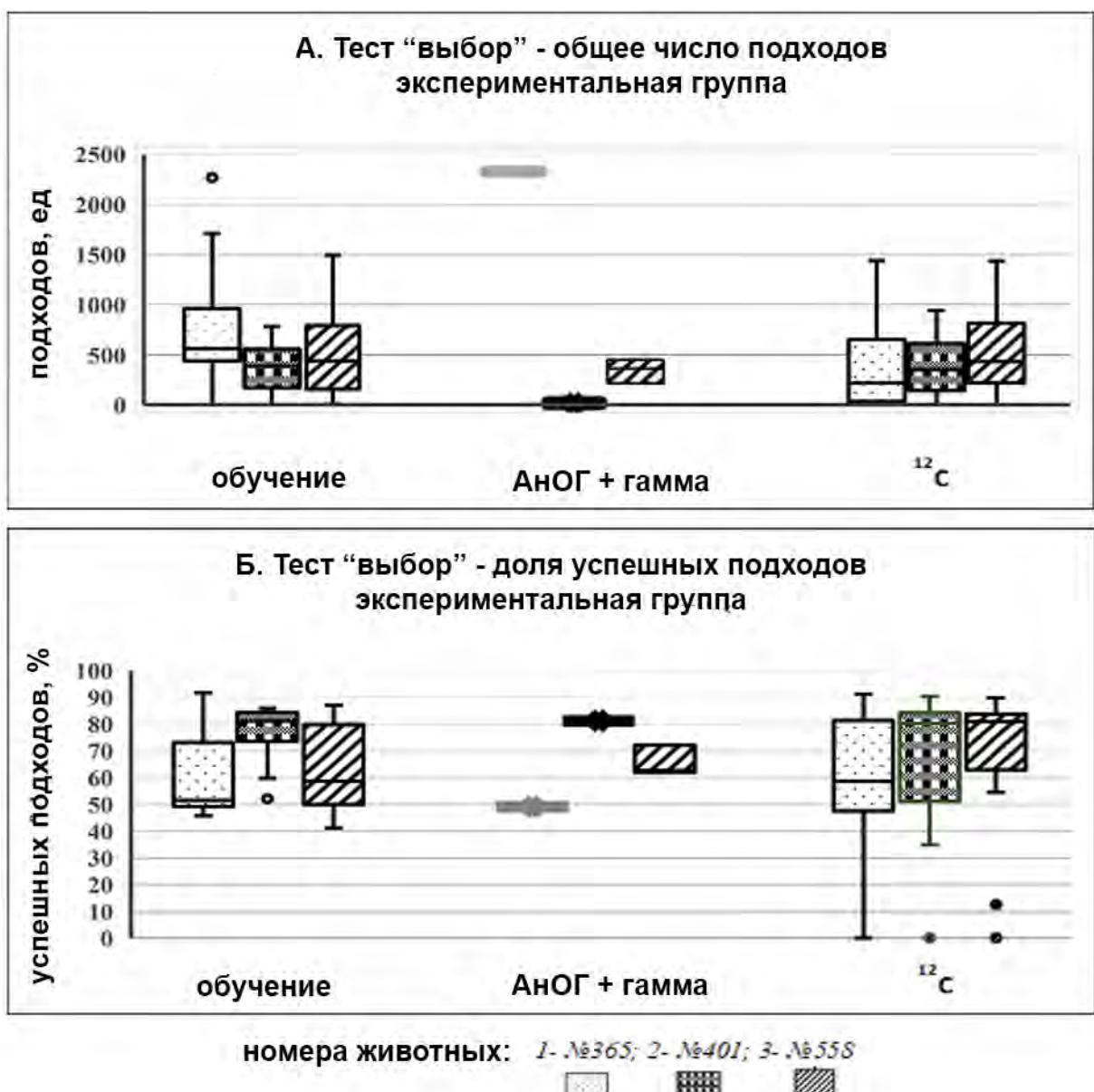
Наконец, ниже рисунок 5.17 иллюстрирует общую динамику изменения показателей в teste у животных «экспериментальной» группы в первом эксперименте.

Верхняя часть рисунка – число игровых попыток (подходов), нижняя – процент успеха: наглядно виден ранее упомянутый резкий рост числа попыток у холерика (№1) при одновременном падении успешности после первой фазы модельных воздействий, при этом по завершении всего комплекса воздействий показатели уравновешенных животных – флегматика (№2) и особенно сангвиника (№3) – возвращаются к уровню «до воздействий» или даже лучшему, холерик же демонстрирует падение активности и при этом незначительный рост успешности.

Соответственно, по результатам двух серий экспериментов можно наблюдать следующую зависимость чувствительности к модельным воздействиям от типа ВНД (от лучшего к худшему в контексте тестовой задачи):

- «сангиник»: ни один из этапов воздействия практически не меняет показателей; успешность растет «естественным путем» по мере тренировки;
- «флегматик»: падение активности (числа попыток) при сохранении результативности (процента успеха); показатели восстанавливаются сразу по завершении воздействий;

- «холерик»: резкий рост активности при значительном падении результативности; сниженная результативность сохраняется после завершения воздействий;
  - «меланхолик»: полный отказ от работы, спонтанные проявления агрессии, ведущие к невозможности дальнейшего обучения.



*Рисунок 5.17 – Динамика числа подходов и успешности по мере реализации воздействия; 1- холерик, 2 – флегматик, 3 – сангвиник*

Для того, чтобы удостовериться в тенденциях, животные «контрольной» группы были подвергнуты только первой фазе воздействий: 7-суточной АнОГ с

гамма-облучением. При этом обезьяна холерического типа (№5) продемонстрировала настолько возросший уровень возбуждения и агрессии (вплоть до нанесения увечий себе), что из дальнейшей работы ее пришлось исключить. Животное меланхолического типа (№4), имевшее исходно низкие показатели, проявило себя в значительной мере схожим образом: резкий рост числа попыток, не подкрепленных какой-либо когнитивной деятельностью, фактически – бездумная работа джойстиком (рисунок 5.18).

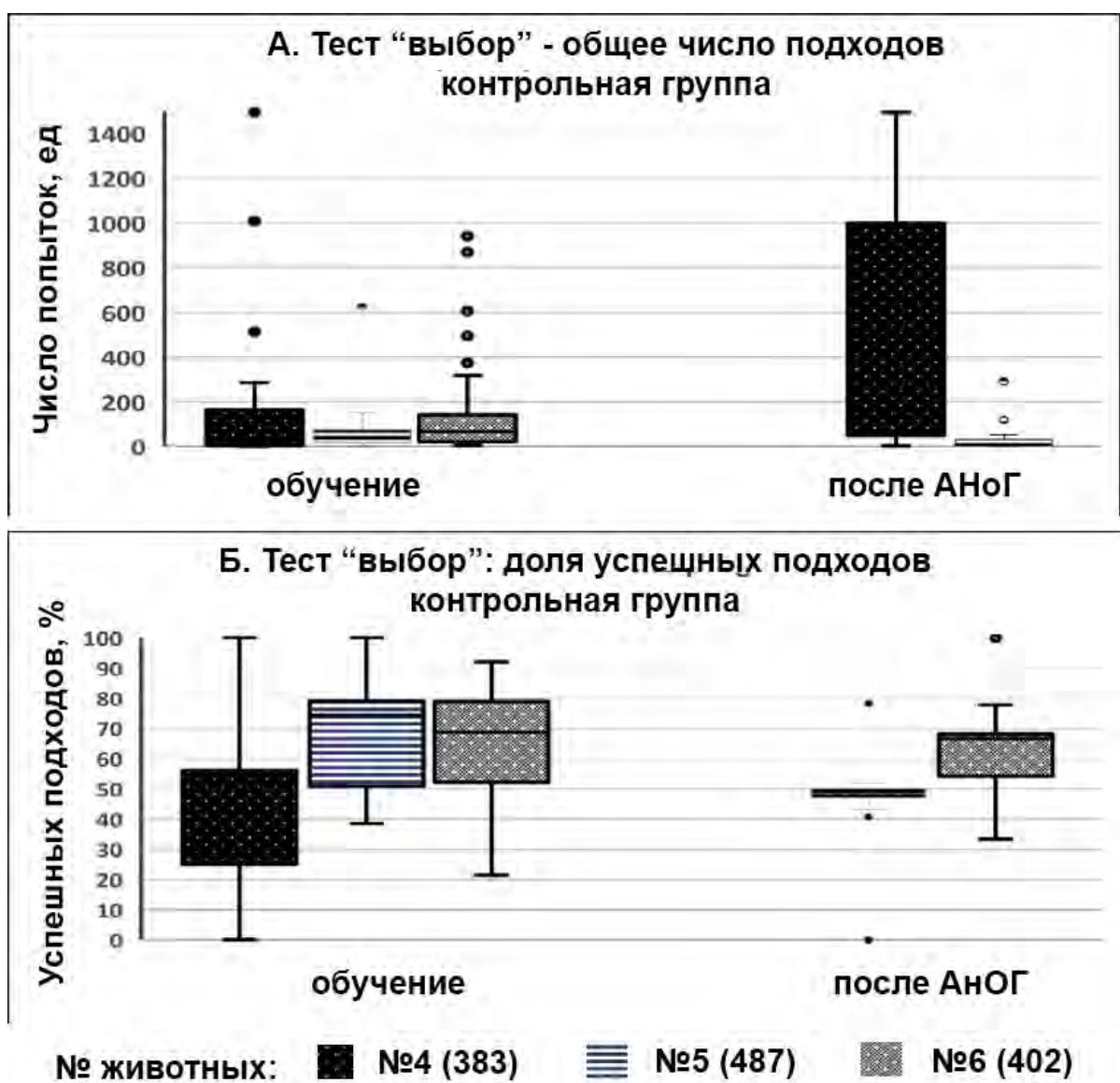


Рисунок 5.18 – Результаты 1-й фазы воздействий у контрольной группы аналогичны таковым у экспериментальной; №4 – меланхолик, №5 – холерик, №6 - флегматик

Характерно, что при облучении во втором эксперименте только зоны DLPFC, а не всей головы, результаты были в целом аналогичны, хотя и менее ярко выражены. В этом контексте уместно еще раз упомянуть работы [97], [98] и другие из этой же серии, которыми в значительной мере был вдохновлен эксперимент с облучением узкой области префронтальной коры. Если в этих работах было показано, что различные участки коры при повреждении могут замещать функции друг друга – и, более того, делают это до повреждения (т.н. «феномен голограмической памяти», когда уцелевший участок хранит, хотя и с меньшей детализацией, всю информацию) – то в нашем случае «голограмическая» концепция находит подтверждение с обратной стороны: поражение участка коры условно-равноценно поражению всего мозга.

В целом поведенческие тесты первого эксперимента позволяют сделать три ключевых вывода относительно последствий модельных воздействий у приматов:

- результат воздействия на интегративном уровне практически целиком определяется типологическими характеристиками животного, прежде всего – уравновешенностью;
- наиболее выраженный, но краткосрочный эффект дает пребывание в АиОГ;
- общий результат воздействий применительно к обезьянам уравновешенного (особенно – сильного уравновешенного) типа не ухудшает когнитивных показателей.

### **Нейрохимические изменения**

Основные нейрохимические показатели были измерены в пробах крови, взятых спустя 34 часа и 40 дней после завершения воздействий, и даны в таблице 5.7.

В таблице указаны также Рс – уровень доверия относительно контроля и Р34 – уровень доверия (для проб, взятых спустя 40 дней) относительно проб, взятых через 34 часа. Все пробы обрабатывались одновременно, с использованием одной партии реактивов.

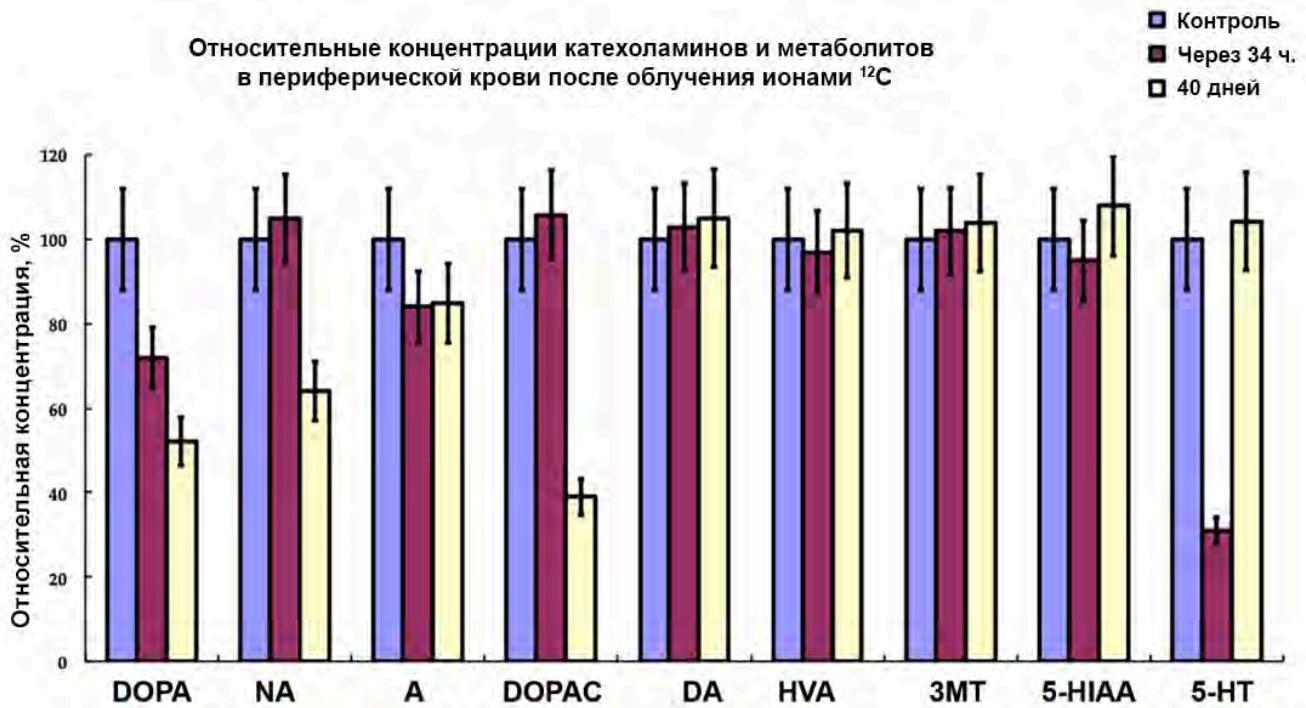
Таблица 5.7. Концентрации нейромедиаторов и метаболитов в периферической крови

Group	L-DOPA	NA	A	DOPAC	DA	HVA	3-MT	5-HIAA	5-HT
Control.	3.69±0.35	2.97±0.29	4.49±0.43	49.42±7.16	0.71±0.12	0.02±0.002	2.08±0.15	0.04±0.006	0.66±0.1
34 h	2.82±0.14	2.52±0.14	2.62±0.64	21.85±1.72	0.48±0.06	0.01±0.001	1.00±0.08	0.02±0.002	0.57±0.07
$P_c$	0.075	0.007	0.339	0.200	0.206	0.0006	0.034	0.073	0.278
40 days	2.70±0.24	1.94±0.17	3.30±0.47	21.51±1.20	0.18±0.04	0.02±0.002	1.66±0.12	0.03±0.002	0.13±0.05
$P_c$	0.117	0.019	0.136	0.061	0.060	0.821	0.511	0.090	0.090
$P_{34}$	0.799	0.428	0.288	0.102	0.418	0.368	0.093	0.654	0.515

Через 34 часа после облучения ионами  $^{12}\text{C}$  концентрации ряда моноаминов и их метаболитов в периферической крови снижались (рисунок 5.19).

В частности, достоверно снизилась концентрация L-DOPA, предшественника дофамина, и серотонина. Спустя 40 дней наблюдалось дальнейшее падение концентрации L-DOPA, сопровождающееся значительным падением уровня DOPAC, что может говорить о развивающейся картине нарушений в дофаминергической системе. Одновременно наблюдаются падение концентрации норадреналина и возвращение уровня серотонина на исходный уровень.

Известно, что гематоэнцефалический барьер не пропускает НА, ДА и 5-HT из крови в мозг и обратно, но пропускает их метаболиты. Поэтому, хотя прямой анализ влияния изменений метаболизма моноаминов в мозге на поведение обезьян невозможен, однако о нем можно судить по косвенным показателям. В значительной мере эти результаты можно сопоставить с результатами, полученными в главах 3 и 4 на крысах: интенсивное снижение концентрации моноаминов и их метаболитов в префронтальной коре, прилежащем ядре и гиппокампе мозга крыс. При этом статистически значимые изменения были обнаружены в префронтальной коре и прилежащем ядре.



*Рисунок 5.19 – Развитие эффектов на нейрохимическом уровне*

В данном случае особое внимание привлекает развивающееся изменение концентраций веществ, связанных с дофаминергической системой – L-DOPA и DOPAC. Поскольку у крыс прямыми измерениями было показано изменение соотношения DOPAC/DA вследствие воздействий, сохранявшееся в течение длительного периода, резонно предположить, что наблюдаемые у обезьян изменения указывают на аналогичный процесс, также развивающийся в течение длительного времени после завершения воздействий (по крайней мере, за пределами классической симптоматики гамма-индуцированной лучевой болезни). Это, в свою очередь, позволяет с достаточной уверенностью экстраполировать данные о нарушениях в дофаминергической системе, возникающих вследствие воздействий, и на человека. С другой стороны, данные когнитивного тестирования указывают на то, что компенсаторные механизмы ЦНС способны эффективно подавлять влияние этих нарушений на когнитивные способности.

## Заключение

Серия экспериментов, поставленных на крысах и обезьянах, подобранных таким образом, чтобы учесть их врожденные индивидуальные особенности высшей нервной деятельности, позволила получить данные, обусловливающие ключевые положения данной работы.

**Во-первых**, установлено, что нарушения, возникающие в центральной нервной системе при комплексном моделировании в наземном эксперименте факторов дальнего космического полета, затрагивают преимущественно эмоционально-мотивационную, но не когнитивную сферу.

Это обусловлено на нейрохимическом уровне изменениями в метаболизме дофамина в структурах древнего мозга (и в меньшей степени – серотонина в новой коре), а на молекулярном – изменением экспрессии генов, кодирующих рецепторы дофаминергической и серотонинергической систем (пункт 3 «Положений, выносимых на защиту»).

**Во-вторых**, показано, что проявление – прежде всего, на интегративном уровне – нарушений в ЦНС, возникающих вследствие модельных воздействий, напрямую зависит от типологических особенностей высшей нервной деятельности индивида.

У крыс тип ВНД, определяемый как сильная или слабая возбудимость, играет важную роль. У приматов тип ВНД определяется как сочетание силы и уравновешенности нервных процессов, и у индивидов со слабым неуравновешенным типом негативные последствия воздействий значительно сильнее проявляются как на интегративном, так и на нейрохимическом уровнях (пункт 5 «Положений, выносимых на защиту»).

В частности, обезьяны сильного уравновешенного типа с выраженной пластичностью нервных процессов сохраняли и даже улучшали показатели в поведенческом тесте после каждого этапа воздействий. Животные сильного уравновешенного типа с низкой пластичностью сохраняли хорошую результативность при выраженном снижении активности (числа попыток). Обезьяны неуравновешенного типа испытывали очевидные проблемы с

эмоциональной устойчивостью, вплоть до проявления самоувечий. Обезьяна слабого, меланхолического, типа также демонстрировала эмоционально неустойчивое поведение, проявляющееся на интегративном уровне как резкое падение результативности.

**Третьим** существенным выводом, следующим из полученных нейрохимических данных, является заключение о том, что различные компоненты модельных воздействий вызывают эффекты, сочетание которых носит сложный характер в каждый конкретный момент, а равно сложным образом развивается во времени.

Таким образом, взаимное влияние факторов дальнего космического полета, моделируемых в наземном эксперименте – гипогравитации, гамма-облучения и облучения высокоэнергетическими ионами – носит сложный характер, зависящий от характеристик отдельных факторов и способа их сочетания, и не сводящийся к аддитивному или антагонистическому взаимодействию (пункт 4 «Положений, выносимых на защиту»).

В частности, в главе 4 было показано, что взаимодействие эффектов синхронных АиOB и гамма-облучения может носить различный характер в зависимости от того, на каком уровне рассматриваются последствия.

В главе 5, в дополнение к этому, нейрохимическими исследованиями на грызунах и поведенческими – на приматах и грызунах – установлено, что эффекты модельной гипогравитации, хотя и превосходят по выраженности эффекты радиационных факторов, но достаточно краткосрочны. В то же время последствия ионного воздействия наблюдаются длительное время – на интегративном уровне у крыс в течение недель, а на нейрохимическом – месяцев.

Значительное количество проведенных экспериментов позволило подтвердить стабильность получаемых результатов и, как следствие, правильность сделанного ранее предположения о том, что выраженный стабильный эффект воздействия комбинации факторов дальнего космического полета, моделируемых в наземном эксперименте, на центральную нервную систему достигается при синхронном пролонгированном воздействии АиOB и гамма-облучения, дополняемых воздействием пучка высокоэнергетических ионов при дозовой

нагрузке, соответствующей, с учетом принятых норм видовой радиочувствительности и продолжительности жизни, полету на Марс (пункт 2 «Положений, выносимых на защиту»).

Сопоставление полученных в экспериментах на обезьянах данных – в первую очередь, касающихся нарушений в клетках крови, которые принято ассоциировать с понятием «биологической дозиметрии» – с аналогичными данными программ «Бион-11» и «Бион-М1» ([143], [149]) свидетельствует о том, что масштабы поражения организма вследствие ионного воздействия, оказанного в эксперименте, сравнимы с рассчитанным в модели Марсианской миссии, разработанной Ф. Кучиноттой [90], [176]. Соответственно, в отсутствие точных параметров планируемого полета, обусловленных характеристиками корабля, траектории и прочих технических факторов, можно опираться на использованные параметры воздействия как на адекватную физическую модель ФКП.

## ГЛАВА 6. ПРАКТИЧЕСКОЕ ПРИЛОЖЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

### **6.1 Проблема экстраполяции полученных данных на человека**

Данные, полученные в экспериментах на крысах и обезьянах, подвергнутых в наземном эксперименте воздействиям, имитирующими комбинированное действие радиационных и гравитационного факторов Марсианской миссии, и рассмотренные в главах 3 – 5, позволяют сделать вывод о том, что механизмы нарушений, возникающих в ЦНС этих двух видов млекопитающих, в значительной мере схожи.

У крыс прямыми измерениями установлены, а у обезьян – по результатам косвенных измерений и поведенческого тестирования подтверждены изменения в дофаминергической и серотонинергической системах.

Наряду с известными ранее [8, 11, 12] эффектами воздействия ИИ, наблюдающимися в структурах древнего мозга – таламусе, гиппокампе, гипоталамусе – впервые показано, что префронтальная кора, наряду с гиппокампом, является одной из наиболее радиочувствительных структур мозга [205]. При этом в древнем мозге нарушается метаболизм в дофаминергической системе, а в коре – в реципрокно связанной серотонинергической, что обуславливает дерегуляцию эмоциональной составляющей ВНД.

Масштабы нарушений, возникающих как на интегративном, так и на нейрохимическом уровнях, позволяют вести речь об ухудшении умственной работоспособности, обусловленном изменением эмоционального фона в сторону повышенного возбуждения, но не об утрате работоспособности в целом.

Если у экспериментальных обезьян нарушения проявлялись на интегративном уровне в виде резкого падения успешности при выполнении тестов, сопровождавшегося, как правило, резким же изменением числа игровых попыток, а зачастую и агрессивными реакциями, то для подготовленного

оператора-человека речь будет идти – скорее всего – о возрастании вероятности ошибки и росте числа конфликтов внутри коллектива.

Поскольку ключевым элементом экипажа в любом случае является человек, крайне желательно дать оценку характеру и масштабам нарушений, могущих возникнуть у оператора, а равно предложить перспективные направления для избежания либо коррекции таковых нарушений.

Проблема экстраполяции данных, полученных в работах на животных, на человека достаточно подробно рассмотрена в работах И.Б. Ушакова. В частности, в [215] проводится тщательное сопоставление подходов к оценке функций ЦНС человека и животных, в котором существенное внимание уделяется эмоциональной, мотивационной и психологической сферам как отдельным видам ВИД.

У человека эти функции ЦНС, как правило, оцениваются психологическими методами – при помощи различного рода опросников – тогда как для животных можно использовать достаточно ограниченный набор поведенческих методик – открытое поле, приподнятый крестообразный лабиринт и т.п. С учетом того, что именно в этих тестах после модельных воздействий значимых различий не наблюдалось, экстраполяция представляется затруднительной. В то же время тесты «лабиринтных» методик, связанные с выработкой условного рефлекса и представлений о закономерностях окружающего мира (УРАИ, лабиринт Морриса), в которых в данной работе наблюдались как нарушения, так и различия между животными различных типологий, принято ассоциировать с операторской (мыслительной, когнитивной – по Крушинскому) деятельностью.

Поскольку полученные данные подтверждены несколькими экспериментами, причем на различных животных (крысы Wistar и Long Evans, макаки) и с использованием различных методик, предложенный ранее вывод о том, что нарушения имеют основу в эмоциональной сфере, а проявляются – в когнитивной, представляется достаточно обоснованным. Соответственно, выглядит перспективной разработка или адаптация существующих

«человеческих» методик для оценки степени нарушения именно эмоционально-мотивационной сферы у приматов.

Подавляющее большинство «человеческих» психологических тестов основаны на опросниках и, соответственно, недоступны обезьянам (за исключением высших человекообразных), поэтому речь может идти об адаптациях различных цветовых тестов – Люшера, Фрилинга, «Цветовой пирамиды» [216]. Достаточно проработанная версия теста Люшера для приматов описана в работе [217], где также отмечается, в качестве одного из доводов в пользу такого теста, что мотивационная система приматов значительно отличается от аналогичной у грызунов и, как следствие, зоопсихологические методики с использованием грызунов применимы только для оценки очень сильных, близких к летальным, воздействий.

Используемые в данной работе методики определения типологии приматов также могут быть применены и для оценки их эмоционального состояния аналогично тому, как предложено в работе [218].

В то же время применительно к высоким (вызывающим выраженные формы лучевой болезни) дозам (по большей части – гамма-излучения при остром воздействии) подходы к экстраполяции проработаны значительно лучше: в работе [215] коэффициент экстраполяции для обезьян по критерию ЛД50/2 ОЛБ церебральной формы принят как 0.8 (для сравнения - для крыс этот же коэффициент составляет 2.5). В целом обобщенный коэффициент экстраполяции для обезьяны равен, как и для человека, 1.0.

В работе [219] проведено обширное экспериментальное исследование и математическая оценка отдаленных последствий пролонгированного гамма-облучения с точки зрения нарушения состояния нейронов различных отделов головного мозга крыс. Проанализировав изменения в мозгу животных, облученных в дозе от 0.1 до 1.0 Гр с различными мощностями дозы (от 0.5 Гр/ч), авторы [219] пришли к выводу, что в отдаленной перспективе «большинство функционально значимых изменений нейроморфологических показателей, в частности, количество нейронов с необратимыми изменениями и количество

нейронов на площади, соответствовало таковому у животных соответствующего возрастного контроля. Ряд изменений, хотя и имел пограничный характер, с изменением интенсивности воздействия или времени восстановительного периода, как правило, репарировался».

Этот вывод в значительной мере совпадает с данными в главе 5 оценками процесса восстановления у крыс: по прошествии 2-3 месяцев различия между контрольными и опытными животными не только не являются достоверными, но, как правило, не выявляются вовсе.

Это дает основания полагать, что последствия модельных воздействий у человека будут выражены, как минимум, не сильнее, нежели у экспериментальных обезьян – которые, напомним, сохраняли и даже несколько улучшали показатели в teste операторской деятельности в случае, если животное принадлежало к сильному уравновешенному типу ВНД.

В целом следует ожидать нарушений в дофаминергической системе и связанных с ними проявлений: повышения возбудимости, снижения концентрации внимания и скорости обучения, нарушений сна и возникновения (усилений) стресс-подобных состояний.

## **6.2 Профилактика и коррекция нарушений**

Поскольку собранные данные позволяют с достаточной уверенностью ожидать проявления нарушений ВНД, характерных для дофаминергической системы в частности и эмоциональной сферы в целом, резонно очертить перспективы мероприятий и исследований, направленных на снижение и/или компенсацию этих нарушений.

Представляется целесообразным реализовывать некоторого рода комплексный подход, включающий в себя как фармакологическую коррекцию, направленную на снижение выраженности последствий именно самих воздействий, так и меры психологической помощи и разгрузки, призванные повысить работоспособность экипажа в целом, а равно терапевтические меры,

направленные на демпфирование острых стрессовых ситуаций и их последствий, которые, скорее всего, в условиях действия ФКП будут проявляться особенно выраженно.

Перспективным видится также комплекс эргономических мер, направленных на повышение комфорта и продуктивности работы экипажа в длительном полете.

### **Критерии отбора членов экипажа**

Проведенные эксперименты достаточно убедительно показали значимость индивидуальных типологических характеристик как фактора индивидуальной резистентности к модельным воздействиям (прежде всего, конечно, речь идет об ионном воздействии). У крыс принадлежность к «тормозному» типу коррелирует с успешностью в тестах УРАИ и ВЛМ после воздействий, у обезьян же принадлежность к сильному уравновешенному типу ВНД является решающим фактором для успешного выполнения тестов операторской деятельности и, более того, успешного перехода на следующий уровень сложности вскоре после воздействий.

Значительный цикл экспериментов, проведенных под руководством М.Г. Айрапетяна с 1980-х годов [161, 207], позволил выявить связь между типологическими особенностями ВНД и реакцией, в частности, сердечно-сосудистой системы на стрессовые перегрузки. В [234] показано, что при хронической невротизации крысы «активного» (по критерию активности в открытом поле) типа наблюдается более выраженное повышение активности катехоламинергической системы, что авторы считают одним из адаптационных механизмов сердечно-сосудистой системы и ассоциируют с менее выраженным подъемом артериального давления у этих крыс.

Учитывая, что в исследованиях М.И. Колотовой [130] установлено, что существуют различные «профили» реакции организма на вращение на центрифуге короткого радиуса – в частности, повышение или понижение артериального давления – следует выдвинуть гипотезу о том, что типологические особенности

ВНД как фактор приспособляемости к условиям космического полета имеют гораздо большее значение, нежели показано в рамках данной диссертации. Этот вопрос требует отдельного – и значительного – изучения, которое, весьма вероятно, приведет к разработке некоторого нового показателя интегративной устойчивости организма по аналогии с тем, что предложен в работах [57] – [59].

Исходя из полученных данных, представляется необходимым включить в перечень критериев для отбора кандидатов в члены экипажей перспективных миссий принадлежность к сильному уравновешенному (сангиническому) типу ВНД.

### **Фармакологическая коррекция**

Исследование способов и средств фармакологической коррекции негативных последствий воздействия факторов дальнего космического полета представляется наиболее очевидным направлением перспективных исследований, в котором на сегодняшний день уже ведутся работы [220].

Огромную практическую важность также имеет родственная прикладная задача – снижение побочных эффектов протонной онкотерапии [221]. В данном случае эффективные фармакологические средства позволяют, с одной стороны, перейти к более эффективным схемам облучения, а с другой – повысить качество жизни пациентов.

Существенную значимость результаты и развитие данного исследования могут иметь в фундаментальном плане; поскольку наиболее яркая картина нарушений наблюдается в дофаминергической системе – более того, полученные в главе 3 и развитые в главе 5 данные позволяют с достаточной уверенностью констатировать нарушение дофаминергической передачи [205] – можно говорить также и о родственности этих нарушений с рядом проблем, изучаемых психиатрией и психологией [167] – в частности, брадифрензией, болезнью Паркинсона [181] и синдромом недостаточности внимания [201] (каковой, судя по клинической картине, выражено проявлялся у обезьян неуравновешенного типа ВНД).

Следует отметить также, что дофаминергическая система достаточно тесно связана с формированием различного рода зависимостей [211], в частности, при употреблении опиоидных препаратов и алкоголя. Соответственно, совместное изучение результатов данного исследования и работ, посвященных упомянутым тематикам, может пролить свет на фундаментальные аспекты устройства ЦНС и ее патологий.

Поскольку в космическом полете речь идет о долгосрочном воздействии и, следовательно, о длительном приеме препарата, критически важной является минимизация побочных эффектов, рисков несовместимости и эффектов привыкания. Наиболее перспективными в таком случае, очевидно, являются соединения биологического происхождения с изученными нейропротекторным, дофамин-модулирующим, анксиолитическим и аналогичными эффектами.

В частности, одним из наиболее перспективных по целому ряду критериев – безопасности, совместимости, удобству хранения и приема – веществом является фолиевая кислота, естественный прекурсор дофамина. Исследования на грызунах [205] подтвердили эффективность перорального приема фолиевой кислоты во время воздействий, косвенно еще раз подтвердив характер изученных нарушений.

Имеются сведения об эффективности – хотя и применительно к высоким дозам облучения – никотиновой и янтарной кислот [222]. В отношении янтарной кислоты существует значительное количество исследований, свидетельствующих, хотя и без описания механизма действия, об антиоксидантном, нейропротекторном и даже прокогнитивном свойствах. Ближайшим родственником является препарат «мексидол», эффективность которого при протонном облучении и перспективность использования показана в [220].

Отдельного внимания заслуживает вопрос изменения рациона космонавтов – либо посредством обогащения его активными веществами, в отношении которых показан нейропротекторный эффект – в частности, флавоноидами, фитоэстрогенами, дигидрокверцитином – либо с использованием специализированного функционального питания [223]. Представляется перспективным культивирование в бортовой оранжерее растений, являющихся

природным источником активных веществ, в частности, зеленого лука, богатого дигидрокверцитином [224].

### **Терапевтические меры**

Поскольку нагрузка на экипаж – как в плане обязанностей и сопряженных с ними стрессовых ситуаций, так и в плане интенсивности облучения – неоднородна во времени, целесообразно иметь – и применять при необходимости – средства, направленные на разовую коррекцию последствий стрессовых ситуаций, перегрузок и эмоциональных сбоев. В исследовании [225] показана высокая эффективность курсового применения специализированной кислородно-кисеноновой газовой смеси для коррекции стресса, хотя остается открытым вопрос безопасности длительного применения таких технологий.

Потенциально применение антагонистов NMDA-рецепторов, к числу которых относятся дыхательные смеси с благородными газами, имеет достаточно широкую перспективу в силу практически неограниченного срока хранения самих газов и удобства их применения. Следует отметить, что рост возбуждения, являющийся одной из наиболее выраженных реакций на воздействие гаммаизлучения, обусловлен именно угнетением ГАМК-ergicической системы, работа которой как раз модулируется NMDA [53].

Возвращаясь к ранее упомянутой потенциальной связи между типологическими особенностями ВНД и типами ответа сердечно-сосудистой системы (ССС) на перегрузку, следует отметить необходимость комплексного – как со стороны ЦНС, так и со стороны ССС – исследования эффективности терапевтических и фармакологических мер.

### **Психологическая разгрузка**

Исследование психологической совместимости и психологической динамики экипажей при длительной изоляции является одним из важнейших направлений при подготовке межпланетных полетов [226]. Тот факт, что воздействие модельных ФКП в наибольшей мере оказывается как раз на

эмоциональной сфере деятельности и ключевым образом зависит от типологии ВНД, очевидным образом еще более повышает важность этих исследований, в том числе с точки зрения поиска путей психологической разгрузки и коррекции [227].

С одной стороны – на уровне физиологической причины – нарушение нейронной передачи, обусловленное повреждением существующих нейронных связей, потенциально может быть компенсировано формированием существенного числа новых связей, которые, в свою очередь, окажутся задействованы в компенсационных механизмах нервной системы.

Нейрофизиология указывает, что наиболее активно нейронные связи формируются при обучении и обработке новых впечатлений, что естественным образом приводит к идее о необходимости внедрения методик психологической разгрузки.

С другой стороны – на уровне эмоционально-мотивационной системы – психологическая разгрузка приведет к стабилизации дофаминергической системы, которая, согласно полученным данным, наиболее подвержена нарушениям вследствие действия ФКП.

Таким образом, внедрение системы психологической разгрузки для экипажей дальних космических полетов обусловлено с точки зрения как физиологии, так и психологии. Хотя сама по себе концепция разгрузки не нова и активно применяется, в частности, в подводном флоте, в данном случае, по-видимому, она потребует значительного пересмотра в свете значительно большей длительности изолированного пребывания, меньшего числа членов экипажа и значительно более высоких требований к их подготовке, наличия строгих массо-габаритных ограничений для оборудования и помещений, задействованных для проведения разгрузочных мероприятий.

Представляется весьма разумным объединять разгрузку с различными видами деятельности – в частности, культивированием растений и/или проведением биологических экспериментов. Создание «зеленых (живых) уголков» – одна из достаточно общепринятых методик в психологической практике; в то же время бортовая оранжерея, как уже упоминалось, с большой вероятностью будет

необходима с точки зрения медицинского и продовольственного обеспечения экспедиции. Введение в состав оранжереи некоторого количества декоративных растений и звукового сопровождения – «звуков природы» либо релаксационной музыки – позволит использовать ее также и в качестве средства психологической разгрузки.

Значительные перспективы имеются у применения программно-аппаратных комплексов с элементами виртуальной реальности, которые могут сочетать в себе функции собственно разгрузки, диагностики и обучения [228].

### **Эргономические меры**

Поскольку операторская деятельность в чрезвычайно высокой степени опирается на работу зрительного аппарата, современная медицина отмечает утомление как собственно глаз и глазодвигательных мышц, так и связанных со зрением отделов мозга как одну из основных причин снижения работоспособности [229].

В условиях гипогравитации, когда нормальная работа вестибулярной системы невозможна, а объем тактильной информации заметно снижен, зрение вынуждено в значительной степени компенсировать недостающие органы чувств. Более того, разгрузка тактильной сенсорной системы даже в условиях модельной гипогравитации провоцирует утрату соответствующих нервных связей и нарушение, в частности, паттернов движения человека; при этом создание хотя бы минимальной нагрузки на опорно-двигательный аппарат, достаточной для получения сенсорной информации, но не для напряжения мышц, нивелирует негативные последствия [230].

Ввиду изложенного представляется разумным отказ от тактики тотального использования сенсорных экранов (тачскринов), перегружающих зрительную систему за счет переноса нагрузки с системы сенсомоторной, при том, что именно последняя в своей работе тесно связана со структурами древнего мозга. Применение в ряде случаев механических переключателей, позволяющих выполнять критические операции «вслепую» – стандартная практика для

авиационной, космической и морской техники, однако в последние годы простота и дешевизна сенсорных экранов приводит к постепенному вытеснению механических органов управления, зачастую в ущерб эргономике и с негативными последствиями для эффективности работы и здоровья экипажа [231]. По-видимому, при проектировании интерфейсов управления следует учитывать также и нейробиологический эффект: наличие разнесенных механических элементов (желательно – обеспечивающих некоторое усилие, т.е. тактильную обратную связь) позволяет, с одной стороны, разгрузить зрение, а с другой – задействовать и тем самым тренировать мелкую моторику и пространственную память, что, в свою очередь, должно иметь положительные последствия для ЦНС, сердечно-сосудистой и костно-мышечной систем.

### **6.3 Перспективы исследований**

По большей части перспективные направления, идеи и предложения уже были описаны ранее, в главах 3 – 5 настоящей работы, однако представляется целесообразным представить их в сжатом виде и собранными в одном месте, что позволит полнее оценить картину в целом.

Прежде всего, к важным **прикладным направлениям** развития данного исследования следует отнести разработку методов коррекции – в первую очередь, фармакологической – негативных последствий воздействия ФКП. Разработанная и апробированная наземная модель позволяет проводить относительно быстрые, недорогие и достаточно массовые испытания препаратов на лабораторных грызунах – и такие исследования уже ведутся специалистами ИМБП в отношении перспективных отечественных препаратов.

**Фундаментальное направление** перспективных исследований касается общих закономерностей функционирования ЦНС и механизмов как поражения, так и репарации, в частности, на молекулярном уровне.

Представляется перспективным привлечение электроэнцефалографических исследований с целью оценки характера и скорости распространения сигналов в различных отделах мозга до и после модельных воздействий. Это направление тесно граничит с исследованиями в области Brain-Computer Interface, направленными, в свою очередь, на преодоление последствий органических и травматических поражений ЦНС, а также на разработку перспективных нейроинтерфейсов. Сфера применения последних, очевидно, в первую очередь включает в себя авиацию и космонавтику – соответственно, все упомянутые направления тесно связаны между собой.

Безусловно к фундаментальному направлению относится также уже упомянутая проблематика расстройств дофаминергической системы, связанная с рядом психологических аспектов. Хотя в настоящее время дофамин принято считать “локальным” гормоном, длинная метаболическая цепочка, ведущая от L-DOPA к адреналину, в сочетании с тем фактом, что в исследованиях на обезьянах были обнаружены различия в концентрациях L-DOPA в периферической крови, заставляет предположить наличие также и иных физиологических проявлений модельных воздействий.

Особую важность имеет **«техническое» направление**, связанное с развитием, расширением и валидацией самой модели воздействий.

В последнее время значительное внимание аэрокосмической науки уделяется проблемам пребывания под воздействием электромагнитного шума, создаваемого электронной аппаратурой, и/или в условиях изоляции от магнитного поля Земли (гипомагнитных условиях, ГМУ). Хотя механизмы реакции организма на сравнительно слабое электромагнитное поле остаются неизученными, существенный объем данных указывает на то, что в зависимости от индивидуальных особенностей организма длительное пребывание в гипомагнитных условиях может оказывать критическое воздействие на ВНД. Нельзя не провести параллель с индивидуальной чувствительностью особей неуравновешенного типа ВНД к уже имеющимся модельным воздействиям.

Очевидно, одним из приоритетов на этом направлении работы должно стать включение в модель четвертого элемента – пролонгированного пребывания в ГМУ синхронно с модельной гипогравитацией и гамма-излучением.

Попытки воспроизвести такое воздействие предпринимались в 2022 году в рамках данного исследования, но натолкнулись на существенные организационно-технические проблемы. Поскольку гамма-источник требует для своего размещения специализированного, защищенного, оснащенного системами дозиметрии и охраняемого помещения значительных размеров, очевидно, что следует моделировать ГМУ условия внутри этого помещения, но не наоборот. Соответственно, из двух технически реализуемых концепций создания ГМУ – экранированием посредством магнитомягкого материала и уравновешиванием магнитного поля встречным полем под действием тока в кольцах Гельмгольца – применима только вторая. Необходимость моделировать гипогравитацию посредством АоВ приводит к тому, что либо ГМУ-установка должна быть достаточно велика для того, чтобы вместить стеллажи с животными (а сами стеллажи при этом должны быть выполнены из вещества с магнитной восприимчивостью, по возможности близкой к нулю), либо следует для каждого животного создавать индивидуальную установку «АоВ + ГМУ».

Несмотря на очевидные инженерно-технические сложности, данное направление безусловно перспективно в качестве следующего шага для вышеописанных прикладной и фундаментальной перспектив.

Важной – и при этом достижимой – перспективой повышения точности модели является введение хронического воздействия ТЗЧ, в идеале – многоионного пучка, моделирующего спектр ГКЛ. Соответствующие работы ведутся в ОИЯИ на базе ускорительного комплекса NICA, предлагается формировать пучок вторичного ионного излучения путем облучения вращающейся полиэтиленовой мишени переменной толщины ионами  $^{79}\text{Au}$ , образующимися на бустере комплекса NICA [233]. Это позволит существенно превзойти качество моделирования, достижимое в лаборатории NSRL на ускорителе EBIS.

Особая перспектива исследований открывается на стыке всех трех направлений и состоит в изучении и потенциальном использовании антагонистических взаимодействий ФКП. Представляется весьма вероятным, что введение дополнительных воздействий – например таких, как вращение на центрифуге короткого радиуса [130], которое само по себе обусловлено со стороны сердечно-сосудистой системы – позволит компенсировать и некоторые нейробиологические эффекты. К очевидно перспективным направлениям функциональной коррекции следует отнести уже упомянутую гипергравитацию и воздействие слабых электромагнитных полей.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Структура диссертационной работы в значительной мере обусловлена как актуальностью, так и новизной тематики. Малое количество работ, посвященных анализу механизмов и результатов воздействия компонент ГКЛ и СКЛ на различных уровнях организации ЦНС, привело к необходимости уделить отдельное внимание – и главу – этому вопросу. Практические полное отсутствие исследований, посвященных комбинированному воздействию, вынудило, в свою очередь, формировать модель наземных воздействий эволюционно-итеративным путем, который прослеживается от ранних экспериментов, описанных в 4 главе, к поздним, которым посвящена глава 5.

В результате существенного объема экспериментальной работы (7 годичных циклов экспериментов на крысах, 2 пятилетних – на обезьянах) сформирована достаточно полная картина нейробиологических эффектов воздействия ионизирующих излучений различного качества и микрогравитации – ключевых факторов космического полета – как по отдельности, так и в сочетании.

В частности, относительно ионного воздействия подтверждена гипотеза А.С. Базяна ([79], [80]) о том, что основным механизмом воздействия на уровне ткани являются: с одной стороны, потеря миелиновых оболочек нервных волокон, а с другой – формирование кластерных повреждений клеток, приводящих к утрате связности. На уровне органа результатом является резкое падение скорости передачи нервных импульсов и, как следствие, потеря синхронизации отделов мозга и/или нейронных сетей, в частности, DMN, CEN и SEN. Поскольку полноценная репарация повреждений нервной ткани невозможна даже у грызунов, такое нарушение является долгосрочным, более того – сравнительно медленно развивающимся во времени, так как требует перестройки нейромедиаторных систем, что, в свою очередь, затруднено воздействием других ФКП.

Исследование проблематики комплексного синхронного и пролонгированного действия радиационного и гравитационного факторов позволило наблюдать ранее не упоминавшийся в литературе сложный, названный интерференционным, характер взаимодействия производимых эффектов, при

котором на различных уровнях и в различные моменты времени может наблюдаться не только взаимное усиление и взаимное ослабление этих эффектов, но и формирование новых – в частности, такого, как длительно сохраняющееся одновременное повышение тревожности и исследовательской активности у грызунов.

Такое развитие картины последствий связано, скорее всего, с двумя обстоятельствами.

Во-первых, ни одно из воздействий не встречается в естественной среде обитания – следовательно, организм не имеет специфических механизмов и проявляет неспецифическую стресс-подобную реакцию, задействуя в той или иной мере все системы.

Во-вторых, каждое из воздействий имеет в рамках организма свой «паттерн действия», т.е. уровень организации (клетка-ткань-орган-организм), на котором это воздействие оказывает наибольшее влияние, уровень проявления (от молекулярного до интегративного), на котором заметны наиболее выраженные эффекты, скорость развития последствий и время, требуемое организму на их компенсацию.

Так, наиболее изученное из воздействий – гипогравитация – действует преимущественно на организм в целом и его системы; последствия в виде угнетения, дезориентации и т.п. наступают быстро, но достаточно быстро же и компенсируются (в данном случае речь идет о ЦНС и эффекты адаптации костно-мышечной, сердечно-сосудистой и других систем к длительному действию гипогравитации не рассматриваются). В то же время воздействие гамма-излучения затрагивает прежде всего клеточный уровень, нарушения развиваются медленнее и оставляют более длительные, хотя и не такие выраженные, последствия. Паттерны действия трех факторов, рассмотренных в данной работе, приведенные ниже в таблице 7.1, достаточно сильно различаются между собой, поэтому итоговый механизм реакции организма оказывается столь сложным.

Открытие этого обстоятельства привело к необходимости исследовать именно комплексное синхронное действие упомянутых модельных ФКП, причем с параметрами, по возможности приближенными к тем, которые будут иметь место в

планируемых экспедициях на Луну и Марс – и, соответственно, к созданию и реализации методологии моделирования в наземном эксперименте комплексного синхронного воздействия, имитирующего негативные факторы дальнего космического полета.

Таблица 7.1. Обобщенная картина развития эффектов ФКП для ЦНС

Фактор	АнOB/АнOG	Гамма-облучение	Ионное облучение
Действие	<b>Организм/система</b> (перераспределение жидкостей, сенсорная депривация, детренировка)	<b>Клетки</b> (окислительный стресс, аберрации, апоптоз)	<b>Ткань/клетки</b> (формирование кластерных повреждений, аберрации)
Уровень, на котором наблюдаются макс. эффекты	<b>Интегративный</b> (угнетение)	<b>Интегративный</b> (возбуждение), <b>нейрохимический</b>	<b>Нейрохимический</b> (ДА- и 5-ОТ-системы), <b>Молекулярный</b> (падение нейропередачи)
Скорость наступления	<b>Быстро</b> (часы)	<b>Отсрочено</b> (часы-дни)	<b>Отсрочено</b> (недели-месяцы)
Длительность	<b>Малая</b> (часы-дни, не считая костно-мышечной системы)	<b>Средняя</b> (дни-недели)	<b>Большая</b> (месяцы)

Сопоставление результатов, полученных при работе по упомянутой методологии, с теми, что были получены ранее в ходе полетных экспериментов серии «Бион», позволило прийти к выводу, что разработанная модель достаточно полно и с достаточной точностью воспроизводит действие реальных ФКП, хотя и делает это в более сжатом (во времени) виде. Это открывает возможность для исследования эффективности лекарственных препаратов, пищевых продуктов, средств и методов радиационной защиты и других способов коррекции действия ФКП в длительном полете.

В результате серии экспериментов на крысах и макаках, проведенных согласно разработанной методологии, были собраны данные, позволившие оценить

картину нарушений на интегративном, нейрохимическом и молекулярном уровнях в различные отрезки времени – от суток до нескольких месяцев спустя после воздействия.

Полученные данные указывают, что ключевым механизмом реакции организма на модельные воздействия является изменение метаболизма дофамина в структурах древнего мозга – таламусе, гипоталамусе и гиппокампе. В основном речь идет о повышении метаболизма дофамина по линии ДОФУК, сохраняющемся в течение длительного (месяцы) времени.

В меньшей степени изменяется – в сторону снижения – метаболизм серотонина в префронтальной коре, что, очевидно, является проявлением реципрокной взаимосвязи дофаминергической и серотонинергической систем; причем в структурах древнего мозга не меняется метаболизм серотонина, а в коре – дофамина. По-видимому, это еще одно свидетельство в пользу гипотезы о рассинхронизации отделов мозга вследствие модельных воздействий.

Сообразно изменению концентраций самих нейромедиаторов меняется уровень экспрессии генов, кодирующих соответствующие рецепторы, однако в данном случае, напротив, регистрируются изменения в дофаминергической системе – в коре и в серотонинергической – в таламусе и гиппокампе, что дополнительно подтверждает картину разбалансировки.

На интегративном уровне такие изменения проявляются повышением агрессивности, активизацией исследовательского поведения и в целом ростом возбудимости, тесно связанным с падением результативности в тестах УРАИ и операторской деятельности как у грызунов, так и у приматов. Можно говорить о том, что нарушения затрагивают прежде всего эмоциональную составляющую ВНД.

При этом приобретает особую важность, а у приматов – выходит на первый план – исходная, генетически заложенная, типологическая характеристика ВНД. Животные «тормозного» (для крыс) или «сангвинического» (для обезьян) типа демонстрируют минимальные нарушения. Более того, в первом цикле экспериментов обезьяна сильного уравновешенного типа вскоре после воздействий успешно освоила следующий уровень сложности тестовой программы, что

сопряжено с повышением когнитивной нагрузки, формированием новых шаблонов поведения и повышением требований к вниманию и памяти – то есть наглядно продемонстрирована сохранность этих качеств.

В то же время возбудимые крысы значительно (до 50%) снижают результативность в тесте УРАИ, а у обезьян нарушения проявляются следующим образом:

- «сангиник» практически не меняет показателей;
- «флегматик» демонстрирует стабильный процент успешных тестов при падении активности, сравнительно быстро проходящем после воздействий;
- «холерик» проявляет резкий рост активности при значительном и длительно сохраняющемся падении результативности;
- «меланхолик» отказывается от тестирования и дальнейшего обучения.

Полученная картина нарушений указывает на то, что, хотя непосредственно когнитивные способности оказываются затронуты в незначительной мере, результирующий эффект действия совокупности факторов космического полета может в ряде случаев быть критически опасным для работоспособности экипажа и успеха миссии.

Соответственно, требуется внедрение комплекса мер, направленных на предотвращение и коррекцию возникающих негативных явлений.

Прежде всего, к таким мерам относится отбор кандидатов в члены экипажа с учетом индивидуальной типологии. Поскольку индивидуумы сильного уравновешенного типа наиболее предпочтительны и по существующим критериям отбора, то с учетом того, что они оказываются наиболее резистентны к комплексному воздействию, индивидуальные особенности ВНД следует признать одним из ведущих параметров отбора.

Очевидным и перспективным направлением выглядит также исследование средств фармакологической коррекции возникающих нарушений.

Помимо этого представляется необходимым внедрение средств психологической разгрузки, функциональной и эргономической коррекции.

## Выводы

1. В работе сформулирована, реализована и апробирована методология моделирования в наземном эксперименте комплексного синхронного воздействия, имитирующего негативные факторы дальнего космического полета – гипогравитацию, гамма- и ионное облучение. Использование этой методологии позволяет, во-первых, изучать нейробиологические эффекты действия комбинации указанных факторов, а во-вторых – исследовать эффективность мер противодействия негативным последствиям оных.
2. В результате исследования взаимного влияния пролонгированного синхронного действия факторов космического полета установлено, что такое влияние носит сложный, названный интерференционным по аналогии с физическим и психологическим понятиями интерференции, характер и может проявляться различными способами в зависимости от уровня организации, на котором рассматриваются эффекты, времени, прошедшего с момента воздействия, а также характеристик самого воздействия. Например, в краткосрочной перспективе сочетание гамма-облучения и АиОВ может давать антагонистический эффект (компенсация возбуждения), а в среднесрочной – приводить к появлению новых (одновременный рост тревожности и активности), не присущих модельным ФКП по отдельности, эффектов.
3. На основе проделанных исследований выбраны такие параметры комбинированного модельного воздействия, которые, отвечая современным данным о космическом излучении, полученным беспилотными аппаратами, и результатам математического моделирования радиационных нагрузок при полете, позволяют воспроизвести наиболее выраженные нарушения ВНД, т.е. «наихудший случай».
4. Исследованы и описаны механизмы нарушений на различных уровнях организации ЦНС, возникающих вследствие модельных воздействий.

Показано, что ключевым механизмом действия модельных ФКП является нарушение синаптической передачи (со стороны ионного воздействия) и индуцирование генерализованного ответа на стресс-подобную реакцию, что на нейрохимическом уровне приводит к изменениям в дофаминергической и серотонинергической системах головного мозга, а на интегративном – к длительно сохраняющемуся росту возбуждения.

5. В серии экспериментов как на грызунах, так и – особенно – на приматах показано, что ключевую роль в проявлении возникающих под действием модельных ФКП нарушений играют генетически предопределенные типологические характеристики ВНД, причем особи с сильным уравновешенным типом ВНД наиболее устойчивы к модельным воздействиям вплоть до устойчивого сохранения умственной работоспособности на исходном уровне.
6. На основе полученных данных сформулирован набор рекомендаций для практического приложения, к числу которых относится, прежде всего, необходимость отбирать в члены экипажа людей с сангвиническим типом темперамента.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

<b>Сокращение</b>	<b>Расшифровка</b>
АнOB	Анти-Ортостатическое Вывешивание
АноГ	Анти-Ортостатическая Гипокинезия
АТФ	АденозинТриФосфат
ВНД	Высшая Нервная Деятельность
ВЭЖХ	ВысокоЭффективная Жидкостная Хроматография
ГВК	ГомоВанилиновая Кислота (метаболит дофамина)
ГКЛ	Галактические Космические Лучи
ГЭБ	ГематоЭнцефалический Барьер
ДА, DA	Дофамин
ДНК	ДезоксирибоНуклеиновая Кислота
ДОФУК, DOPAC	Диоксифенилуксусная кислота (метаболит дофамина)
ИИ	Ионизирующие Излучения
ИМБП	Институт Медико-Биологических Проблем РАН
ИФВЭ	Институт Физики Высоких Энергий РАН
ЛД50	Летальная Доза, вызывающая гибель 50% популяции
ЛП	Латентный Период (параметр в поведенческих тестах)
ЛПЭ	Линейная Передача Энергии
мРНК, mRNA	Матричная РибоНуклеиновая Кислота
МСР	МежСигнальные Реакции (параметр в поведенческих тестах)
НА	Норадреналин
НАСА, NASA	Национальное Авиакосмическое Агентство США

НИЛИ	НизкоИнтенсивное Лазерное Излучение (медицинское воздействие)
НОО	Низкая Околоземная Орбита
ОБЭ	Относительная Биологическая Эффективность
ОП	Открытое Поле (поведенческий тест)
ПК	Персональный Компьютер
ПКЛ	Приподнятый Крестообразный Лабиринт
ПО	Программное Обеспечение
ПЦР, PCR	Полимеразная Цепная Реакция
РБС	РадиоБиологический Стенд (ускоритель У-70, Протвино)
РНК	РибоНуклеиновая Кислота
СИ	Сухая Иммерсия либо Социальная Изоляция
СКЛ	Солнечные Космические Лучи
СТ	Серотонин
ТЛД	ТермоЛюминесцентный Дозиметр (Детектор)
УР	Условный Рефлекс
УРАИ	Условный Рефлекс Активного Избегания
УРПИ	Условный Рефлекс Пассивного Избегания
ФКП	Фактор(ы) Космического Полета
ЦКП	Центр Коллективного Пользования (на ускорителе У-70)
ЦНС	Центральная Нервная Система
ЦФ	Центрифуга
ЭД	Экспозиционная Доза
ЭфД	Эффективная Доза

ASP	Аспартат (аминокислота)
BDNF	Brain-Derived Neurotrophic Factor, нейротрофический фактор мозга
CEN	Central Executive Network, Исполнительная Нейросеть (метаструктура мозга)
DLPFC	Dorsolateral PreFrontal Cortex
DMN	Default Mode Network, Основная Нейросеть (метаструктура мозга)
EBIS	Electron Beam Ion Source (ускоритель заряженных частиц)
GLU	Глутамат (аминокислота)
GDNF	Glial cell-line Derived Neurotrophic Factor, глиальный нейротрофический фактор
HVA	ГомоВанилиновая Кислота
HPC	Нурросampus, Гиппокамп
LSD	Less Significant Difference, математический критерий наименьшей значимой разницы
MAO	МоноАминОксидаза
PFC	PreFrontal Cortex, Префронтальная кора
PHC	ParaHippocampal Cortex, Лимбическая Кора
PRC	PeriRhinal Cortex, Периренальная Кора
RSC	RetroSplenial Cortex, Ретросplenальная Кора
SEN	Salience and Emotion Network, Эмоциональная Нейросеть (метаструктура мозга)
ST	Стриатум
TH	ТирозинГидроксилаза

3МТ/3-МТ	Триметокситиронин
5-OT/5-HT	Серотонин
5-ОИУК/5-HIAA	Гидроксииндолуксусная кислота

**СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ**

1. Shukitt-Hale, B.; Casadesus, G.; McEwen, J.J.; Rabin, B.M.; Joseph, J.A. Spatial Learning and Memory Deficits Induced by Exposure to Iron-56- Particle Radiation. *Radiat. Res.* 2000, 154, 28–33.
2. А. В. Шафиркин. Биологическая эффективность быстрых нейтронов и ускоренных многозарядных ионов для построения новой зависимости коэффициентов качества космических излучений от линейной передачи энергии / А. В. Шафиркин, Ю. Г. Григорьев, И. Б. Ушаков, В. А. Шуршаков // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2021. – Т. 55, № 3. – С. 5-15. – DOI 10.21687/0233-528X-2021-55-3-5-15. – EDN AIYYBK.
3. Григорьев А. И., Красавин Е. А., Островский М. А. К вопросу оценки радиационного риска при пилотируемых полетах в дальний космос //Пилотируемые полеты в космос. – 2017. – С. 36-38.
4. Ушаков, И. Б. Комбинированные воздействия в экологии человека и экстремальной медицине / И. Б. Ушаков ; Российская академия медицинских наук, Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины. – Москва : ИПЦ "Издатцентр", 2003. – 442 с. – ISBN 5-203-02770-9. – EDN JLBRWX.
5. Штемберг А. С. Комбинированное действие разных форм двигательной депривации и гамма-облучения на высшую нервную деятельность крыс //Авиакосмическая и экологическая медицина. – 1997. – Т. 31. – №. 2. – С. 38-43.
6. Raber J, Holden S, Kessler K, Glaeser B, McQuesten C, Chaudhari M, Stenzel F, Lenarczyk M, Leonard SW, Morré J, Choi J, Kronenberg A, Borg A, Kwok A, Stevens JF, Olsen C, Willey JS, Bobe G, Minnier J and Baker JE (2024) Effects of photon irradiation in the presence and absence of hindlimb unloading on the

behavioral performance and metabolic pathways in the plasma of Fischer rats. *Front. Physiol.* 14:1316186. doi: 10.3389/fphys.2023.1316186

7. Rabin B. M. et al. Relationship between linear energy transfer and behavioral toxicity in rats following exposure to protons and heavy particles //Radiation research. – 1991. – Т. 128. – №. 2. – С. 216-221.
8. Britten R.A., Davis L.K., Johnson A.M., Keeney S, Siegel A, Sanford L.D., Singletary S.J., Lonart G. Low (20 cGy) doses of 1 GeV/u (<sup>56</sup>Fe)-particle radiation lead to a persistent reduction in the spatial learning ability of rats. *Radiat Res.* 2012 Feb;177(2):146-51. doi: 10.1667/rr2637.1. Epub 2011 Nov 11. PMID: 22077338.
9. Оценка биологической эффективности ускоренных ионов углерода с энергией 450 МэВ/нуклон в ускорительном комплексе у-70 по критерию выживаемости мышей / С. И. Заичкина, О. М. Розанова, Е. Н. Смирнова [и др.] // Биофизика. – 2019. – Т. 64, № 6. – С. 1208-1215. – DOI 10.1134/S0006302919060206. – EDN DXOPKT.
10. Khan S. Y. et al. Distinctive microRNA expression signatures in proton-irradiated mice //Molecular and cellular biochemistry. – 2013. – Т. 382. – С. 225-235.
11. R Lowe X., J Wyrobek A. Characterization of the early CNS stress biomarkers and profiles associated with neuropsychiatric diseases //Current Genomics. – 2012. – Т. 13. – №. 6. – С. 489-497
12. Rabin B. M., Joseph J. A., Shukitt-Hale B. Heavy particle irradiation, neurochemistry and behavior: thresholds, dose-response curves and recovery of function //Advances in Space Research. – 2004. – Т. 33. – №. 8. – С. 1330-1333.
13. Machida M., Lonart G., Britten R. A. Low (60 cGy) doses of 56Fe HZE-particle radiation lead to a persistent reduction in the glutamatergic readily releasable pool in rat hippocampal synaptosomes //Radiation research. – 2010. – Т. 174. – №. 5. – С. 618-623.

14. Rola R.; Fishman, K.; Baure, J.; Rosi, S.; Lamborn, K.R.; Obenaus, A.; Nelson, G.A.; Fike, J.R. Hippocampal neurogenesis and neuroinflammation after cranial irradiation with 56Fe particles //Radiation research. – 2008. – Т. 169. – №. 6. – С. 626-632.
15. Andres-Mach M, Rola R, Fike JR. Radiation effects on neural precursor cells in the dentate gyrus. *Cell Tissue Res.* 2008 Jan;331(1):251-62. doi: 10.1007/s00441-007-0480-9. Epub 2007 Sep 5. PMID: 17786480.
16. Rivera, P.D.; Shih, H.-Y.; Leblanc, J.A.; Cole, M.G.; Amaral, W.Z.; Mukherjee, S.; Zhang, S.; Lucero, M.J.; Decarolis, N.A.; Chen, B.P.C.; et al. Acute and Fractionated Exposure to High-LET (56)Fe HZE-Particle Radiation Both Result in Similar Long-Term Deficits in Adult Hippocampal Neurogenesis. *Radiat. Res.* 2013, 180, 658–667.
17. Гомазков О. А. Нейрогенез как адаптивная функция взрослого мозга //Успехи современной биологии. – 2013. – Т. 133. – №. 4. – С. 349-366.
18. Raber J, Holden S, Sudhakar R, Hall R, Glaeser B, Lenarczyk M, Rockwell K, Nawarawong N, Sterrett J, Perez R, Leonard SW, Morré J, Choi J, Kronenberg A, Borg A, Kwok A, Stevens JF, Olsen CM, Willey JS, Bobe G, Baker J. Effects of 5-Ion Beam Irradiation and Hindlimb Unloading on Metabolic Pathways in Plasma and Brain of Behaviorally Tested WAG/Rij Rats. *Front Physiol.* 2021 Sep 27;12:746509. doi: 10.3389/fphys.2021.746509. PMID: 34646164; PMCID: PMC8503608.
19. Антипов В. В. и др. О комбинированном действии различных факторов полета //Основы космической биологии и медицины. – 1975. – Т. 2. – №. 2. – С. 243.
20. Штемберг А. С. Комбинированное действие антиортостатической гиподинамии и гамма-облучения на высшую нервную деятельность крыс //Авиакосмическая и экологическая медицина. – 1992. – Т. 26. – №. 4. – С. 64.

21. Влияние факторов космического полета, моделируемых в наземном эксперименте, на поведение, дискриминантное обучение и обменmonoаминов в различных структурах мозга крыс / А. С. Штемберг, К. Б. Лебедева-Георгиевская, М. И. Матвеева [и др.] // Известия Российской академии наук. Серия биологическая. – 2014. – № 2. – С. 168. – DOI 10.7868/S0002332914020118. – EDN RVAJFR.
22. И. Б. Ушаков, А. С. Штемберг, Е. А. Красавин. Эффекты космической радиации, комбинированного воздействия радиации и других факторов космического полета на функции ЦНС в модельных экспериментах на животных / И. Б. Ушаков, А. С. Штемберг, Е. А. Красавин [и др.] // Успехи современной биологии. – 2018. – Т. 138, № 4. – С. 323-335. – DOI 10.7868/S0042132418040014. – EDN XVMAYX.
23. Ливанов М.Н. Некоторые проблемы действия ионизирующей радиации на нервную систему. М., Медгиз, 1962.
24. Даренская Н.Г., Цыпин А.Б. К вопросу о зависимости между радиочувствительностью нервной системы и лучевой поражаемостью животных. Радиобиология, 1962. т.2, № 3. с.468-472.
25. Rubin, P.; Casarett, G.W. Clinical Radiation Pathology as Applied to Curative Radiotherapy. Cancer 1968, 22, 767–778
26. Фабер Ю.В., Табакова Л.А., Шафиркин А.В. Исследование влияния длительного вращения на радиационное поражение организма // Косм. биол. 1978. Т. 12. № 4. С. 46-49.
27. Harlow HF, Schrier AM, Simons DG. Exposure of primates to cosmic radiation above 90,000 feet. Journal of comparative and physiological psychology. 1956;49:195-200.
28. Говорун Р.Д. Цитогенетическая характеристика биологического действия протонов с энергией 50, 120, 645 МэВ и гамма-лучей на костный мозг

животных: дис. ... канд. Биол. Наук: 03.00.01 / Говорун Раиса Дмитриевна. – М., 1972. – 266 с

29. Rabin BM, Hunt WA, Joseph JA. An assessment of the behavioral toxicity of high-energy iron particles compared to other qualities of radiation. *Radiat Res.* 1989 Jul;119(1):113-22. PMID: 2756102.
30. Rabin BM, Joseph JA, Erat S. Effects of exposure to different types of radiation on behaviors mediated by peripheral or central systems. *Adv Space Res.* 1998;22(2):217-25. doi: 10.1016/s0273-1177(98)80013-6. PMID: 11541399.
31. И.Г. Акоев. Биофизические основы действия космической радиации и излучений ускорителей / [И.Г. Акоев, В.А. Сакович, С.С. Юров и др.; Отв. ред. В.В. Антипов]. — Л. : Наука. Ленингр. отд-ние, 1989. — 255 с. ил.; 21. — (Проблемы космической биологии).
32. Балакин, В.Е. Определение относительной биологической эффективности тонкого сканирующего пучка протонов на мышах *in vivo* / В. Е. Балакин, О. М. Розанова, Е. Н. Смирнова [и др.] // Доклады Российской академии наук. Науки о жизни. – 2021. – Т. 499, № 1. – С. 332-337. – DOI 10.31857/S2686738921040053. – EDN KBIXWG.
33. Connolly, John F. Constellation Program Overview. NASA Constellation Program Office. October 2006
34. Simonsen, Lisa C.; Slaba, Tony C.; Guida, Peter; Rusek, Adam (2020-05-19). NASA's first ground-based Galactic Cosmic Ray Simulator: Enabling a new era in space radiobiology research. *PLOS Biology.* 18 (5): e3000669. doi:10.1371/journal.pbio.3000669. ISSN 1545-7885. PMC 7236977. PMID 32428004.
35. The results obtained on “Radiobiological stand” facility, working with the extracted carbon ion beam of the U-70 accelerator / V. A. Pikalov, Y. M. Antipov, A. V. Maximov [et al.] // CERN-Proceedings : 27, Alushta, 27 сентября – 01 2021

года. – Alushta, 2021. – Р. 124-126. – DOI 10.18429/JACoW-RuPAC2021-FRB06. – EDN MLAFQY.

36. Латанов, А. В. Влияние краиального облучения протонами высоких энергий на зрительно-моторное поведение обезьян / А. В. Латанов, Л. В. Терещенко, М. А. Островский // Доклады Академии наук. – 2019. – Т. 487, № 5. – С. 588-591. – DOI 10.31857/S0869-56524875588-591. – EDN QGUONO.
37. Britten, R.A.; Limoli, C.L. New Radiobiological Principles for the CNS Arising from Space Radiation Research. Life 2023, 13, 1293. <https://doi.org/10.3390/life13061293>
38. Ma T, Li K, Sang W, Liu X, Luo Q, Peng Y, Wang M, Luo X, Fang J, Wang H, Wang T, Zuo C. Low-dose-rate induces more severe cognitive impairment than high-dose-rate in rats exposed to chronic low-dose  $\gamma$ -radiation. Front Public Health. 2024 May 22;12:1387330. doi: 10.3389/fpubh.2024.1387330. PMID: 38841686; PMCID: PMC11150688
39. Britten RA, Jewell JS, Miller VD, Davis LK, Hadley MM, Wyrobek AJ. Impaired Spatial Memory Performance in Adult Wistar Rats Exposed to Low (5-20 cGy) Doses of 1 GeV/n (56)Fe Particles. Radiat Res. 2016 Mar;185(3):332-7. doi: 10.1667/RR14120.1. Epub 2016 Mar 4. PMID: 26943453.
40. О. И. Колганова. Комбинированное действие хронического ионизирующего излучения и многократного лазерного воздействия на когнитивные функции крыс / О. И. Колганова, О. С. Измельцева, В. В. Панфилова, Л. П. Жаворонков // Радиация и риск (Бюллетень Национального радиационно-эпидемиологического регистра). – 2022. – Т. 31, № 1. – С. 40-48. – DOI 10.21870/0131-3878-2022-31-1-40-48. – EDN ISRPEY.
41. Kokhan VS, Dobynde MI. The Effects of Galactic Cosmic Rays on the Central Nervous System: From Negative to Unexpectedly Positive Effects That Astronauts

May Encounter. Biology (Basel). 2023 Mar 3;12(3):400. doi: 10.3390/biology12030400. PMID: 36979092; PMCID: PMC10044754.

42. Chicheva, M.M.; Mal'tsev, A.V.; Kokhan, V.S.; Bachurin, S.O. The Effect of Ionizing Radiation on Cognitive Functions in Mouse Models of Alzheimer's Disease. Dokl. Biol. Sci. Proc. Acad. Sci. USSR Biol. Sci. Sect./Transl. Russ. 2020, 494, 225–227. [CrossRef] [PubMed]
43. Liu, B.; Hinshaw, R.G.; Le, K.X.; Park, M.A.; Wang, S.; Belanger, A.P.; Dubey, S.; Frost, J.L.; Shi, Q.; Holton, P.; et al. Space-like  $^{56}\text{Fe}$  irradiation manifests mild, early sex-specific behavioral and neuropathological changes in wildtype and Alzheimer's-like transgenic mice. Sci. Rep. 2019, 9, 12118. [CrossRef] [PubMed]
44. Полетаева И.И. Влияние облучения протонами на решение мышами когнитивного теста на поиск входа в укрытие и нейрогенез взрослого мозга / И. И. Полетаева, О. В. Перепелкина, Н. А. Огиенко [и др.] // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2019. – Т. 59, № 5. – С. 527-531. – DOI 10.1134/S0869803119050114. – EDN OBLDZK.
45. Лившиц Н.Н. О причинах разногласий в оценке радиочувствительности центральной нервной системы между исследователями, применяющими условнорефлекторный и лабиринтный методы. Радиобиология, 1967, т.7, №5, С.790-799.
46. И. В. Бондарь. Экспериментальные подходы к подготовке и проведению изучения эффектов облучения на когнитивные функции низших приматов / И. В. Бондарь, Л. Н. Васильева, Л. В. Терещенко [и др.] // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2020. – Т. 60, № 4. – С. 352-361. – DOI 10.31857/S0869803120040049. – EDN RDBSRQ.
47. Л. В. Терещенко. Ранние эффекты ионизирующего воздействия протонов высоких энергий на зрительно-моторное поведение обезьян / Л. В. Терещенко, И. Д. Шамсиев, М. А. Кадочникова [и др.] // Биофизика. – 2022.

- Т. 67, № 2. – С. 333-342. – DOI 10.31857/S0006302922020168. – EDN QSLIQI.
48. А. Г. Беляева. Воздействие высокоэнергетических протонов и ионов углерода  $^{12}\text{C}$  на когнитивные функции обезьян и содержание моноаминов и их метаболитов в периферической крови / А. Г. Беляева, А. С. Штемберг, А. М. Носовский [и др.] // Нейрохимия. – 2017. – Т. 34, № 2. – С. 168-176. – DOI 10.7868/S1027813317010034. – EDN YTAYIJ.
49. Терещенко Л.В., Бородачева Ю.В., Жиганов Л.С., Имамеев Э.Р., Латанов А.В. Воздействие облучения ионами углерода  $^{12}\text{C}$  на зрительномоторное поведение обезьян. // Актуальные проблемы радиационной биологии. Модификация радиационно-индукционных эффектов: Междунар. конф. (Дубна, 16-18 окт. 2024): Матер. конф. – Дубна: ОИЯИ, 2024 – С. 199-200
50. Y. S. Severyukhin. Effects of Cranial Exposure to 170-MeV Proton Radiation at a Dose of 5 Gy on the Visual Behavior and Optomotor Response of Adults Rats / Y. S. Severyukhin, M. A. Ostrovsky, A. G. Molokanov, T. B. Feldman // Biology Bulletin. – 2019. – Vol. 46, No. 12. – P. 1605-1610. – DOI 10.1134/S1062359019120070. – EDN YDTTYW.
51. Ш.Л. Джалафония. Изменения высшей нервной деятельности обезьян после общего рентгеновского облучения: Автореферат дисс. на соискание учен. степени кандидата мед. наук / Акад. мед. наук СССР. Ин-т эксперим. медицины, 1963
52. А. М. Бадаква. Влияние водной иммерсии обезьян на активность структур заднетеменной коры, участвующих в планировании и коррекции движений руки при выполнении моторной задачи / А. М. Бадаква, Н. В. Миллер, Л. Н. Зобова, В. Ю. Рошин // Физиология человека. – 2021. – Т. 47, № 3. – С. 13-19. – DOI 10.31857/S0131164621030036. – EDN WVLLHN.

53. Ушаков, И. Б. Физиология: реактивность и резистентность организма млекопитающих : Учебник / И. Б. Ушаков, А. В. Шафиркин, А. С. Штемберг. – 2-е изд., пер. и доп. – Москва : Издательство Юрайт, 2019. – 471 с. – (Высшее образование). – ISBN 978-5-534-11261-0. – EDN PXBJCG.
54. Гераськин С.А. Модификация радиационных эффектов на разных уровнях биологической организации. // Актуальные проблемы радиационной биологии. Модификация радиационно-индуцированных эффектов: Междунар. конф. (Дубна, 16-18 окт. 2024): Матер. конф. – Дубна: ОИЯИ, 2024 – С. 16-17
55. Отдаленные эффекты после фракционированного гамма-излучения и эмоционального стресса на неспецифическую фагоцитарную резистентность организма / Б. А. Жетписбаев, А. А. Алимбаева, К. С. Адрисова [и др.] // Наука и здравоохранение. – 2014. – № 4. – С. 59-62. – EDN VICARB.
56. А. В. Куликов. Трансплантация иммунокомпетентных клеток после летального облучения животных / А. В. Куликов, Л. В. Архипова, В. Б. Гаврилюк, В. И. Брусков // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2022. – Т. 24, № 5. – С. 179. – EDN REZBYR.
57. Шафиркин А.В., Короткевич А.О., Штемберг А.С. Оценка индивидуальной радиоустойчивости животных на основе некоторых показателей исходного состояния регуляторных систем организма//Изв. РАН. Сер. биол. 2000. № 6. С. 728-733. EDN: MPEWCT
58. А.В. Шафиркин. Межпланетные и орбитальные космические полеты. Радиационный риск для космонавтов (радиобиологическое обоснование) / А.В. Шафиркин, Ю.Г. Григорьев; Государственный научный центр Российской Федерации — Институт медико-биологических проблем РАН; ФГУ «Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна». — М.: ЗАО «Издательство «Экономика», 2009. — 639 с.

59. Шафиркин, А. В. Обобщенный логарифмический показатель для характеристики адаптации, определения степени напряжения регуляторных систем при длительном действии экстремальных факторов окружающей среды / А. В. Шафиркин, А. Л. Васин, А. С. Штемберг // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2013. – Т. 47, № 6. – С. 3-10. – EDN RSJMUX.
60. Сизан Е.П. Цепные двигательные условные рефлексы при длительном гамма-облучении: диссертация . кандидата биологических наук : 14.00.32 Москва, 1972
61. Yahyapour, R., Amini, P., Rezapour, S. et al. Radiation-induced inflammation and autoimmune diseases. Military Med Res 5, 9 (2018). <https://doi.org/10.1186/s40779-018-0156-7>
62. М. В. Васин. Первичный радиационный стресс, воспалительная реакция и механизм ранних пострадиационных репаративных процессов в облученных тканях / М. В. Васин, В. Ю. Соловьев, В. Н. Мальцев [и др.] // Медицинская радиология и радиационная безопасность. – 2018. – Т. 63, № 6. – С. 71-81. – DOI 10.12737/article\_5c0eb50d2316f4.12478307. – EDN MIDUEH
63. Kim S.J., Choe H., Lee G.J. et al. Ionizing radiation induces innate immune responses in macrophages by generation of mitochondrial reactive oxygen species // Radiat. Res. 2017. Vol. 187. № 1. P. 32–41.
64. Liu Fang, Wang Zhuanzi, Li Wenjian, Wei Yanting. (2019). Transcriptional response of murine bone marrow cells to total-body carbon-ion irradiation. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. 839. 10.1016/j.mrgentox.2019.01.014.
65. Rabin, B.M.; Shukitt-Hale, B.; Carrihill-Knoll, K.L.; Gomes, S.M. Comparison of the Effects of Partial- or Whole-Body Exposures to  $^{16}\text{O}$  Particles on Cognitive Performance in Rats. Radiat. Res. 2014, 181, 251–257.

66. Ивановский Юрий Александрович Радиационный гормезис. Благоприятны ли малые дозы ионизирующей радиации? // Вестник ДВО РАН. 2006. №6.
67. National Research Council. 1985. Studies of Participants in Nuclear Tests: Final Report, 1 September 1978-31 October 1984. Washington, DC: The National Academies Press. <https://doi.org/10.17226/28825>.
68. Watanabe T, Sato GE, Yoshimura M, Suzuki M, Mizowaki T. The mutual relationship between the host immune system and radiotherapy: stimulating the action of immune cells by irradiation. *Int J Clin Oncol.* 2023 Feb;28(2):201-208. doi: 10.1007/s10147-022-02172-2. Epub 2022 May 12. PMID: 35556190.
69. Reynolds BA, Weiss S (Mar 1992). "Generation of neurons and astrocytes from isolated cells of the adult mammalian central nervous system". *Science.* 255 (5052): 1707–10. Bibcode:1992Sci...255.1707R. doi:10.1126/science.1553558. ISSN 0036-8075.
70. Parihar, V.K.; Maroso, M.; Syage, A.; Allen, B.D.; Angulo, M.C.; Soltesz, I.; Limoli, C.L. Persistent Nature of Alterations in Cognition and Neuronal Circuit Excitability after Exposure to Simulated Cosmic Radiation in Mice. *Exp. Neurol.* 2018, 305, 44–55.
71. Britten, R.A.; Jewell, J.S.; Duncan, V.D.; Davis, L.K.; Hadley, M.M.; Wyrobek, A.J. Spatial Memory Performance of Socially Mature Wistar Rats Is Impaired after Exposure to Low (5 CGy) Doses of 1 GeV/n 48Ti Particles. *Radiat. Res.* 2017
72. Haley, G.E.; Yeiser, L.; Olsen, R.H.J.; Davis, M.J.; Johnson, L.A.; Raber, J. Early Effects of Whole-Body 56Fe Irradiation on Hippocampal Function in C57BL/6J Mice. *Radiat. Res.* 2013, 179, 590–596.
73. Parihar, V.K.; Allen, B.D.; Caressi, C.; Kwok, S.; Chu, E.; Tran, K.K.; Chmielewski, N.N.; Giedzinski, E.; Acharya, M.M.; Britten, R.A.; et al. Cosmic Radiation Exposure and Persistent Cognitive Dysfunction. *Sci. Rep.* 2016, 6, 34774

74. Ward, J. The Student's Guide to Cognitive Neuroscience, 4th ed.; Taylor & Francis: London, UK, 2019; ISBN 9781351035187
75. Yin, S.; Wang, T.; Pan, W.; Liu, Y.; Chen, A. Task-Switching Cost and Intrinsic Functional Connectivity in the Human Brain: Toward Understanding Individual Differences in Cognitive Flexibility. *PLoS ONE* 2015, 10, e0145826.
76. Kesler, S.R.; Wefel, J.S.; Hosseini, S.M.H.; Cheung, M.; Watson, C.L.; Hoeft, F. Default Mode Network Connectivity Distinguishes Chemotherapy-Treated Breast Cancer Survivors from Controls. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2013, 110, 11600–11605.
77. Zhang, H.; Fell, J.; Staresina, B.P.; Weber, B.; Elger, C.E.; Axmacher, N. Gamma Power Reductions Accompany Stimulus-Specific Representations of Dynamic Events. *Curr. Biol.* 2015, 25, 635–640.
78. Ranganath C, Ritchey M. Two cortical systems for memory-guided behaviour. *Nat Rev Neurosci.* 2012 Oct;13(10):713-26. doi: 10.1038/nrn3338. PMID: 22992647.
79. Базян, А. С. Соматотопия структур мозга, реализация целенаправленного эмоционально мотивированного поведения и энграмм памяти / А. С. Базян // Успехи физиологических наук. – 2019. – Т. 50, № 1. – С. 17-44. – DOI 10.1134/S0301179819010041. – EDN YYYNAD.
80. Белов, О. В. О молекулярных и клеточных механизмах радиационно-индуцированного нарушения физиологических функций центральной нервной системы / О. В. Белов, К. В. Белокопытова, А. С. Базян // Успехи физиологических наук. – 2020. – Т. 51, № 2. – С. 3-26. – DOI 10.31857/S0301179820020034. – EDN VMUUDP.
81. Batmunkh M., Belov O., Bayarchimeg L., Lhagva O., Sweilam N. Estimation of the spatial energy deposition in CA1 pyramidal neurons under exposure to  $^{12}\text{C}$  and  $^{56}\text{Fe}$  ion beams // *J Rad. Res. Appl. Sci.* 2015. V. 8. P. 498-507.

82. Sanchez M.C., Benitez A., Ortloff L., Green L.M. Alterations in glutamate uptake in NT2-derived neurons and astrocytes after exposure to gamma radiation // Radiation Res. 2009. V. 171. № 1. P. 41-52.
83. Ji, K.; Akgul, G.; Wollmuth, L.P.; Tsirka, S.E. Microglia Actively Regulate the Number of Functional Synapses. PLoS ONE 2013, 8, e56293.
84. Wu, Y.; Dissing-Olesen, L.; MacVicar, B.A.; Stevens, B. Microglia: Dynamic Mediators of Synapse Development and Plasticity. Trends Immunol. 2015, 36, 605–613.
85. Sanchez, M.C.; Nelson, G.A.; Green, L.M. Effects of Protons and HZE Particles on Glutamate Transport in Astrocytes, Neurons and Mixed Cultures. Radiat. Res. 2010, 174, 669–678
86. Deitmer, J.W.; Theparambil, S.M.; Ruminot, I.; Noor, S.I.; Becker, H.M. Energy Dynamics in the Brain: Contributions of Astrocytes to Metabolism and PH Homeostasis. Front. Neurosci. 2019, 13, 1301.
87. Murphy-Royal, C.; Johnston, A.D.; Boyce, A.K.J.; Diaz-Castro, B.; Institoris, A.; Peringod, G.; Zhang, O.; Stout, R.F.; Spray, D.C.; Thompson, R.J.; et al. Stress Gates an Astrocytic Energy Reservoir to Impair Synaptic Plasticity. Nat. Commun. 2020, 11
88. Philips, T.; Rothstein, J.D. Oligodendroglia: Metabolic Supporters of Neurons. J. Clin. Investig. 2017, 127, 3271–3280.
89. Dickstein, D.L.; Talty, R.; Bresnahan, E.; Varghese, M.; Perry, B.; Janssen, W.G.M.; Sowa, A.; Giedzinski, E.; Apodaca, L.; Baulch, J.; et al. Alterations in Synaptic Density and Myelination in Response to Exposure to High-Energy Charged Particles. J. Comp. Neurol. 2018, 526, 2845–2855.

90. Alp, M.; Parihar, V.K.; Limoli, C.L.; Cucinotta, F.A. Irradiation of Neurons with High-Energy Charged Particles: An In Silico Modeling Approach. *PLoS Comput. Biol.* 2015, 11, e1004428.
91. М. И. Матвеева. Влияние облучения ионами углерода  $^{12}\text{C}$  на обменmonoаминов в некоторых структурах мозга крыс / М. И. Матвеева, А. С. Штемберг, Г. Н. Тимошенко [и др.] // Нейрохимия. – 2013. – Т. 30, № 4. – С. 343. – DOI 10.7868/S1027813313040067. – EDN RDJVTP.
92. А. С. Штемберг. Воздействие высокоэнергетических протонов в пике Брэгга на поведение крыс и обмен monoаминов в некоторых структурах мозга / А. С. Штемберг, В. С. Кохан, В. С. Кудрин [и др.] // Нейрохимия. – 2015. – Т. 32, № 1. – С. 78. – DOI 10.7868/S1027813315010100. – EDN TJFTFR.
93. А. С. Штемберг. Эффекты воздействия протонов высокой энергии на поведение, когнитивные функции и обмен monoаминов и их метаболитов в ключевых структурах мозга крыс / А. С. Штемберг, В. С. Кохан, К. Б. Лебедева-Георгиевская [и др.] // Материалы XXIII съезда Физиологического общества им. И. П. Павлова с международным участием, Воронеж, 18–22 сентября 2017 года. – Воронеж: Издательство Истоки, 2017. – С. 787-789. – EDN XXZCPJ.
94. К. В. Белокопытова . Распределение monoаминов и их метаболитов в структурах головного мозга крыс в поздние сроки после облучения ионами  $^{12}\text{C}$  / К. В. Белокопытова, О. В. Белов, В. С. Кудрин [и др.] // Нейрохимия. – 2015. – Т. 32, № 3. – С. 243. – DOI 10.7868/S1027813315030024. – EDN UDFEMZ.
95. Zhou BB, Elledge SJ (November 2000). "The DNA damage response: putting checkpoints in perspective". *Nature*. 408 (6811): 433–439. Bibcode:2000Natur.408..433Z

96. Vereshchak NI, Lenkov DN. The recovery of locomotion following partial extirpation of the motor cortex and transplantation of cortical tissue in the white rat. *Neurosci Behav Physiol.* 1990 Jul-Aug;20(4):371-7. doi: 10.1007/BF01236335. PMID: 2277671.
97. Vereshchak, N. I. Restoration of locomotion in white rats after multiple lesioning of the motor cortex and heterotopic transplantation of cortex fragments / N. I. Vereshchak, D. N. Lenkov // Neuroscience and Behavioral Physiology. – 1998. – Vol. 28, No. 6. – P. 706-709. – DOI 10.1007/BF02462993. – EDN LEQVWF.
98. B. Ptitsyna, A. B. Vol'nova, and D. N. Lenkov, "Rearrangement of the topical organization of the motor cortex of the rat after lesions to the contralateral hemisphere," *Zh. Vyssh. Nerv. Deyat.*, 38, No. 3, 506-512 (1988)
99. Торубаров, Ф. С. Наблюдение острого проникающего ранения головы в результате воздействия пучка протонов высокой энергии / Ф. С. Торубаров, З. Ф. Зверева, Н. А. Исаева // Медицинская радиология и радиационная безопасность. – 2008. – Т. 53, № 3. – С. 11-16. – EDN JUKZIH.
100. Altman J (1963). Autoradiographic investigation of cell proliferation in the brains of rats and cats. *The Anatomical Record.* 145 (4): 573–591. doi:10.1002/ar.1091450409.
101. Reynolds BA, Weiss S. Generation of neurons and astrocytes from isolated cells of the adult mammalian central nervous system. *Science.* 1992 Mar 27;255(5052):1707-10. doi: 10.1126/science.1553558. PMID: 1553558.
102. Spalding KL, Bergmann O, Alkass K, Bernard S, Salehpour M, Huttner HB, Boström E, Westerlund I, Vial C (2013-06-06). "Dynamics of hippocampal neurogenesis in adult humans". *Cell.* 153 (6): 1219–27. doi:10.1016/j.cell.2013.05.002. ISSN 1097-4172. PMC 4394608. PMID 23746839.

103. Lazutkin, A. A. Modes of division and differentiation of neural stem cells / A. A. Lazutkin, O. Podgorny, G. Enikolopov // Behavioural Brain Research. – 2019. – Vol. 374. – P. 112118. – DOI 10.1016/j.bbr.2019.112118. – EDN FYOLAZ.
104. Sorrells SF, Paredes MF, Cebrian-Silla A, Sandoval K, Qi D, Kelley KW, James D, Mayer S, Chang J, Auguste KI, Chang EF, Gutierrez AJ, Kriegstein AR, Mathern GW, Oldham MC, Huang EJ, Garcia-Verdugo JM, Yang Z, Alvarez-Buylla A (15 March 2018). "Human hippocampal neurogenesis drops sharply in children to undetectable levels in adults". *Nature*. 555 (7696): 377–381
105. Duque A, Arellano JI, Rakic P (January 2022). "An assessment of the existence of adult neurogenesis in humans and value of its rodent models for neuropsychiatric diseases". *Molecular Psychiatry*. 27 (1): 377–382. doi:10.1038/s41380-021-01314-8
106. О. А. Кроткова. Диссоциация когнитивных изменений при унилатеральных лучевых воздействиях на гиппокамп / О. А. Кроткова, Г. В. Данилов, М. В. Галкин [и др.] // Физиология человека. – 2024. – Т. 50, № 2. – С. 5-19. – DOI 10.31857/S0131164624020017. – EDN VLRENU.
107. Д. В. Безряднов. Пространственная и обстановочная гиппокамп-зависимая память у мышей после воздействия гамма-излучения / Д. В. Безряднов, О. А. Минеева, А. В. Кедров [и др.] // Современные проблемы системной регуляции физиологических функций : Conference proceedings, Halkidiki, Greece, 25–31 мая 2019 года. – Halkidiki, Greece: ООО "Ваше цифровое издательство", 2019. – С. 41-43. – DOI 10.24108/5-2019-confnf-18. – EDN ISKZJA.
108. Whoolery, C.W.; Yun, S.; Reynolds, R.P.; Lucero, M.J.; Soler, I.; Tran, F.H.; Ito, N.; Redfield, R.L.; Richardson, D.R.; Shih, H.-Y.; et al. Multi-Domain Cognitive Assessment of Male Mice Shows Space Radiation Is Not Harmful to High-Level Cognition and Actually Improves Pattern Separation. *Sci. Rep.* 2020, 10, 2737.

109. Sweet, T.B.; Hurley, S.D.; Wu, M.D.; Olschowka, J.A.; Williams, J.P.; O'Banion, M.K. Neurogenic Effects of Low-Dose Whole-Body HZE (Fe) Ion and Gamma Irradiation. *Radiat. Res.* 2016, 186, 614–623.
110. Saxe, M.D.; Malleret, G.; Vronskaya, S.; Mendez, I.; Garcia, A.D.; Sofroniew, M.V.; Kandel, E.R.; Hen, R. Paradoxical Influence of Hippocampal Neurogenesis on Working Memory. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2007, 104, 4642–4646. [
111. Becker, S. Neurogenesis and Pattern Separation: Time for a Divorce. *WIREs Cogn. Sci.* 2017, 8, e1427
112. Ярмоненко С.П. Клиническая радиобиология / С.П. Ярмоненко, А.Г. Коноплянников, А.А. Вайнсон ; Рос. акад. мед. наук Москва : Медицина, 1992
113. К. Б. Заборенко. Метод радиоактивных индикаторов в химии [Текст] : [Учеб. пособие для хим. специальностей вузов] / К. Б. Заборенко, Б. З. Иофа, В. Б. Лукьянов, И. О. Богатырев. - Москва : Высш. школа, 1964. - 371 с. : ил.; 22 см.
114. Определение биологической эффективности модифицированного пучка ионов углерода в области пика Брэгга на клетках В14-150 / М. В. Трошина, А. Н. Соловьев, Е. В. Корякина [и др.] // Перспективные направления в онкологии, радиобиологии и радиологии : материалы VI конференции молодых ученых, посвященной памяти академика А.Ф. Цыба, Обнинск, 27 ноября 2020 года / МЕДИЦИНСКИЙ РАДИОЛОГИЧЕСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР им. А.Ф. ЦЫБА – филиал федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации. – Обнинск: Медицинский радиологический научный центр Министерства здравоохранения РФ, 2020. – С. 88. – EDN RRWGSK.

115. Осовец, С. В. Относительная биологическая эффективность излучений: показатели и методы оценки / С. В. Осовец // Вопросы радиационной безопасности. – 2016. – № 1(81). – С. 77-83. – EDN VVBVUF.
116. А. В. Белоусов. Вычисление глубинной зависимости ОБЭ клинических пучков протонов / А. В. Белоусов, Р. Б. Бахтиозин, М. А. Колыванова [и др.] // Медицинская радиология и радиационная безопасность. – 2019. – Т. 64, № 3. – С. 5-10. – DOI 10.12737/article\_5cf23053d04654.51745769. – EDN WJKSZR.
117. Christian P. Karger, Christin Glowa, Peter Peschke, Wilma Kraft-Weyrather, The RBE in ion beam radiotherapy: In vivo studies and clinical application, Zeitschrift für Medizinische Physik, Volume 31, Issue 2, 2021, Pages 105-121, ISSN 0939-3889, <https://doi.org/10.1016/j.zemedi.2020.12.001>.
118. Bonney CH, Hardy KA, Hunter DM, Conley GE. Relative biological effectiveness (RBE) of heavy ions ( $O^{+8}$ ) for producing retinal lesions. Aviat Space Environ Med. 1977 May;48(5):443-5. PMID: 406891
119. Datta K, Suman S, Trani D, Doiron K, Rotolo JA, Kallakury BV, Kolesnick R, Cole MF, Fornace AJ Jr. Accelerated hematopoietic toxicity by high energy ( $^{56}Fe$ ) radiation. Int J Radiat Biol. 2012 Mar;88(3):213-22. doi: 10.3109/09553002.2012.639434.
120. M. Weil, Michael; Andrew Ray, F.; C. Genik, Paula; Yu, Yongjia; McCarthy, Maureen; M. Fallgren, Christina; et al. (2015). RBE values ( $\pm$  S.D) for 300 MeV/n  $^{28}Si$ , 600 MeV/n  $^{56}Fe$ , and 1972SPE protons. PLOS ONE. Dataset. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0104819.t003>
121. Rabin, B.M.; Carrihill-Knoll, K.L.; Shukitt-Hale, B. Comparison of the Effectiveness of Exposure to Low-LET Helium Particles (( $^4He$ ) and Gamma Rays (( $^{137}Cs$ ) on the Disruption of Cognitive Performance. Radiat. Res. 2015, 184, 266–272.

122. Wolfe JW, Rummel JD. Long-term effects of microgravity and possible countermeasures. *Adv Space Res.* 1992;12(1):281-4. doi: 10.1016/0273-1177(92)90296-a. PMID: 11536970.
123. Б. С. Оганов. Изменения костной ткани человека в космическом полете: о возможных механизмах остеопении / В. С. Оганов, А. В. Бакулин, В. Е. Новиков [и др.] // Остеопороз и остеопатии. – 2005. – Т. 8, № 2. – С. 2-7. – EDN MTBJPN.
124. Shamei, Arian; Soskuthy, Marton; Stavness, Ian; Gick, Bryan (May 2023). "Postural adaptation to microgravity underlies fine motor impairment in astronauts' speech". *Scientific Reports.* 13 (1): 8231. Bibcode:2023NatSR..13.8231S. doi:10.1038/s41598-023-34854-w
125. Marshall-Goebel K, Laurie SS, Alferova IV, et al. Assessment of Jugular Venous Blood Flow Stasis and Thrombosis During Spaceflight. *JAMA Netw Open.* 2019;2(11):e1915011. doi:10.1001/jamanetworkopen.2019.15011
126. Л. Н. Корнилова. Вестибулярная функция и космическая болезнь движения / Л. Н. Корнилова, И. А. Наумов, Д. О. Глухих [и др.] // Физиология человека. – 2017. – Т. 43, № 5. – С. 80-93. – DOI 10.7868/S0131164617050083. – EDN ZFXLFP.
127. Schneider SM, Amonette WE, Blazine K, Bentley J, Lee SM, Loehr JA, Moore AD Jr, Rapley M, Mulder ER, Smith SM (November 2003). "Training with the International Space Station interim resistive exercise device". *Medicine & Science in Sports & Exercise.* 35 (11): 1935–45. doi:10.1249/01.MSS.0000093611.88198.08
128. Mader, T. H.; et al. (2011). "Optic Disc Edema, Globe Flattening, Choroidal Folds, and Hyperopic Shifts Observed in Astronauts after Long-duration Space Flight". *Ophthalmology.* 118 (10): 2058–69. doi:10.1016/j.ophtha.2011.06.021

129. Сравнение физиологических эффектов АНТИОРТОСТАТИЧЕСКОЙ гипокинезии и "сухой" иммерсии продолжительностью 21 сутки / Е. С. Томиловская, И. В. Рукавишников, Т. А. Шигуева [и др.] // Интегративная физиология : Всероссийская конференция с международным участием. Тезисы докладов, Санкт-Петербург, 06–08 декабря 2023 года. – Санкт-Петербург: Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, 2023. – С. 114. – EDN НСЕРЗФ.
130. Орлов, О. И. Центрифуга короткого радиуса как новое средство профилактики неблагоприятных эффектов невесомости и перспективные планы по разработке проблемы искусственной силы тяжести применительно к межпланетным полетам / О. И. Орлов, М. И. Колотова // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2017. – Т. 51, № 7. – С. 11-18. – DOI 10.21687/0233-528X-2017-51-7-11-18. – EDN YMMPSR.
131. Novikov, V. E. Age-related reactions of rat bones to their unloading / V.E. Novikov, E. A. Ilyin // Aviat. Space Environ. Med. – 1981. – 52. – P.551–553
132. Н. А. Вильчинская. Дифференцировка миобластов, выделенных из M. Soleus крысы после антиортостатического взвешивания, сопровождается дефосфорилированием p27kip1 и усилением апоптоза / Н. А. Вильчинская, О. В. Туртикова, Т. М. Мирзоев, Б. С. Шенкман // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2023. – Т. 57, № 6. – С. 44-51. – DOI 10.21687/0233-528X-2023-57-6-44-51. – EDN OTQSHQ.
133. Michael AP, Marshall-Bowman K. Spaceflight-Induced Intracranial Hypertension. aerosp med hum perform. 2015;86(6):557-562. doi: 10.3357/AMHP.4284.2015
134. Donna R. Roberts, Moritz H. Albrecht et al. Effects of Spaceflight on Astronaut Brain Structure as Indicated on MRI N Engl J Med 2017;377:1746-1753 DOI: 10.1056/NEJMoa1705129

135. Латарцев К.В., Демина П.Н., Яшина В.А., Каспранский Р.Р. Структурные и функциональные изменения в головном мозге космонавтов под влиянием микрогравитации. Медицина экстремальных ситуаций. 2024;26(2):20-26. <https://doi.org/10.47183/mes.2024.008>
136. Manzey D. Mental performance in extreme environments: results from a performance monitoring study during a 438-day spaceflight. Ergonomics. 1998; doi:10.1080/001401398186991
137. Bion 11 mission: primate experiments / E. A. Ilyin, V. I. Korolkov, M. G. Skidmore [et al.] // Journal of Gravitational Physiology. – 2000. – Vol. 7, No. 1. – EDN LFTNJR.
138. Bion 11 science objectives and results / I. B. Kozlovskaya, R. E. Grindeland, M. Viso, V. I. Korolkov // Journal of Gravitational Physiology. – 2000. – Vol. 7, No. 1. – EDN LFTNUL.
139. Korolkov V, Helwig D, Viso M, Connolly J. Cosmos 2229 mission. Overview. J Appl Physiol (1985). 1996 Jul;81(1):186-7. doi: 10.1152/jappl.1996.81.1.186. PMID: 8828663.
140. Behavior and performance of rhesus monkeys during Bion 11 flight / G. G. Shlyk, A. V. Ignatenko, M. Y. Efimova, O. I. Zavadskaya // Journal of Gravitational Physiology. – 2000. – Vol. 7, No. 1. – EDN LFTNOR.
141. Antsiferova, L. I. Effect of microgravity on the implementation of conditioned reflex skills of rhesus monkeys / L. I. Antsiferova, G. G. Shlyk, A. V. Ignatenko // Journal of Gravitational Physiology. – 2000. – Vol. 7, No. 1. – EDN LFTNPL.
142. Washburn DA, Rumbaugh DM, Richardson WK Behavior & performance project Bion-11, final report. NASA, 1998
143. Артюхина, Н. И. Структурные изменения нервных клеток вестибулярных ядер мозга обезьяны Macaca mulatta после полета на спутнике "Бион-11" / Н.

И. Артюхина // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2000. – Т. 34, № 4. – С. 40-44. – EDN SXRFRJ.

144. М. В. Глазова. Механизмы регуляции нейрогенеза гиппокампа у взрослых крыс в условиях антиортостатического вывешивания / М. В. Глазова, А. С. Березовская, Е. В. Черниговская [и др.] // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. – 2020. – Т. 56, № 7. – С. 563. – DOI 10.31857/S0044452920070463. – EDN PJLMEP.
145. К. Б. Лебедева-Георгиевская. Влияние антиортостатического вывешивания на активность, адаптацию к новой среде, исследовательское поведение и обменmonoаминов в мозге мышей / К. Б. Лебедева-Георгиевская, М. И. Матвеева, А. С. Базян [и др.] // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2017. – Т. 51, № 1. – С. 39-45. – DOI 10.21687/0233-528X-2017-51-1-39-45. – EDN XXXXRD.
146. А. С. Штемберг. Влияние антиортостатической гиподинамики и перегрузки на дискриминантное обучение и обмен monoаминов в структурах мозга мышей / А. С. Штемберг, В. С. Кудрин, П. М. Клодт [и др.] // Нейрохимия. – 2012. – Т. 29, № 4. – С. 318. – EDN PDTZON.
147. Функции центральной нервной системы при комбинированном действии стресс-факторов (ионизирующей радиации, ускорений и вибраций) [Текст] : [Сборник статей] / [Отв. ред. проф. Н. Н. Лившиц]. - Москва : Наука, 1973.
148. Медведева, Ю. С. Оценка радиационно-индукционного апоптоза в клетках костного мозга и сдвигов в составе плазмы крови мышей после экспозиции на субмагнитосферной орбите (биоспутник БИОН-М №1) / Ю. С. Медведева, Е. Н. Яковенко, И. Б. Алчинова // Патогенез. – 2016. – Т. 14, № 2. – С. 38-42. – EDN XIPZLH.
149. Дорожкина, О. В. Цитогенетические исследования клеток костного мозга мышей, экспонированных на биоспутнике "БИОН-М1" / О. В. Дорожкина, А.

- А. Иванов // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2015. – Т. 49, № 1. – С. 37-42. – EDN TJUDRL.
150. Лисюков, А. Н. Электронно-микроскопическое исследование спинного мозга мышей после орбитального полета на биоспутнике "Бион-М1" / А. Н. Лисюков, И. А. Бикмуллина // Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины : материалы 76-й международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов, Волгоград, 25–28 апреля 2018 года. – Волгоград: Волгоградский государственный медицинский университет, 2018. – С. 422. – EDN YYWNET.
151. Ю. В. Грицына. Изменения экспрессии генов и содержания Hsp70 и Hsp90 в поперечно-полосатых мышцах мышей после 30-суточного космического полета на биоспутнике "Бион-М1" / Ю. В. Грицына, З. Р. Абдусаламова, И. М. Вихлянцев [и др.] // Доклады Академии наук. – 2015. – Т. 463, № 1. – С. 102. – DOI 10.7868/S0869565215190238. – EDN PYGRPF.
152. А. А. Андреев-Андиевский. Экспериментальные исследования на мышах по программе полета биоспутника "БИОН-М1" / А. А. Андреев-Андиевский, Б. С. Шенкман, А. С. Попова [и др.] // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2014. – Т. 48, № 1. – С. 14-27. – EDN SABLX.
153. Кохан, В. С. Метаболизм серотонина и норадреналина в мозге крыс при моделировании комбинированного действия ионизирующих излучений и гипогравитации в наземном эксперименте / В. С. Кохан, В. С. Кудрин, А. С. Штемберг // Нейрохимия. – 2019. – Т. 36, № 1. – С. 65-70. – DOI 10.1134/S1027813319010102. – EDN VUZGDW.
154. Combined space stressors induce independent behavioral deficits predicted by early peripheral blood monocytes / K. D. A. Rienecker, K. Grue, M. S. Paladini [et al.] // Scientific Reports. – 2023. – Vol. 13, No. 1. – P. 1749. – DOI 10.1038/s41598-023-28508-0. – EDN DISGRF.

155. Bellone, J., Gifford, P., Nishiyama, N. *et al.* Long-term effects of simulated microgravity and/or chronic exposure to low-dose gamma radiation on behavior and blood–brain barrier integrity. *npj Microgravity* **2**, 16019 (2016). <https://doi.org/10.1038/npjmgrav.2016.19>
156. Turner KM, Burne THJ (2014) Comprehensive Behavioural Analysis of Long Evans and Sprague-Dawley Rats Reveals Differential Effects of Housing Conditions on Tests Relevant to Neuropsychiatric Disorders. *PLoS ONE* **9**(3): e93411. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093411>
157. Hort J, Brozek G, Komárek V, Langmeier M, Mares P. Interstrain differences in cognitive functions in rats in relation to status epilepticus. *Behav Brain Res.* 2000 Jul;112(1-2):77-83. doi: 10.1016/s0166-4328(00)00163-7. PMID: 10862938.
158. Лебедева-Георгиевская К.Б., Кохан В.С., Шуртакова А.К., Перевезенцев А.А., Кудрин В.С., Штемберг А.С., Базян А.С. Нейробиологические эффекты комбинированного воздействия антиортостатического вывешивания и ионизирующих излучений различного качества. // Нейрохимия. 2019. Т. 36. № 3. С. 254-264.
159. Штемберг А.С., Перевезенцев А.А., Лебедева-Георгиевская К.Б., Митрофанова О.В., Кудрин В.С., Базян А.С. Роль типологических особенностей высшей нервной деятельности в нейробиологических эффектах комбинированного действия антиортостатического вывешивания,  $\gamma$ -излучения, протонов и ионов углерода  $^{12}\text{C}$ . // Радиационная биология. Радиоэкология. 2020. Т. 60. № 1. С. 51-62.
160. The effects of high-energy protons and carbon ions ( $^{12}\text{C}$ ) on the cognitive function and the content of monoamines and their metabolites in peripheral blood in monkeys / A. G. Belyaeva, A. S. Shtemberg, A. M. Nosovskii [et al.] // Neurochemical Journal. – 2017. – Vol. 11, No. 2. – P. 168-175. – DOI 10.1134/S1819712417010032. – EDN XNEAID.

161. Хоничева Н.М., Ильяна Вильяр Х. Характер поведения в ситуации избегания как критерий оценки типологических особенностей крыс. Журн. ВНД, 1981, Т.31, №5, С.975-983.
162. Логановский К.Н. Неврологические и психопатологические синдромы в отдаленном периоде воздействия ионизирующих излучений. // Журнал неврологии и психиатрии им.С.С.Корсакова, 2000.-N 4.-C.15-21
163. Ляшедько С.П. Психофизиологическое обоснование режима тренировки пространственной ориентировки летчиков / Ляшедько С.П.: Воен.-мед. акад. им. С.М. Кирова. - Санкт-Петербург, 2019. - 24 с.
164. Effects of combined exposure to modeled radiation and gravitation factors of the interplanetary flight: Monkeys' cognitive functions and the content of monoamines and their metabolites; cytogenetic changes in peripheral blood lymphocytes / A. G. Belyaeva, V. S. Kudrin, A. N. Nosovsky [et al.] // Life Sciences in Space Research. – 2021. – Vol. 30. – P. 45-54. – DOI 10.1016/j.lssr.2021.05.004. – EDN BOTQLY.
165. Маркель А.Л. К оценке основных характеристик поведения крыс в «открытом поле» II Журн. высш. нерв. деят. 1981. Т. 31, № 2. С. 301-307.
166. Washburn DA, Rumbaugh DM, Richardson WK, Gulledge JP, Shlyk GG, Vasilieva ON. PTS performance by flight- and control-group macaques. Journal of gravitational physiology : a journal of the International Society for Gravitational Physiology. 2000;7:S89-93.
167. Monge-Fuentes, V., Biolchi Mayer , A., Lima, M.R. et al. Dopamine-loaded nanoparticle systems circumvent the blood–brain barrier restoring motor function in mouse model for Parkinson’s Disease. Sci Rep 11, 15185 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-94175-8>
168. Haberman, Allan. (2009). Strategies to Overcome Blood-Brain Barrier. Genetic engineering & biotechnology news: GEN. 29.

169. Колик Л. Г., Надорова А. В., Коньков В. Г., Наркевич В. Б., Кудрин В. С. // Нейрохимия. 2021. Т. 38. № 2. С. 1-9
170. Livak, Kenneth J., and Schmittgen, Thomas D. "Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT Method." Methods, vol. 25, no. 4, 2001, pp. 402–08, doi:10.1006/meth.2001.1262.
171. Большев Л.Н., Смирнов Н.В. Таблицы математической статистики. М. Наука. 1983. 417 с.
172. Носовский, А. М. Современные технологии статистического анализа медицинских данных и способы их графического представления / А. М. Носовский, О. В. Попова, Ю. И. Смирнов // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2023. – Т. 57, № 5. – С. 149-154. – DOI 10.21687/0233-528X-2023-57-5-149-154. – EDN LAKMCV.
173. Феллер В. Введение в теорию вероятностей и ее приложения. В 2-х томах. Т. 1: Пер. с англ. М.: Мир. 1984. 528 с.
174. Феллер В. Введение в теорию вероятностей и ее приложения. В 2-х томах. Т.2. Пер. с англ. М.: Мир. 1984. 738 с.
175. Шеффе Г. Дисперсионный анализ. Пер. с англ. М. 1980. 512 с.
176. S.B. Curtis, M.E. Vazquez, J.W. Wilson, W. Atwell, M. Kim, J. Capala / Cosmic ray hit frequencies in critical sites in the central nervous system // Advances in Space Research, 1998, Volume 22, Issue 2, Pages 197-207, ISSN 0273-1177, [https://doi.org/10.1016/S0273-1177\(98\)80011-2](https://doi.org/10.1016/S0273-1177(98)80011-2).
177. Boldeman, J. W., Banati, R., Buttner, H., Cohen, D., & Garrett, R. L. (2010). Preliminary details of a light ion facility for hadron therapy and research (ANSTO/E-770). Lucas Heights, NSW: Australian Nuclear Science and Technology Organisation, Lucas Heights Research Laboratories.

178. Перевезенцев А.А. Оценка экспрессии генов белков SNARE-комплекса в гиппокампе крыс после действия моделируемых факторов космического полета / А. А. Перевезенцев, К. Б. Лебедева-Георгиевская, О. С. Кузнецова, А. С. Штемберг // Нейрохимия. – 2023. – Т. 40, № 2. – С. 186-192. – DOI 10.31857/S1027813323020103. – EDN UCRDZM.
179. Diao, Jiajie, et al. “Native  $\alpha$ -Synuclein Induces Clustering of Synaptic-Vesicle Mimics via Binding to Phospholipids and Synaptobrevin-2/VAMP2.” *ELife*, vol. 2, Apr. 2013, p. e00592, doi:10.7554/eLife.00592.
180. Cheng, Furong, et al. “The Role of Alpha-Synuclein in Neurotransmission and Synaptic Plasticity.” *Journal of Chemical Neuroanatomy*, vol. 42, no. 4, Elsevier B.V., 2011, pp. 242–48, doi:10.1016/j.jchemneu.2010.12.001.
181. Lotharius, Julie, and Patrik Brundin. “Impaired Dopamine Storage Resulting from Alpha-Synuclein Mutations May Contribute to the Pathogenesis of Parkinson’s Disease.” *Human Molecular Genetics*, vol. 11, no. 20, Oct. 2002, pp. 2395–407, doi:10.1093/hmg/11.20.2395.
182. Schiavo, G., et al. “Binding of the Synaptic Vesicle V-SNARE, Synaptotagmin, to the Plasma Membrane t-SNARE, SNAP-25, Can Explain Docked Vesicles at Neurotoxin-Treated Synapses.” *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1997, doi:10.1073/pnas.94.3.997.
183. Pang, Zhiping P., et al. “Synaptotagmin-2 Is Essential for Survival and Contributes to  $\text{Ca}^{2+}$  Triggering of Neurotransmitter Release in Central and Neuromuscular Synapses.” *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, vol. 26, no. 52, Dec. 2006, pp. 13493–504, doi:10.1523/JNEUROSCI.3519-06.2006.
184. Pevsner, Jonathan, et al. “Specificity and Regulation of a Synaptic Vesicle Docking Complex.” *Neuron*, 1994, doi:10.1016/0896-6273(94)90352-2.

185. Burgoyne, RD, et al. "The Functions of Munc18-1 in Regulated Exocytosis." *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 1152, Jan. 2009, pp. 76–86, doi:10.1111/j.1749-6632.2008.03987.x.
186. Krishnakumar, Shyam S., et al. "A Conformational Switch in Complexin Is Required for Synaptotagmin to Trigger Synaptic Fusion." *Nature Structural & Molecular Biology*, vol. 18, no. 8, July 2011, pp. 934–40, doi:10.1038/nsmb.2103.
187. Hu, Kuang, et al. "Action of Complexin on SNARE Complex." *The Journal of Biological Chemistry*, vol. 277, no. 44, Nov. 2002, pp. 41652–56, doi:10.1074/jbc.M205044200.
188. Kokhan, V. S., et al. "α-Synuclein knockout Mice Have Cognitive Impairments." *Behavioural Brain Research*, vol. 231, no. 1, 2012, pp. 226–30, doi:10.1016/j.bbr.2012.03.026
189. Micheli L, Creanza TM, Ceccarelli M, et al. Transcriptome Analysis in a Mouse Model of Premature Aging of Dentate Gyrus: Rescue of Alpha-Synuclein Deficit by Virus-Driven Expression or by Running Restores the Defective Neurogenesis. *Front Cell Dev Biol.* 2021;9:696684. Published 2021 Aug 17. doi:10.3389/fcell.2021.696684
190. Штемберг А.С. и др. Гематологические, биохимические и молекулярные эффекты облучения головы обезьян ядрами криптона высоких энергий / А. С. Штемберг, И. Н. Клоц, А. Г. Беляева [и др.] // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2020. – Т. 54, № 1. – С. 38-45. – DOI 10.21687/0233-528X-2020-54-1-38-45. – EDN RDLLGW.
191. Belov O., Belokopytova K., Kudrin V. et al. Neurochemical insights into the radiation protection of astronauts: distinction between low- and moderate-LET radiation components // *Phys. Med.* 2019. Jan. V. 57. P. 7–16. DOI: 10.1016/j.ejmp.2018.12.003.

192. Лебедева-Георгиевская К.Б., Шуртакова А.К, Кохан В.С., Базян А.С, Кудрин В.С., Перевезенцев А.А., Штемберг А.С. Влияние антиортостатического вывешивания и перегрузки на адаптацию к новой среде, двигательную активность, исследовательское поведение и обмен моноаминов в мозге мышей. // Авиакосмическая и экологическая медицина. 2018. Т. 52. № 6. С. 61-69.
193. Andolina D., Maran D., Valzania A. et al. Prefrontal/ amygdalar system determines stress coping behavior through 5-HT/GABA connection // Neuropsychopharmacol. 2013. V. 38. No 10. P. 2057–2067.
194. Albert P.R., Vahid-Ansari F., Luckhart C. Serotonin- prefrontal cortical circuitry in anxiety and depression phenotypes: pivotal role of pre- and post-synaptic 5-HT1A receptor expression // Frontiers in Behavioral Neuroscience. 2014. V. 8. No 6. P. 1–13.
195. 16. Figueira F.H. et al. Effects of diphenyl diselenide on behavioral and biochemical changes induced by amphetamine in mice // J. of Neural Transmission. 2014. V. 122. No 2. P. 201–209.
196. Влияние антиортостатического вывешивания на активность, адаптацию к новой среде, исследовательское поведение и обмен моноаминов в мозге мышей / К. Б. Лебедева-Георгиевская, М. И. Матвеева, А. С. Базян [и др.] // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2017. – Т. 51, № 1. – С. 39-45. – DOI 10.21687/0233-528X-2017-51-1-39-45. – EDN XXXXRD.
197. Нейробиологические эффекты комбинированного воздействия антиортостатического вывешивания и ионизирующих излучений различного качества / К. Б. Лебедева-Георгиевская, В. С. Кохан, А. К. Шуртакова [и др.] // Нейрохимия. – 2019. – Т. 36, № 3. – С. 254-264. – DOI 10.1134/S1027813319030105. – EDN SPDFJQ.

198. Штемберг А.С. О характере взаимодействия радиационных и нерадиационных факторов космического полета в нейробиологических эффектах при их комбинированном действии на животных в модельных экспериментах // Радиационная биология, 2025.
199. de Oliveira A.R., Reimer A.E., Reis F.M., Branda M.L. Conditioned fear response is modulated by a combined action of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and dopamine activity in the basolateral amygdala. // European neuropsychopharmacology. 2013. № 23. P. 379-389.
200. Kaenmaki M., Tammimaki A., Myohanen T., Pakarinen K., Amberg C., Karayiorgou M., Gogos J.A., Mannisto P.T. Quantitative role of COMT in dopamine clearance in the prefrontal cortex of freely moving mice. // Journal of neurochemistry. 2011. № 114. P. 1745-1755.
201. Clark K.L., Noudoost B. The role of prefrontal catecholamines in attention and working memory. // Frontiers in neural circuits. 2014. № 8. P. 33.
202. Puig M.V., Gulledge A.T. Serotonin and prefrontal cortex function: neurons, networks, and circuits. // Molecular neurobiology. 2011. № 44. P. 449-464.
203. А.С. Штемберг Роль типологических особенностей высшей нервной деятельности крыс в нейробиологических эффектах комбинированного действия антиортостатического вывешивания,  $\gamma$ -излучения, протонов и ионов углерода 12с / А. С. Штемберг, А. А. Перевезенцев, К. Б. Лебедева-Георгиевская [и др.] // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2020. – Т. 60, № 1. – С. 51-62. – DOI 10.31857/S0869803120010130. – EDN QLGORS.
204. Асимметрия в уровнях моноаминов в головном мозге мышей линии BALB/c, выращенных в условиях социальной изоляции / И. В. Карпова, В. В. Михеев, Е. Р. Бычков [и др.] // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2012. – Т. 10, № 4. – С. 42-48. – EDN QZKXTL.

205. Kuznetsova O.S. , Perevezentsev A.A. , Naplekova P.L. , Yasnetsov V.V. , Shtemberg A.S. Molecular and Neurochemical Mechanisms of CNS Response to Combined Exposure to Model Factors of Spaceflight in Rodents Neurochemical Journal. 2025. V.19. N3. P.422-430.
206. Перевезенцев А. А., Лебедева-Георгиевская К. Б., Кузнецова О. С., Кудрин В. С., Пикалов В. А., Штемберг, А. С. (2023). Нейробиологические эффекты комбинированного действия антиортостатического вывешивания, квазихронического гамма-излучения и ионов углерода у крыс. // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова, 109(3), 348–365. <https://doi.org/10.31857/S086981392303007X>
207. Айрапетянц М. Г., Хоничева Н. М., Мехедова А. Я, Ильяна Вильяр Х. Реакции на умеренные функциональные нагрузки у крыс с индивидуальными особенностями поведения. Журн. высш. нервн. деят., 1980, т. 30, № 5, с. 994.
208. Штемберг А.С. Роль индивидуальных типологических особенностей высшей нервной деятельности в формировании и радиационной устойчивости упроченных двигательно-оборонительных условных рефлексов у крыс. Изв. АН СССР, сер. Биол., 1987, N 4, C.547-557.
209. Hunt E. L., Kimeldorf, D. J. // Behavioral Arousal and Neural Activation as Radiosensitive Reactions. Radiation Research, 1964, V. 21(1), P. 91–110. <https://doi.org/10.2307/3571517>
210. Quessy F., Bittar T., Blanchette L.J., Lévesque M., Labonté B. // Stress-induced alterations of mesocortical and mesolimbic dopaminergic pathways. Sci Rep. 2021 May 26;11(1):11000. doi: 10.1038/s41598-021-90521-y. PMID: 34040100; PMCID: PMC8154906.
211. Abi-Dargham A., Moore H. // Prefrontal DA transmission at D1 receptors and the pathology of schizophrenia (англ.) / The Neuroscientist: journal. — 2003. —

October (vol. 9, no. 5). — P. 404—416. —  
<https://doi.org/10.1177/1073858403252674>. — PMID 14580124

212. Adam P. Swiercz, Mumeko C. Tsuda, Heather A. Cameron, The curious interpretation of novel object recognition tests, Trends in Neurosciences, Volume 48, Issue 4, 2025, Pages 250-256, ISSN 0166-2236, <https://doi.org/10.1016/j.tins.2025.02.003>.
213. Е. В. Бигдай, В. О. Самойлов Влияние нейротрансмиттеров на функционирование обонятельных сенсорных нейронов Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова, 2022, Т. 108, № 6, стр. 699-711 DOI: 10.31857/S0869813922060012
214. Штемберг, А. С. Воздействие факторов межпланетного полета на функции центральной нервной системы: модельные эксперименты на приматах / А. С. Штемберг, А. А. Перевезенцев, А. Г. Беляева // Интегративная физиология. – 2023. – Т. 4, № 4. – С. 401-414. – DOI 10.33910/2687-1270-2023-4-4-401-414. – EDN VMRTDV.
215. Иванов, И. В. Основные подходы к экстраполяции данных с животных на человека в радиобиологическом эксперименте / И. В. Иванов, И. Б. Ушаков // Медицинская радиология и радиационная безопасность. – 2020. – Т. 65, № 3. – С. 5-12. – DOI 10.12737/1024-6177-2020-65-3-5-12. – EDN ZKQHJE.
216. Schaie, Klaus. (1963). The Color Pyramid Test: A nonverbal technique for personality assessment. Psychological bulletin. 60. 530-47. 10.1037/h0047902.
217. Arsenault JT, Rima S, Stemmann H, Vanduffel W. Role of the primate ventral tegmental area in reinforcement and motivation. Curr Biol. 2014 Jun 16;24(12):1347-1353. doi: 10.1016/j.cub.2014.04.044. Epub 2014 May 29. PMID: 24881876; PMCID: PMC4698409.
218. Barros M, Boere V, Huston JP, Tomaz C. Measuring fear and anxiety in the marmoset (*Callithrix penicillata*) with a novel predator confrontation model:

- effects of diazepam. Behav Brain Res. 2000 Mar;108(2):205-11. doi: 10.1016/s0166-4328(99)00153-9. PMID: 10701664.
219. Федоров, В. П. Экспериментальное и математическое моделирование пограничных изменений в головном мозге при радиационных воздействиях / В. П. Федоров, И. Б. Ушаков // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2023. – Т. 63, № 1. – С. 47-59. – DOI 10.31857/S0869803122060042. – EDN IZPVMF.
220. Исследование мексидола как перспективного средства фармакологической коррекции последствий протонного облучения / О. С. Кузнецова, К. Б. Лебедева-Георгиевская, А. С. Штемберг [и др.] // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2025. – Т. 59, № 3. – С. 77-83. – DOI 10.21687/0233-528X-2025-59-3-77-83. – EDN CLDSER.
221. Климанов В.А., Галяутдинова Ж.Ж., Забелин М.В. Протонная лучевая терапия: современное состояние и перспективы. Часть II. Радиобиологические и клинические аспекты // Онкологический журнал: лучевая диагностика, лучевая терапия. 2019. Т. 2. № 1. С. 5–2
222. Васин М.В. Метаболическая коррекция церебрального радиационного синдрома у мелких и крупных животных / М. В. Васин, Л. А. Ильин, Ю. Н. Чернов, И. Б. Ушаков // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2023. – Т. 63, № 3. – С. 255-260. – DOI 10.31857/S0869803123020133. – EDN FGTYBV.
223. Лисицын А. Б., Чернуха И. М., Федулова Л. В., Макаренко А. Н. Лечебно-профилактический эффект мяса свиней, перенесших острое нарушение мозгового кровоснабжения (часть 2) // Пищевая наука и технология. – 2013. – Т. 23, № 2. – С. 26-32..
224. Космическое растениеводство как средство улучшения среды обитания космонавтов / Ю. А. Беркович, С. О. Смолянина, И. О. Коновалова, А. С.

Кривобок // Безопасность труда в промышленности. – 2019. – № 6. – С. 22-29. – DOI 10.24000/0409-2961-2019-6-22-29. – EDN CHJNTF.

225. Ушаков, И. Б. Перспективы применения специальных газовых смесей на основе ксенона для коррекции стресса смертельно опасных ситуаций / И. Б. Ушаков, А. С. Кальманов, Ю. А. Бубеев // Медико-биологические и социально-психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях. – 2023. – № 1. – С. 59-67. – DOI 10.25016/2541-7487-2023-0-1-59-67. – EDN WNONIT.
226. Кириченко, В. В. Моделирование факторов длительного космического полёта в изоляционном эксперименте Sirius-21 / В. В. Кириченко, М. С. Белаковский // Новости медико-биологических наук. – 2023. – Т. 23, № 3. – С. 55-56. – EDN GFJRVD.
227. Орлов О.И. Психологические и физиологические аспекты экспериментов с изоляцией (по материалам российских исследований) / О. И. Орлов, Д. М. Швед, В. И. Гущин [и др.] // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2023. – Т. 57, № 5. – С. 5-19. – DOI 10.21687/0233-528X-2023-57-5-5-19. – EDN MXLZHF.
228. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2023669445 Российской Федерации. Виртуальное личное пространство для психологической поддержки : № 2023667478 : заявл. 21.08.2023 : опубл. 14.09.2023 / И. А. Розанов, О. И. Карпова, О. О. Рюмин [и др.] ; заявитель Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр Российской Федерации - Институт медико-биологических проблем Российской академии наук. – EDN DNPDFC.
229. Халфина, Р. Р. Психофизиологические особенности повышения зрительной работоспособности при зрительном утомлении у пользователей ПК / Р. Р. Халфина // Приложение международного научного журнала "Вестник психофизиологии". – 2018. – № 1. – С. 81-84. – EDN XPPJSH.

230. Пучкова А.А. Общие результаты эксперимента с 21-суточной антиортостатической гипокинезией без применения средств профилактики / А. А. Пучкова, А. В. Шпаков, В. М. Баранов [и др.] // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2023. – Т. 57, № 4. – С. 31-41. – DOI 10.21687/0233-528X-2023-57-4-31-41. – EDN WBRZND.
231. Wang X, Guo W, Zhong Z, Zeng R, Zhang J, Wang L. The research of touch screen usability in civil aircraft cockpit. PLoS One. 2024 Feb 8;19(2):e0292849. doi: 10.1371/journal.pone.0292849. PMID: 38329983; PMCID: PMC10852311
232. Нейробиологические эффекты комбинированного действия четырех моделируемых факторов межпланетного космического полета с учетом типологических характеристик животных / А. А. Перевезенцев, А. С. Штемберг, О. С. Кузнецова, К. Б. Лебедева-Георгиевская // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2025. – Т. 65, № 2. – С. 177-189. – DOI 10.31857/S0869803125020051. – EDN LOZNKQ.
233. Gordeev, I. S. Computer modeling of a new type galactic cosmic rays simulator / I. S. Gordeev, A. N. Bugay // Computer Physics Communications. – 2024. – Vol. 305. – P. 109346. – DOI 10.1016/j.cpc.2024.109346. – EDN RMMDGX.
234. Ливанова Л.М., Айрапетянц М.Г., Зарецкий Д.В., Зарецкая М.В., Каленикова Е.И., Чазов Е.И. Исследование моноаминергических систем латерального гипоталамуса при остром стрессе у хронически невротизированных крыс с разными типологическими особенностями поведения. // VII Междисциплинарная конференция по биологической психиатрии «Стресс и поведение»: Региональная конф. (Москва, 26-28 фев. 2003): Матер. конф. – Москва: ЦФБИ, 2003 – С. 99-102