

ЛЕБЕДЕВА-ГЕОРГИЕВСКАЯ

Ксения Борисовна

**ИЗМЕНЕНИЕ ФУНКЦИЙ ЦНС МЕЛКИХ ЛАБОРАТОРНЫХ
ЖИВОТНЫХ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ РАДИАЦИОННЫХ И
ГРАВИТАЦИОННЫХ ФАКТОРОВ**

03.03.01 – физиология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

научный руководитель:
доктор биологических наук
Штемберг Андрей Сергеевич

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
Актуальность темы.	4
Научная новизна.....	7
Цели и задачи.....	8
Научно-практическая значимость.	8
Положения, выносимые на защиту	9
Публикации по теме диссертации	10
Апробация работы.....	11
ГЛАВА 1	13
ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	13
1.1 Факторы космического полета	13
1.1.1 Влияние ионизирующего излучения в дозах, сопоставимых с дозами, получаемыми во время дальних космических полетов, на ЦНС человека и животных.....	14
1.1.2 Влияние измененной гравитации на ЦНС.....	24
1.1.3 Нейробиологические эффекты комбинированного воздействия факторов космического полета	29
1.2 Возможные механизмы, лежащие в основе наблюдаемых изменений	32
1.2.1 Возможные механизмы влияния ионизирующего излучения и эффектов невесомости на процессы, происходящие в ЦНС.....	32
1.2.2 Нейрохимические изменения, возникающие под действием факторов космического полета	39
1.4 Заключение обзора литературы	41
ГЛАВА 2.....	43
МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	43
2.1 Экспериментальные животные	43
2.2 Циклограмма экспериментов	43
2.3 Моделирование факторов космического полета	47
2.3.1 Ионизирующие излучения	47
2.3.2 Антиоростатическое вывешивание	48
2.3.3 Моделирование эффектов перегрузки.....	49

2.3.4 Комбинированное воздействие.....	49
2.4 Методики для оценки влияния ФКП на когнитивные способности животных.....	51
2.4.1 Открытое поле	51
2.4.2 Водный лабиринт Морриса	53
2.4.3 Приподнятый крестообразный лабиринт	53
2.4.4 Тестирование в системе Intellicage	54
2.4.5 Выработка условного рефлекса пассивного и активного избегания	56
2.4.6 Обучение в Y-образном лабиринт	57
2.4.7. Дискриминантное обучение по методике Григоряна.....	58
2.4.8. Обучение в T-образном лабиринте.....	58
2.5 Анализ нейрохимических изменений в работе структур головного мозга...	59
2.6 Анализ молекулярных механизмов	61
2.7 Статистический анализ данных и математическая обработка	66
ГЛАВА 3.....	68
ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.....	68
3.1 Изменение поведения животных и нейрохимических механизмов при влиянии ионизирующего излучения разных типов	68
3.2 Изменение поведения животных и концентрации моноаминов при влиянии антиортостатического вывешивания и однократной перегрузки у мышей.	83
3.3 Изменение поведения животных и нейрохимических механизмов, при комбинированном воздействии ионизирующих излучений и АноВ	94
3.4 Исследования изменений молекулярных механизмов, лежащих в основе наблюдаемых изменений после облучения	110
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	116
ВЫВОДЫ	119
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	120
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	123

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы.

При осуществлении различных полетных миссий, в условиях как ближнего, так и дальнего космоса, человеческий организм сталкивается с рядом непривычных факторов, некоторые из которых могут оказаться угрожающими здоровью и жизни экипажа. Самыми существенными из таковых можно назвать ионизирующее излучение и измененную гравитацию. Подобные воздействия могут оказывать серьезное негативное влияние на работу центральной нервной системы (ЦНС), вызывая изменения когнитивных функций и различные поведенческие нарушения. Данные факторы, как совместно, так и по отдельности, могут повлиять на здоровье человека, работоспособность и операторскую деятельность экипажа и, как итог, на успех миссии.

Существующая до настоящего времени парадигма радиационного риска, возникающего при осуществлении орбитальных космических полетов, ставит во главу угла возможные стохастические эффекты в отдаленном периоде, вызванные ионизирующим излучением (ИИ), такие, как канцерогенез, катарактогенез, риск сердечно-сосудистых заболеваний и сокращение продолжительности жизни. Подобное представление было связано с низкими уровнями радиационной опасности при орбитальных полетах, однако, с выходом за пределы магнитосферы Земли, риски негативного воздействия ионизирующего излучения существенно увеличиваются. Это в корне меняет ситуацию при планировании межпланетных миссий, поскольку возрастает влияние на экипаж галактических космических лучей (ГКЛ) по сравнению с солнечными космическими лучами (СКЛ), опасность от которых рассматривалась как основная в первых нормативах по радиационной безопасности. В связи с различной природой данных типов излучения, использование физической защиты возможно лишь от СКЛ, тогда как в состав ГКЛ входят различные типы частиц, обладающих высокими энергиями, в том числе и тяжелые заряженные частицы (ТЗЧ), делающие защиту от ГКЛ проблематичной, по крайней мере на данный момент. Это

обуславливает необходимость пересмотра концепции радиационного риска при планировании межпланетных полетов. (Григорьев, А.И., Красавин, Е.А., Островский, 2017)

В настоящее время, в ходе планирования Марсианской миссии, вопрос о влиянии ионизирующего излучения на здоровье космонавтов становится одним из ключевых, в связи с увеличением времени воздействия данного фактора за пределами магнитосферы Земли.

В связи с отсутствием реального опыта продолжительных космических полетов за пределами околоземной орбиты для оценки возможных рисков от воздействия ионизирующего излучения необходимо применение различных методов наземного моделирования, которое возможно только на экспериментальных животных, что позволяет более эффективно оценить возможные последствия для работы нервной системы, включая оценку нейрохимических и молекулярных механизмов регуляции когнитивных функций.

Экспериментальные исследования влияния ИИ на ЦНС показали возникновение у грызунов статистически значимых структурных, функциональных и поведенческих изменений после воздействия ТЗЧ в пределах доз, сопоставимых с ожидаемыми при межпланетных полетах. Кроме того, когнитивные нарушения отмечались и у людей, подвергавшихся локальному облучению в высоких дозах (например, в виде гамма лучей и протонов при лечении онкологических заболеваний). Открытия последних лет, такие, как наличие нейрогенеза в гиппокампе зрелого мозга, описание новых регуляторных механизмов и улучшенное картирование путей в ЦНС, позволяют предполагать более глубокое влияние ионизирующих излучений на нервную систему.

Исходя из различных экспериментальных данных, следует сделать вывод, что в целом воздействие ионизирующих излучений приводит к измеримым изменениям функционального состояния ЦНС, аналогичным тем, что наблюдаются при старении, а также при некоторых видах неврологических заболеваний.

Микрогравитация - один из важнейших нерадиационных факторов космического полета, который, несмотря на длительное изучение его влияния на

организм человека, до сих пор не имеет однозначных подтверждений характера воздействия на работу ЦНС. В устных отчетах космонавтов ряда полетных миссий имеются данные о возникновении когнитивных нарушений в условиях полета, тогда как сохранение в полной мере ментальных способностей членов экипажа, эффективности работы их нервной системы, а также способности быстро принимать решения являются важнейшими факторами в условиях полета, особенно при осуществлении межпланетных миссий. На данный момент наземное моделирование невесомости технически сложно осуществимо, однако остается возможной имитация некоторых эффектов невесомости, таких, как перераспределение жидкостей в организме, гипокинезия и гиподинамия.

Кроме того, необходимо рассматривать риск развития возможных повреждений ЦНС в результате воздействия различных факторов космического полета не только по отдельности, но и в совокупности. До настоящего времени должного внимания совместному одновременному влиянию различных факторов космического полета на ЦНС не уделялось, несмотря на то, что в условиях реальных миссий экипаж всегда находится под совокупным воздействием различных факторов, которые могут как ослаблять, так и усиливать влияние друг друга. Существует лишь ряд достаточно старых работ, посвященных исследованию комбинированного действия ионизирующих излучений и некоторых нерадиационных факторов полета в основном на поведение животных (Лившиц, Н.Н., Мейзеров, Е.С., Закирова, Р.М., Тихая, 1973; Штемберг, 1992; Штемберг, 1997; Штемберг, 2004).

В связи с вышеизложенным представляется важным всестороннее изучение влияния комбинированного действия факторов космического полета на функции ЦНС в условиях модельных экспериментов, в рамках которых возможно рассмотреть воздействие каждого из факторов как по отдельности, так и в совокупности. Это приближает нас к пониманию механизмов, стоящих за возможными нарушениями в работе ЦНС человека и животных.

Использование различных экспериментальных моделей необходимо для лучшего понимания нарушений, с которыми может столкнуться человек в условиях длительного космического полета, для проведения своевременных превентивных или

компенсаторных мероприятий, которые позволят подойти к осуществлению полетов в дальний космос и колонизации отдельных планет. Работа с мелкими лабораторными животными (грызунами) позволяет в полной мере оценить изменения в работе ЦНС на различных уровнях организации - от молекулярного до интегративного.

Оптимальным подходом при моделировании комбинированного действия ионизирующих излучений и гипогравитации на грызунах является использование длительного воздействия гамма-лучей (моделирующее длительное воздействие радиационного фона в межпланетном полете) с синхронным воздействием моделируемой невесомости (антиортостатическое вывешивание) в сочетании с последующим облучением заряженными частицами, характерными для ГКЛ. Именно этот подход был использован нами в данной работе.

Научная новизна

Впервые были изучены нейробиологические эффекты как изолированного, так и синхронного комбинированного действия ионизирующих излучений и моделируемых эффектов гипогравитации, наиболее адекватно моделирующих радиационную ситуацию межпланетного полета на разных уровнях организации ЦНС: молекулярном, нейрохимическом и интегративном.

Впервые проведено исследование эффектов воздействия на функции ЦНС излучений, входящих в состав ГКЛ, в разных дозах и при различных условиях: высокоэнергетических протонов 170 МэВ на пролете и после замедлителя в пике Брэгга, а также ионов углерода ^{12}C с энергией 500 МэВ/н.

Впервые были исследованы нейробиологические эффекты комбинированного действия ионизирующих излучений и антиортостатического вывешивания (АнОВ) при различных сроках воздействий: 7, 14 и 30 суток.

Цели и задачи

Целью данной работы является выявление нейробиологических эффектов воздействия разных видов ионизирующих излучений и измененной гравитации, моделирующих факторы межпланетного полета, при изолированном и синхронном комбинированном действии на молекулярные, нейрохимические и интегративные процессы в ЦНС мелких лабораторных животных.

В соответствии с поставленной целью были сформулированы следующие задачи:

1. Изучение эффектов воздействия ионизирующих излучений (ИИ) с различными значениями линейной передачи энергии (ЛПЭ) на поведение животных и нейрохимические процессы работы головного мозга крыс.
2. Изучение эффектов воздействия измененной гравитации на когнитивные функции и нейрохимические механизмы работы головного мозга в экспериментальных моделях на мышах и крысах.
3. Исследование нейробиологических (молекулярных, нейрохимических и интегративных) эффектов синхронного комбинированного воздействия моделируемой невесомости и различных видов ионизирующих излучений при разной длительности воздействий.

Научно-практическая значимость.

Комплексного исследования нейробиологических эффектов синхронного комбинированного действия различных видов ионизирующих излучений и моделируемой гипогравитации никогда ранее не проводилось. Подобные данные совершенно необходимы для понимания проявлений и механизмов возможных нарушений функций ЦНС, оценки взаимного влияния этих факторов и их относительной опасности. Эти данные могут быть использованы для оценки эргономического риска в межпланетных полетах, связанного с возможными

нарушениями работоспособности и операторской деятельности космонавтов и разработки дифференцированных подходов их профилактики и мер защиты.

Положения, выносимые на защиту

1. Воздействие протонов с высокой энергией 170 Мэв, а также низкой энергией в пике Брэгга с более высоким значением плотности ионизации в различных поглощенных дозах в пределах от 1 до 3 Гр вызывает нарушения в процессах обучения и усиление тревожности, сопровождающиеся изменениями в моноаминергической системе мозга, значимость которых существенно возрастает при облучении в пике Брэгга. Облучение ионами углерода ^{12}C вызывает угнетение метаболизма моноаминов, наиболее выраженное в префронтальной коре и гиппокампе.

2. Воздействие антиортостатического вывешивания вызывает увеличение тревожности, наблюдаемое как в поведении, так и в небольших отклонениях в работе серотонинергической системы префронтальной коры. Наблюдаемый компенсаторный эффект, после воздействия центрифуги на влияние АНОВ говорит о разной направленности действия данных факторов.

3. При комбинированном воздействии АНОВ и ионизирующих излучений, АНОВ оказывает более выраженное влияние на функции ЦНС, чем ионизирующие излучения с изученными характеристиками. При этом нарушения в большей степени затрагивают эмоционально-мотивационную сферу, нежели когнитивные функции.

4. Эффекты воздействия ионизирующих излучений зависят в большей степени от общей поглощенной дозы, нежели от длительности облучения, в то время как характер и степень нарушений, возникающих в результате комбинированного действия АНОВ и ионизирующих излучений в значительной степени зависят от длительности воздействия. Так, наибольший эффект наблюдается при вывешивании сроком в один месяц, в то время как при воздействии продолжительностью две недели наступает адаптация к данному фактору.

Публикации по теме диссертации

По теме диссертации опубликовано 20 работ, в том числе 8 статей в журналах, рекомендованных ВАК.

Статьи в журналах, рекомендованных ВАК:

1. Штемберг А.С., Базян А.С., **Лебедева-Георгиевская К.Б.**, Матвеева М.И., Кудрин В.С., Кохан В.С. Влияние облучения протонами высокой энергии на поведение крыс и его нейрохимические механизмы. Авиакосм. и экол. медицина. 2013. Т. 47. № 6. С. 54-60
2. Штемберг А.С., **Лебедева-Георгиевская К.Б.**, Матвеева М.И., Кудрин В.С., Наркевич В.Б., Клодт П.М., Базян А.С. Влияние факторов космического полета, моделируемых в наземных условиях, на поведение, дискриминантное обучение и обмен моноаминов в различных структурах мозга крыс. Известия РАН. Серия биологическая. 2014. № 2. С. 168-175.
3. Штемберг А.С., Базян А.С., Кохан В.С., Кудрин В.С., Матвеева М.И., **Лебедева-Георгиевская К.Б.**, Тимошенко Г.Н., Молоканов А.Г., Красавин Е.А., Наркевич В.Б., Клодт П.М. Воздействие высокоэнергетических протонов в пике Брэгга на поведение крыс и обмен моноаминов в некоторых структурах мозга. Нейрохимия. 2015. Т. 32. № 1. С. 78-85.
4. **Лебедева-Георгиевская К.Б.**, Матвеева М.И., Базян А.С., Кудрин В.С., Наркевич В.Б., Перевезенцев А.А., Штемберг А.С. Влияние антиорто статического вывешивания на активность, адаптацию к новой среде, исследовательское поведение и обмен моноаминов в мозге мышей. // Авиакосмическая и экологическая медицина. 2017. Т. 51. № 1. С. 39-45.
5. Ушаков И.Б., Штемберг А.С., Красавин Е.А., Базян А.С., Кудрин В.С., **Лебедева-Георгиевская К.Б.**, Матвеева М.И. Эффекты космической радиации, комбинированного воздействия радиации и других факторов космического полета на функции центральной нервной системы в модельных экспериментах на животных. // Успехи современной биологии. 2018. Т. 138. № 4. С. 323-335.

6. **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.

7. **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. Т.36 № 3. 2019. (в печати.)

8. Kokhan V.S., **Lebedeva-Georgievskaya K.B.,** Kudrin V.A., Bazyan A.S., Maltsev A. V., Shtemberg A.S. An investigation of the single and combined effects of hypogravity and ionizing radiation on brain monoamine metabolism and rats' behavior. // Life Sciences in Space Research. 2019. V. 20 № 2. P. 12-19. (в публикации)

9. 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 антиортостатического вывешивания, гамма-облучения, облучения протонами и ионами углерода ^{12}C . // Радиационная биология. Радиоэкология. 2019. Т. 59. № 3. (принято в печать).

Апробация работы

Результаты исследований были доложены и обсуждены на российских и международных конференциях: IX Международный конгресс «Нейронаука для медицины и психологии» 2013 г. (Крым, Судак); XXII Съезд Физиологического общества им. И.П. Павлова 2013 г, (Волгоград); XIV конференция по космической биологии и авиакосмической медицине, посвященная 50-летию ГНЦ РФ Института медико-биологических проблем РАН, 2013 г. (Москва); X Международный конгрессе

«Нейронаука для медицины и психологии» 2014 г. (Крым, Судак); VII съезд по радиационным исследованиям (радиобиология, радиоэкология, радиационная безопасность), 2014 г (Москва); XI Международный конгрессе «Нейронаука для медицины и психологии» 2015 г. (Крым, Судак); XII Международный конгрессе «Нейронаука для медицины и психологии» 2016 г.(Судак); Всероссийская с международным участием междисциплинарная научная Школа в рамках подготовки к XXIII Съезду Российского Физиологического Общества им. И.П. Павлова. 2017, (Воронеж); III Всероссийская молодёжная конференция с международным участием «Нейробиология интегративных функций мозга», посвящённая 100-летию Физиологического общества им. И. П. Павлова 2017, (Санкт-Петербург).

Международная конференция «Современные направления общей и космической радиобиологии» 2017, (Дубна); XIV Международный конгресс

«Нейронаука для медицины и психологии» 2018 г.(Судак); IX Международный Аэрокосмический Конгресс IAC'18, 2018 (Москва); Международная конференция «Современные направления общей и космической радиобиологии и астробиологии, 2018 (Дубна); XVII Конференция по космической биологии и аэрокосмической медицине с международным участием, 2018 (Москва).

ГЛАВА 1

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Факторы космического полета

В условиях космического полёта факторы окружающей среды, действующие на экипаж, значительно отличаются от аналогичных факторов на Земле, адаптация к которым происходила в течение многих тысяч лет эволюции. К факторам космического полета (ФКП), оказывающим влияние на человека, относятся: ионизирующее излучение, гипогравитация, в том числе невесомость, гипергравитация (перегрузка), гипоманнитное поле, гипертермия, микроклимат жилого пространства, изоляция, вибрация и ряд других. (Kokhan et al., 2016; Nelson, et al 2016; Ушаков и др., 2011)

Результаты действия ФКП неоднозначны и могут изменяться в зависимости от продолжительности и силы самого воздействия.

В современной литературе основная масса работ посвящена влиянию одного конкретного ФКП в условиях модельного эксперимента, хотя в случае реального полета происходит совместное влияние комбинации из множества ФКП.

На данный момент эффекты совместного влияния двух или более различных факторов изучены мало, таким образом невозможно сделать однозначный вывод о возможном взаимном действии нескольких ФКП.

Важнейшими ФКП, которые в итоге могут стать лимитирующими, можно назвать ионизирующие излучения и невесомость. (Ушаков, Штемберг, 2007) Особенно актуальным становится этот вопрос в последнее время, в связи с подготовкой Марсианской миссии. В условиях межпланетных перелетов происходит выход за пределы магнитосферы Земли, следовательно, можно говорить о смене парадигмы исследований, посвященных оценке радиационного риска, на новую, принципиально отличающуюся от принятой для орбитальных полетов. Если для прежней ключевой являлась оценка отдаленных стохастических последствий с определением риска смертности от канцерогенеза, а также дополнительного риска,

связанного от болезнями системы кровообращения и увеличением частоты сердечно-сосудистых заболеваний и недостаточностью мозгового кровообращения, при исследованиях применительно к межпланетным полетам важна оценка непосредственного риска острых функциональных нарушений в ЦНС и, соответственно, операторской деятельности космонавтов. (Сапецкий и др. 2017; Ушаков и др., 2011).

1.1.1 Влияние ионизирующего излучения в дозах, сопоставимых с дозами, получаемыми во время дальних космических полетов, на ЦНС человека и животных

Основные сведения о когнитивных нарушениях у людей, вызванных ионизирующим излучением, были получены в ходе обследований пострадавших в результате ядерных катастроф а также пациентов, получавших радиотерапию в ходе лечения онкологических заболеваний (Costa, 2010; Yamada et al., 2009).

Радиочувствительность клетки не постоянна и зависит от фазы клеточного цикла. Так, в конце S-фазы клетка наиболее радиорезистентна, а в фазе G2/M становится наиболее радиочувствительной. Исходя из правила Бергонье-Трибондо, радиочувствительность тканей и клеток прямо пропорциональна их пролиферативной активности и обратно пропорциональна их степени дифференциации. Таким образом, наиболее чувствительными к ИИ оказываются эритробласты, эпидермальные стволовые клетки и стволовые клетки желудочно-кишечного тракта, а наименее радиочувствительными - нервные и мышечные клетки (Ярмоненко, 2004)

Общее влияние ионизирующего излучения на организм человека заключается в нарушениях гемипоеза, усилении процессов катаракто- и канцерогенеза. (Bohm et al 2010)

Негативное влияние ионизирующего излучения на нервную систему может проявляться остро, непосредственно после воздействия, или спустя некоторое время. Непосредственная реакция ЦНС на облучение в малых дозах сводится, главным

образом, к усилению генерализованного возбуждения и заметному ослаблению внутреннего торможения, что в первую очередь становится заметным на электроэнцефалограмме (ЭЭГ) (Ушаков, Штемберг, 2007)

Так, к примеру, тотальное рентгеновское облучение в дозах 5-10 сГр вызывало усиление колебаний биопотенциалов и повышение возбудимости и реактивности коры на следующие сутки, а в дозе 25 сГр - практически сразу после облучения (Королькова, 1959). Исходный фон ЭЭГ восстанавливался лишь спустя несколько дней. Кроме того, непосредственно после облучения наблюдаются следующие эффекты: изменение когнитивных функций, снижение двигательной функции, поведенческие изменения.

Стоит отметить сложность однозначной интерпретации и раннего выявления влияния воздействия малых доз ИИ на ЦНС человека в связи с отсутствием общих стандартов для определения степени незначительных когнитивных нарушений. Таким образом, нередко дегенеративные состояния в ЦНС обнаруживаются только после достижения клинически значимых порогов (Anger, 2003).

У многих пациентов, проходящих высокодозное облучение при лечении опухолей, наблюдаются такие симптомы, как хроническая усталость и депрессия. Нейрокогнитивные дисфункции также наблюдаются и при облучении более низкими дозами, особенно у детей (Schultheiss et al, 1995), что выражается в снижении интеллектуальных способностей, понижении коэффициента интеллекта (IQ), нарушениях в чтении, правописании, математике и дефиците внимания. Исследования проводили после лечения опухоли головного мозга (Butler, Haser, 2006; Zeltzer et al., 2009).

Анализ когнитивных способностей людей спустя длительное время (более года) после облучения показывает возможные отдаленные эффекты ионизирующего излучения, такие, как падение скорости обработки информации, ухудшение памяти, внимания и обучения. При этом подобные симптомы отсутствовали непосредственно во время проведения лучевой терапии, а при использовании только химиотерапии для лечения опухолей не проявлялись вовсе. (Goldberg и др., 1982; Keime-Guibert и др., 1998).

У жертв атомных бомб и аварии на Чернобыльской АЭС, получивших низкие и умеренные дозы радиации (≤ 2 Гр), также наблюдаются ухудшения памяти и нарушения когнитивных функций. Кроме того, подтверждено развитие психиатрических расстройств, а также изменения частотно-спектральных характеристик в ЭЭГ (Bromet et al., 2011; Hall et al., 2004; Loganovsky, 2001; Yamada et al., 2002; Yamada et al., 2009). Однако достоверность этих исследований ограничена неопределенностью индивидуально поглощенной дозы.

Долговременные исследования выживших после взрыва атомной бомбы, (Yamada et al., 2009) не обнаружили повышенного риска деменции, но эта работа отличалась небольшой выборкой (2286) при разделении данных в зависимости от дозы от 5 мГр, до 500 мГр, включая неоднозначные значения. Эти исследования характеризовались коротким периодом наблюдения (4 года), а также трудностью в классификациях деменции.

У детей, подвергшихся внутриутробному облучению в умеренных дозах (< 2 Гр) после взрыва атомной бомбы в Японии, наблюдалась умственная отсталость, при поражении в срок строго от 8 до 15 недель после зачатия (Beier, 1990; Otake, Schull 1998)

Экстраполяция результатов, описанных выше, на возможные эффекты облучения, полученного в ходе дальних и ближних космических миссий, невозможна из-за несоответствия эквивалентных доз и природы источников ионизирующего излучения. На данный момент однозначное негативное влияние ионизирующего излучения на космонавтов во время и после полета не установлено, поскольку при осуществлении миссий на околоземной орбите радиационные риски существенно ниже по сравнению с возможными рисками при осуществлении межпланетных перелетов. (Сапецкий, и др 2017; Ушаков и др., 2011)

НАСА также отмечает, что негативное влияния ионизирующего излучения на ЦНС космонавтов, участвовавших в прошлых миссиях, маловероятно, поскольку их продолжительность была относительно невелика, выборка экипажа малочисленна, а экспедиции не выходили за пределы магнитосферы Земли. (Nelson et al., 2016) Однако в ряде работ у космонавтов все же отмечаются некоторые когнитивные дисфункции,

сходные с острым воздействием ионизирующего излучения, такие как нарушения кратковременной памяти, осложнения пространственной ориентации, изменение циркадных ритмов, усталость и нейропсихологические изменения (Mcphree, Charles, 2009; Strangman et al., 2014).

Первое предположение о возможном негативном влиянии космической радиации на ЦНС было сделано Корнелиусом Тобиасом в 1952 при описании световых вспышек на сетчатке, вызванных прохождением одной ТЗЧ (Tobias et al., 1952). Аналогичные явления наблюдались астронавтами во время миссий Аполлон (Pinsky et al., 1974), а также космонавтами, работавшими на Международной Космической Станции (МКС) (Narici, 2008).

Последние обзоры, посвященные влиянию космической радиации, моделируемой на ускорителях частиц, свидетельствуют о значительных нарушениях в поведении, нейрохимических процессах, возникновении воспалительных и электрофизиологических изменений в ЦНС (Nelson 2009; (Cucinotta et al., 2014).

Структура ионизирующего излучения в космическом пространстве неоднородна, наиболее значимыми его элементами можно назвать галактические космические лучи (ГКЛ) и солнечные космические лучи (СКЛ), по предварительным данным оба типа излучения оказывают негативное влияние на ЦНС. (Ушаков, Штемберг, 2007)

В состав ГКЛ входят протоны, ядра гелия и ядра тяжелых заряженных частиц (ТЗЧ) с широким спектром энергии, в диапазоне от 10 МэВ/н до 10000 МэВ/н, с медианной энергией около 1 ГэВ/н.(Bohm et al., 2010; Kokhan et al., 2016). Наибольшие опасения для здоровья экипажа вызывает воздействие ядер ТЗЧ на ЦНС, так как они обладают высокой энергией, высокой плотностью ионизации и способны повреждать ткани и клетки. Кроме того, в процессе прохождения ТЗЧ через ткань возникает дополнительный поток вторичных ядер, нейтронов и др. частиц. (Todd, 1986; Todd, 1989). Пребывая в космосе в течение года, человек получает от ГКЛ дозу, эквивалентную дозе в 0.2 Гр и 0.6 Зв, и более (Cucinotta et al., 2014; Cucinotta, 2015), а высокие энергии ГКЛ позволяют им проникать на глубину до 100 см сквозь любой

материал, что делает затруднительным создание физических радиационных барьеров для защиты экипажа.

Учитывая особенности воздействия ТЗЧ на индуцирование онкологических процессов, при длительном нахождении в космическом пространстве можно предположить возрастание рисков возникновения лейкемии, рака молочной железы, щитовидной железы, толстого кишечника и легких. Однако на данный момент реальные риски космической радиации для канцерогенеза не определены в связи с тем, что имеются значительные неопределенности в расчетах эквивалентных доз в различных органах и тканях космонавтов и астронавтов от ГКЛ, из-за частичной неопределенности моделей ГКЛ для различных периодов солнечной активности, сложного характера защищенности разных тканей при рассмотрении реальной массивной конструкции космических кораблей при полете к Марсу и самоэкранировки этих тканей другими тканями. Имеются также различия в глубинных распределениях доз за защитой из различных материалов с учетом вклада в дозу вторичных излучений. (Шафиркин и др., 2004; Шафиркин, Григорьев 2009)

Решение данной проблемы возможно будет более успешным при улучшении понимания основных биологических механизмов канцерогенеза, индуцированного ионизирующим излучением, особенно в результате воздействия ионов ТЗЧ как частицы ГКЛ. (Cucinotta и др., 2006)

Энергия СКЛ, хотя и существенная, но не исключает создания физической радиационной защиты для снижения воздействия на ЦНС (Ушаков и др., 2011); тем не менее, все равно существует возможность поглощения организмом доз более 0.5 Гр за счет СКЛ, если экипаж находится за пределами корабля или его экранирование недостаточно. (Kim et al., 2007; Parsons, Townsend, 2000).

Предположительные оценки облучения для участников Марсианской миссии варьируются от 0.25 Зв до 0.5 Зв от ГКЛ, в случае экранирования СКЛ с потенциальным дополнительным воздействием порядка 0.15-0.5 Зв. (Mcphree, Charles, 2009; Шафиркин и др., 2004; Шафиркин, Григорьев 2009).

К примеру, в случае полета к Марсу продолжительностью от 550 до 900 суток, в зависимости от характеристик двигателя корабля, суммарный риск для жизни

космонавтов может составить около 15%, а возможное сокращение средней продолжительности последующей жизни – 4.5 года. При уточнении значений исходных параметров оценки, значения суммарного риска и сокращение средней продолжительности последующей жизни могут увеличиться в 3–5 раз, что может поставить под вопрос осуществления миссии в целом. (Ушаков и др., 2011)

Приблизительные вклады относительно дозы общего воздействия на органы от ГКЛ приходятся на следующие частицы: протоны (50-60% дозы), альфа-частицы (10-20%), частицы с высокими значениями ЛПЭ $3 < Z < 9$, (5-10%), и частицы с $Z > 10$, (5-10%), а также вторичное излучение, включающее нейтроны, пионы, и мюоны, вклад которых может доходить до 10% от общей дозы. Исходя из этого, за время 3-летней экспедиции на Марс при максимуме солнечной активности (предполагаемый спектр ГКЛ 1972г.) 20 млн из 43 млн клеток гиппокампа и 230 тысяч из 1.3 миллиона клеток ядер таламуса будут непосредственно поражены одной или несколькими частицами с зарядом ядра $Z > 15$ (Curtis et al., 1998; Curtis et al., 2000).

Однако эти числа не учитывают дополнительный поток нейтронов, образующихся в процессе распада ТЗЧ (Cucinotta et al., 1998), а также совместное повреждение клеток разными типами излучения (Cucinotta et al., 1999). По оценкам ряда исследователей, внутри космического аппарата при экранировании в 10 г/см^2 или более большая часть дозы будет приходиться на протоны и ядра гелия (Norbury и др., 2014).

Использование поведенческих тестов для оценки влияния ионизирующего излучения неоднозначно, так как их результаты существенно зависят от вида животных, возраста, пола и метода количественной оценки (Buckner и др., 2001), также они не могут быть однозначно экстраполированы на человека. Однако их применение крайне важно для оценки системного влияния ионизирующего излучения на физиологические механизмы работы ЦНС и организм в целом.

При облучении самок мышей линии C57BL/6 γ -излучением в дозах 2, 5 и 8 Гр, наблюдаются комплексные дозозависимые изменения когнитивных функций а также общие нарушения в работе гиппокампа. При этом работа кратковременной памяти нарушается при воздействии низких доз, а работа долговременной памяти страдает

при облучении высокими дозами, в то время как кратковременная память остается интактной. (Kumar et al., 2013; Rabin et al., 2004; Shukitt-Hale et al., 2004)

Учитывая, что протоны составляют значительную часть спектра излучения, важно изучить их влияние на функционирование нервной системы. Здесь данные разнятся; так, к примеру, при облучении в дозах 3 и 4 Гр происходит преходящее угнетение двигательной активности и исследовательского поведения в тесте «открытое поле» (Pescat et al., 2001), при этом другие работы (Casadesus et al., 2004; Shukitt-Hale et al., 2004) показали, что никакого отставленного во времени влияния облучение протонами не дает.

Стоит отметить, что локальное облучение головы вызывало значительные нарушения только при значениях дозы в 1 сГр, в то время как при облучении всего организма нарушения наблюдались при более низких дозах. Авторы неоднократно отмечали тот факт, что облучение всего организма вызывало большие нарушения в работе ЦНС по сравнению с локальным облучением головы в эквивалентных значениях доз (Rabin et al., 2014; Rabin et al., 2011).

Комбинированное воздействие гамма-лучей и протонов вызывает стойкий оксидантный стресс у грызунов в клетках гиппокампа, а также в клеточной культуре нервных стволовых клеток человека. (Tseng et al., 2013)

Описанные в литературе эффекты влияния ТЗЧ неоднозначны по сравнению с другими типами радиации даже при эквивалентных дозах. В одном из первых исследований влияния на поведение общего облучения организма в дозе 1,5 Гр ядрами ТЗЧ (ионы ^{56}Fe с энергией 1 ГэВ/н при этом оценка происходила спустя 1 месяц после воздействия) было продемонстрировано возникновение когнитивных нарушений при обучении в лабиринте Морриса, аналогичное изменениям, наблюдаемым у пожилых крыс. (В Shukitt-Hale et al, 2004). В этой же лаборатории описывали увеличение числа ошибок и нарушений в принятии решений при обучении в радиальном лабиринте у облученных животных в дозе до 1,5 Гр (ионы ^{56}Fe 1 ГэВ/н) по сравнению с контрольными (Denisova et al., 2002). Аналогичные нарушения в результате воздействия ТЗЧ также были описаны Рабером и рядом других авторов даже на более низких дозах (Raber et al., 2004; Villasana, Benice, Raber, 2011).

К примеру, облучение крыс и мышей ионами ^{56}Fe с энергией 1 ГэВ в интервале значений поглощённых доз 0.1-2.0 Гр приводит к нарушениям обучения в батарее тестов, направленных на оценку пространственной (Cherry et al., 2012; Haley et al., 2013) и рабочей памяти (Lonart et al., 2012). Данные результаты находят своё подтверждение в ходе облучения крыс другими ТЗЧ - ионами ^{28}Si 1 ГэВ/н в дозе 1 Гр и ионами ^{48}Ti 1.1 ГэВ/н дозами 0.5 и 1 Гр, что сопровождалось отдалёнными когнитивными нарушениями спустя 3-12 месяцев после облучения (Rabin и др., 2011). Облучение мышей ионами ^{12}C с энергией 284.7 МэВ (ЛПЭ=25.6 кэВ/мкм) в дозе 4Гр приводило к существенному увеличению латентного периода - времени поиска платформы в водном лабиринте Морриса, что свидетельствует о нарушении пространственной памяти и ориентации (Xie et al., 2014).

В работах лаборатории Бриттена наблюдали изменения в решении нейрокогнитивных задач у самцов крыс линии Wistar после облучения ТЗЧ в дозе 20 сГр (ионы ^{56}Fe 1 ГэВ/н) и показали выполнение всех стадий батареи тестов у 17% среди облученных животных по сравнению с 78% у контрольных животных. Основная причина незавершения теста была связана с нарушением внимания, при том облученные крысы, которым удавалось выполнить поставленные задачи, делали это примерно с той же легкостью, что и контрольные крысы. (Lonart et al., 2012)

По сравнению с контролем, у крыс, получивших 20, 40 и 60 сГр (ионы ^{56}Fe 1 ГэВ/н), наблюдались значительные нарушения в локомоторной активности в лабиринте Барнс, не связанные с мотивацией, что проявлялось в постепенном увеличении времени задержки побежки в течение 3 дней тестирования. При облучении рентгеновскими лучами нарушения пространственной памяти не проявлялись вплоть до значений в 10 Гр и более. (Britten et al., 2012) .

В других работах, напротив, после воздействия ТЗЧ не было выявлено существенных нарушений когнитивных функций или наблюдаемый эффект был разнонаправлен. Так, не проявились изменения гиппокамп-зависимого обучения после облучения ионами ^{56}Fe 1 ГэВ/н в дозах 0.1 и 1 Гр (Cherry et al., 2012) и ионами ^{56}Fe 0.6 ГэВ/н в дозах 0.1-0.5 Гр (Pecaut et al., 2004).

Долгосрочный эффект влияния ТЗЧ также существенен. Двухмесячные крысы подвергались воздействию ионов ^{56}Fe 1 ГэВ/н в дозах 1, 1.5, и 2 Гр. После облучения животные были испытаны в тестах на пространственное обучение с пищевым подкреплением. Спустя 7, 11 и 15 месяцев после облучения все животные из экспериментальных групп показали значительно худшие результаты, по сравнению с контролем. (Rabin et al., 2005) Хотя предыдущие исследования показывали ухудшения спустя три месяца только для крыс, подвергнутых облучению в дозе 2Гр. (Rabin et al., 2002).

Еще одним немаловажным фактором для определения степени влияния ионизирующего излучения на когнитивные функции следует назвать возраст на момент оценки. Так, животные, облученные в зрелом возрасте, показывают более значимые нарушения в поведении по сравнению с молодыми сородичами. (Rabin et al., 2012) Этот факт особенно актуален, учитывая, что обычный возраст космонавтов - средний или выше среднего.

Таким образом, можно предположить, что нейрокогнитивный дефицит, вызываемый ТЗЧ в дозах, эквивалентных, получаемыми космонавтами при выполнении Марсианской миссии (<1 Гр), зависит от физических характеристик частиц, пола, возраста при воздействии и времени оценки после облучения.

В связи с большими различиями в анатомических и биохимических особенностях головного мозга человека и грызунов, использование в качестве модельных животных приматов является более репрезентативным (Herculano-Houzel, 2012; Weatherall, 2006). В настоящее время было проведено исследование на приматах – макаках-резус - с протонами 170 МэВ/н и ионами ^{12}C 500 МэВ/н. На основании результатов, полученных в этих работах, можно сделать вывод, что воздействие тяжелых ионов вызывает когнитивные нарушения, усиливающиеся со временем. Кроме того, происходят существенные изменения в обмене моноаминов в мозге и в сыворотке крови. (Беляева и др., 2017)

Данная область исследований не насчитывает значительного количества работ, однако работа с приматами считается многообещающей в связи с наибольшими возможностями к экстраполяции полученных данных на физиологию человека.

На сегодняшний день исследования сообщают о разнообразных поведенческих, патологических и физиологических изменениях у облученных животных в зависимости от характеристик излучения. Эксперименты были проведены разными группами исследователей с использованием различных характеристик ИИ, что делает их сложносопоставимыми, дополнительно осложняя экстраполяцию на человека. Хотя эти исследования не дают четкого представления ни о краткосрочных, ни о долгосрочных последствиях для ЦНС, можно однозначно утверждать о наличии существенного радиационного риска для когнитивных функций в условиях космического полета за пределами околоземной орбиты.

Относительно новой многообещающей тенденцией можно назвать использование математического моделирования для оценки рисков влияния ИИ на ЦНС в случае штатных и нештатных ситуаций.

Длительное облучение протонами (1 Гр) приводит к гиперполяризации потенциала покоящейся мембраны и снижению входного сопротивления в пирамидальных клетках зоны CA1 гиппокампа; данные были получены методом patch-clamp, эффекты наблюдались даже спустя 3 месяца. Эти небольшие, но значительные изменения внутренних свойств уменьшили возбудимость пирамидальных нейронов региона CA1. Эти же данные были подтверждены на основе математической модели нейронной сети гиппокампа грызунов с более чем 106 нейронами, точно имитирующей морфологию связей и электрофизиологические свойства. При подобном моделировании было предсказано возникновение радиационно-индуцированных различий в покоящейся мембране (Sokolova et al., 2015). Таким образом, использование компьютерного и математического моделирования позволяет оценить эффекты облучения для ЦНС а также разработать возможные методики радиопротекторных действий, и предположить эффективность их работы.

Накопленные данные говорят о том, что не у всех людей, подвергшихся облучению головного мозга, развивается когнитивная дисфункция; данный феномен может быть связан с наличием генетической предрасположенности. На сегодняшний день этому есть ряд доказательств. Трансгенные мыши с измененными изоформами

аполипротеина E (apoE) человека (аллели epsilon2, epsilon3 и epsilon4, где epsilon2 обеспечивает относительную защиту, по сравнению с epsilon3, epsilon4, повышающих риск когнитивных нарушений после различных воздействий), показали, что облучение черепа ^{137}Cs (10 Гр) приводит к гиппокампальным когнитивным нарушениям, зависящим от пола и изоформы гена аполипротеина E, а именно - возникали нарушения после облучения (ионы ^{56}Fe 3Гр,) в тестах на пространственную память у apoE3 модифицированных самок (Villasana et al., 2008). Облучение ТЗЧ ионами ^{56}Fe (600 МэВ/н; 1, 2, 4 Гр) трансгенных самцов мышей с чрезмерной экспрессией человеческого амилоидного белка-предшественника (APP) показывает, что излучение ускоряет наступление возрастных изменений электрофизиологических потенциалов, характерных для процессов старения. (Vlkolinsky et al., 2010) При изучении трансгенных мышей APP/PS1 было продемонстрировано, что через 6 месяцев после облучения (10 и 100 сГр ионы ^{56}Fe , 1 ГэВ/н) снижаются когнитивные способности в тестах контекстного страха и распознавания новых объектов. (Cherry et al., 2012)

Еще одним интересным фактом можно назвать наличие естественной радиорезистентности к облучению у некоторого процента животных. Таким образом, можно предположить наличие подобных свойств и в человеческой популяции, что может оказаться дополнительным фактором отбора космонавтов (Britten et al., 2014; Davis et al., 2014).

1.1.2 Влияние измененной гравитации на ЦНС

Гипогравитация действует в межпланетном пространстве или на планетах с ускорением свободного падения менее земного. Невесомость является частным случаем гипогравитации и обозначается как 0G или Zero-G. В свете идей, связанных с колонизацией Марса, вопрос о воздействии низкой гравитации встает особенно остро, так как на Марсе космонавты будут длительно пребывать в гипогравитационной среде – 0.38G (Horneck et al., 2003).

Изучение влияния невесомости на живой организм началось с самого начала освоения космоса. Достаточно скоро стало ясно негативное воздействие низкой гравитации, в первую очередь на гравитационно-зависимые системы, которыми являются опорно-двигательная, мышечная, и сердечно-сосудистая системы. Исследования в условиях длительного космического полета показывают значительное уменьшение массы и снижение прочности костей а также уменьшение содержания минералов в костной ткани. Кроме того, аналогичные данные были получены и в модельных экспериментах при вынужденном длительном лежачем положении.(Endo и др., 2012).

Космонавты, возвратившиеся после длительных космических миссий, находятся в состоянии локомоторной дисфункции. Так, после 185-дневного полета восемнадцать членов экипажа Международной космической станции выполняли испытания на функциональную мобильность. Данный тест заключался в прохождении полосы препятствий (6 тестов в общей сложности) в выбранном ими темпе, критерием оценки была скорость выполнения задачи. Аналогичный тест проводили и до полета. Результаты показывают, что восстановление до уровня 95% относительно первоначального происходит в среднем за 15 дней. (Mulavara et al., 2010)

Достаточно интересно посмотреть физиологические реакции различных видов животных при влиянии на них реальной и моделируемой невесомости. Эти эксперименты показывают возникновение у животных реакций дезориентации после воздействия микрогравитации в космических экспериментах и в результате моделирования с помощью параболических полетов самолетов. Дезориентированные позы в значительной степени зависят от вида. Рефлексивно пониженный тонус мышц-разгибателей после гравитационных изменений не наблюдается у млекопитающих (хомяка и обезьяны) и у лягушки. Изменение вестибулоокулярного рефлекса наблюдается у кошки, однако у ряда других животных (мышь, обезьяна и черепаха) возникает компенсаторный механизм за счет зрительной системы. При исследовании животных, способных к трехмерному передвижению - птиц и рыб - в условиях моделирования невесомости при воздействии параболических полетов происходит

нерегулярное падение животного с открытыми глазами и регулярное вращение с закрытыми глазами. Таким образом, воздействие моделируемой в параболических полетах микрогравитации значительно отличается от реального действия невесомости, поскольку в данной модели происходит воссоздание чередующихся эффектов низкой и высокой гравитации, что не совсем соответствует реальным условиям космических полетов. В настоящее время этот метод используют лишь для тренировки космонавтов.

Наземное моделирование условий низкой гравитации достаточно проблематично, однако исследователи применяют несколько методик, которые имитируют физиологические эффекты невесомости, такие как: перераспределение жидкостей в пределах тела, гипокинезия, снижение весовой нагрузки, приложенной к опорно-двигательному аппарату, функциональные изменения в кардиореспираторной системе (Pietsch et al., 2011).

Одним из таких методов является антиортостатическое вывешивание, которое обычно используется при работе с мелкими лабораторными животными - крысами и мышами.

Данный метод заключается в длительном, от одной недели до месяца, подвешивании животного за основание хвоста и крепление с помощью специальных карабинов к перекладине в клетке. В итоге достигается физиологический эффект невесомости, который заключается в перераспределении жидкости и гиподинамии задних конечностей животного, а также снятии статической нагрузки с задних конечностей. Грызуны во время всего эксперимента находятся при свободном доступе к питью и еде.

Однако стоит отметить, что существует аналогичный тест, заключающийся в подвешивании животных за основание хвоста, но при его использовании животные располагаются под другим углом и не так длительно. Эта методика используется уже более двадцати лет и является общепринятой методикой для создания индуцированного стресса. (Cryan et al., 2005) Таким образом, следует четко различать и проводить ряд дополнительных исследований для оценки вклада в наблюдаемые эффекты истинно физиологических эффектов невесомости и ответа

патофизиологического стресса. В подтверждение этого говорит тот факт, что анализ работы системы моноаминов префронтальной коры головного мозга показывает активизацию серотонинергической системы головного мозга, причем схожие процессы в работе головного мозга наблюдаются при стрессовом состоянии у животных. (Mahar et al., 2014)

При работе с приматами и человеком данный метод неприменим, однако в качестве моделирования физиологических эффектов невесомости используют метод антиортостатической гипокинезии АНОГ. Специально для человека была разработана иммерсионная модель, которая позже была адаптирована для приматов. Данный метод заключается в погружении тела на специальной ткани в воду или другие среды. (Clément et al., 2016) Метод сухой иммерсии очень хорошо себя зарекомендовал, более того, многие космонавты говорят о схожести ощущений, получаемых в результате нахождения в иммерсионной ванне и при реальной невесомости во время космических миссий. До разработки описанной выше методики для моделирования эффектов невесомости использовали параболические полеты на самолетах, описанные выше.

К данным, полученным в ходе наземного моделирования измененной гравитации, следует относиться с осторожностью так как данные методики лишь имитируют эффекты влияния невесомости. Оптимальным вариантом для исследований реальных эффектов низкой гравитации остаются орбитальные полёты спутников с экспериментальными животными на борту а также результаты обследований членов экипажа международной космической станции.

Из устных отчетов космонавтов после завершения миссий становится ясно негативное влияние данного фактора и на когнитивные функции; так, нередко космонавты отмечают значительное снижение внимания и других процессов, связанных с быстротой работы головного мозга, хотя сама функциональность и не страдает (Strangman et al., 2014). Также было отмечено, что пребывание человека в невесомости приводит к нарушению ориентирования в пространстве и снижению производительности в тестах на абстрактное мышление (Grabherr, Mast, 2010; Strangman et al., 2014).

С некоторых позиций может показаться, что негативные последствия данного воздействия незначительны, однако в условиях космического полета становится ясно, что фактор эффективной работы экипажа может стать лимитирующим, поскольку именно от точной, быстрой и слаженной работы зависит успех экспедиции.

Кроме того, возникает вопрос о том, действительно ли такую когнитивную реакцию вызывает невесомость и связанные с ней физиологические изменения, или же эффект заключается во влиянии комбинации различных факторов космического полета.

Перегрузкой называют процессы, происходящие при воздействии увеличенной гравитации, что означает с точки зрения физики увеличение ускорения свободного падения.

Гипергравитация возникает при старте, разгоне и торможении космического аппарата. Так, при запуске Шаттлов экипаж корабля испытывал перегрузки в 3G, при приземлении космического аппарата Союз ТМА-М – до 4G.

В наземных экспериментах гипергравитационные перегрузки создаются с помощью центрифуги за счёт действия центробежных сил.

Не вызывает сомнений, что когнитивные, двигательные и вегетативные функции организма зависят от способности ЦНС интегрировать информацию о состоянии гравитации, (Hubbard, 1995) как одном из важнейших условий окружающей среды.

Было показано нарушение пространственного обучения крыс вследствие воздействия гипергравитации в 2g в течение 14 дней (Mitani et al., 2004). В то же время, воздействие гипергравитации в 3g в течение 15 мин вызывало немедленное увеличение содержания кортизола, АКТГ, пролактина, адреналина и норадреналина в сыворотке крови, что является типичной картиной ответа на острый стресс (Schneider et al., 2008).

Для оценки нарушений, вызванных перегрузками, в задаче пространственного обучения мыши подвергались воздействию центрифуги. Вращением достигалось ускорение величиной в 2G, одна из экспериментальных групп вращалась однократно, другая пятикратно. Хотя после однократного воздействия значимых отличий

обнаружено не было, пятикратное воздействие значительно повлияло на способность мышечной к пространственному обучению. (Mandillo et al., 2003)

Исследования на людях также показывают ухудшения когнитивных функций после воздействия гипергравитации. Однако многочисленные тренировки с перегрузками позволяют космонавтам скомпенсировать негативные влияния на когнитивные способности. (Dalecki et al., 2010)

1.1.3 Нейробиологические эффекты комбинированного воздействия факторов космического полета

Вопрос о совместном влиянии комбинированного воздействия факторов полета на работу организма в целом и на ЦНС в частности ранее уже поднимался, однако современных исследований на эту тему практически нет.

Во всех исследованиях более раннего периода отмечено, что жесткая двигательная депривация действует как стресс, при этом имеющиеся сведения о воздействии гиподинамии и радиации, говорят о том, что оба этих ФКП могут однонаправленно сдвигать баланс нервных процессов в сторону возбуждения. (Ушаков, Штемберг, 2007) (Лившиц и др., 1973).

При исследовании комбинированного действия длительной гипокинезии и гамма-излучения в трех нелетальных дозах (3,5; 5 и 8,5 Гр) на процесс формирования условного рефлекса активного избегания (УРАИ) было показано, что облучение во всех использованных дозах замедляет выработку УРАИ в прямой зависимости от дозы. (Штемберг, 1992). При сравнении эффектов комбинированного действия разных форм двигательной депривации (модели антиортостатической гиподинамии - АНОГ и гипокинезии) совместно с гамма-облучением в дозе 3 Гр на выработку двигательного-питьевого дифференцированного УР у крыс было показано, что обе использованные модели двигательной депривации приводят к замедлению формирования базового ситуационного УР и выработки дифференцированного торможения; облучение усугубляет эти нарушения (Штемберг, 1997)

В настоящее время однозначного мнения о совместном или антагонистичном эффекте комбинированного воздействия космической радиации с другими факторами космического полета на различные функциональные изменения в ЦНС не существует. (Nelson et al., 2016)

Изучению воздействия моделируемой невесомости и излучения на ЦНС посвящено небольшое количество работ. Исходя из данных одной из последних работ в этом направлении, наблюдается разнонаправленный эффект влияния вышеупомянутых ФКП на содержание белков, связанных с апоптозом. Однако они же сообщают об аддитивном эффекте ИИ и модели невесомости, так как ряд наблюдаемых неблагоприятных последствий комбинированного воздействия, не вернулся к норме даже спустя 9 месяцев после моделирования космического полета. (Mao et al., 2016)

Данные, свидетельствующие о совместном влиянии ФКП (микрогравитации и ИИ), существенно разнятся. Так, к примеру, на появление реакции стресса и мутации данные факторы влияют антагонистично (показано на примере Золотой рыбки в условиях реального полета (Manti, 2006)). Воздействия ФКП на выживание, мутации и экспрессию генов у бактерий синергично в условиях космического полета и антагонистично в условиях модельного эксперимента. (Manti, 2006).

Хотя во многих исследованиях сообщалось о повышенной чувствительности к излучению и уменьшении репарации ДНК в условиях моделируемой микрогравитации, большинство экспериментов, проведенных в космосе, не показали влияния космического полета на способность клеток восстанавливать искусственно индуцированное повреждение ДНК.

В некоторых случаях исследования, в которых рассматривались одни и те же условия воздействия, приводили к противоположным выводам. Возможно, это связано с тем, что наземные аналоги для моделирования микрогравитации воспроизводят лишь некоторые - но не все - биологические эффекты, наблюдаемые в реальной космической среде. (Moreno-Villanueva et al., 2017) Кроме того, наблюдается синергичный эффект разных типов излучения, таким образом, после последовательного облучения протонами и ионами железа эпителиальные клетки

человека демонстрировали пик совместных эффектов в индукции хромосомных aberrаций, когда временной интервал между двумя облучениями составлял 30 мин. (Hada et al., 2007) Однако другое исследование не показало синергизма между экспозициями протонов и ионов железа независимо от последовательности экспозиции. Таким образом, можно предполагать различные эффекты комбинированного воздействия ФКП, так разные факторы могут ослаблять или усиливать влияние друг друга, действуя антагонистично или синергично.

Работа с культурой клеток остеокластов при комбинированном воздействии моделируемой невесомости совместно с различными дозами ионизирующего излучения (гамма, 0.1-1.0 Гр) показывает, что на экспрессию генов, связанных с формированием остеобластов, а так же на концентрацию клеток влияют оба фактора, действуют они сонаправленно, притом моделируемая невесомость вносит больший вклад в происходящие процессы. (Shanmugarajan et al., 2017)

Существенные различия и разрозненность полученных данных могут быть связаны со сложностями, которые возникают при моделировании ФКП на Земле, и существенными отличиями в физиологических эффектах истинной невесомости и моделей, имитирующих результаты данного воздействия. Таким образом, необходимо уделять изучению влияния комбинированного воздействия ФКП большее внимание с целью определения их совместного воздействия задолго до планирования Марсианской миссии.

1.2 Возможные механизмы, лежащие в основе наблюдаемых изменений

1.2.1 Возможные механизмы влияния ионизирующего излучения и эффектов невесомости на процессы, происходящие в ЦНС

Несмотря на всестороннее изучение, множество гипотез и большой объем накопленных данных, патогенез когнитивных повреждений, вызванных ФКП, до сих пор неизвестен. Как следствие, возможно предположить различные механизмы для объяснения происходящих процессов.

Современные исследования свидетельствуют о возможности позднего нейрогенеза в головном мозге. А именно, субгранулярная зона зубчатой извилины гиппокампа оказывается наиболее способной к данному процессу. (Amrein, 2015) (SquOe 1992; Eisch 2002). Поскольку плюрипотентные клетки-предшественники нейронов являются наиболее радиочувствительными клетками мозга млекопитающих (Limoli et al., 2007; Mizumatsu et al., 2003a; Monje et al., 2002), наибольшую чувствительность к ионизирующему излучению можно предположить для зоны СА1 гиппокампа. (Park et al., 2012). Таким образом, нарушения в процессах позднего нейрогенеза, вызванные ИИ, могут быть ответственными за нейрокогнитивные нарушения, проявляющиеся после облучения (Monje и др., 2012).

Для оценки влияния ИИ на процесс нейрогенеза молодых мышей (самцов) линии C57BL/6 подвергли рентгеновскому облучению (2, 5, 10 Гр), и спустя 6-48ч с помощью иммуногистохимического исследования оценивали состояние гиппокампальной ткани, определяя уровень апоптоза в сравнении с процессами пролиферации. Апоптоз достиг пика через 12 ч после облучения, а его степень зависела от полученной дозы. Через сорок восемь часов после облучения число пролиферирующих клеток гиппокампа уменьшились на 93-96%; количество незрелых нейронов уменьшились на 40-60%, также в зависимости от дозы. Несмотря на явную зависимость пролиферации нервной ткани от воздействия ИИ, процессы

образования глиальных клеток, напротив, не были явно нарушены. (Mizumatsu et al., 2003b)

Воздействие ИИ приводит к стойкому повреждению ДНК и снижению экспрессии p16INK4a в регионах субвентрикулярной зоны гиппокампа, что сопровождается снижением нейрогенеза. (Le et al., 2018)

ТЗЧ также оказывают влияние на процессы нейрогенеза, так, после облучения молодых крыс ТЗЧ в дозах 1.5 Гр и 2.5 Гр (^{56}Fe) экспрессия генов, прямо или косвенно модулирующих клеточную пролиферацию и дифференцировку нейронов, снизилась, в то время как экспрессия генов, регулирующих процессы апоптоза, увеличилась. (Shukitt-Hale et al., 2013)

Внутриутробное облучение крыс на 17-е сутки эмбрионального развития дозой 1 Гр (тестировали в возрасте 3 недели, 2 и 3 месяца) демонстрирует достоверное снижение у облученных крыс количества митотически активных клеток в зубчатой извилине гиппокампа животных в возрасте 3 недели. У облученных крыс в возрасте 2 месяца наблюдалось достоверное снижение числа зрелых нейронов в области CA1 и в зубчатой фасции гиппокампа, однако у 3- месячных животных отличия от контроля не наблюдалось. (Kokošová et al., 2014)

С другой стороны, нарушение процессов нейрогенеза может быть не единственной причиной наблюдаемых изменений. В результате воздействия заряженных частиц даже в малых дозах (<10 сГр) наблюдается возникновение и накопление активных форм кислорода и азота в виде свободных радикалов (АФК/АФА).

Комбинированное воздействие гамма-лучей и протонов вызывает стойкий оксидантный стресс у грызунов и нервных стволовых клеток человека, увеличивая содержание активных форм кислорода, азота, оксида азота и супероксида азота в течение 2 дней после облучения. (Tseng et al., 2013)

ТЗЧ в дозе 1 Гр (^{56}Fe 1 ГэВ/н) также вызывают увеличение образования активных форм кислорода и по сравнению с контролем, и по сравнению с животными, облученными комбинированным излучением «гамма и протоны». (Limoli et al., 2007) Полученный оксидантный стресс оказался дозозависимым.

Воздействие низких доз заряженных частиц менее 1Гр (^{56}Fe , 600 МэВ/н, 5-200сГр) вызывает стойкий оксидантный стресс, который является дозозависимым в ранние сроки (менее 1 недели после облучения) и хотя увеличенные уровни АФК и АФА сохраняются длительное время, как и когнитивные нарушения, дозозависимый эффект компенсируется. (Tseng et al., 2014)

Исследования облученных клеток предшественников гиппокампа показали острый дозозависимый апоптоз, сопровождавшийся увеличением уровня АФК, который сохранялся в течение 3-4 недель. (Limoli et al., 2004; Limoli et al., 2007).

Аналогичные результаты наблюдаются в течение 6 - 24 часов при облучении протонами (250 МэВ, от 1 до 10 Гр) по сравнению с необлученным контролем. Стоит отметить, что увеличение уровня АФК после облучения протонами происходит более быстрыми темпами по сравнению с результатами, полученными после рентгеновского облучения (Giedzinski et al., 2005)

В совокупности эти наблюдения подтверждают функциональную роль АФК и других РОС в понимании патогенеза радиационных эффектов в головном мозге; стоит отметить, что причиной описанных последствий можно назвать нарушения регуляции процессов окисления и восстановления свободных радикалов (Joseph, Cutler, 1994)

Как было сказано выше, оксидантный стресс и нарушения нейрогенеза - одни из возможных причин наблюдаемых изменений при воздействии ионизирующего излучения, однако существует предположение, что облучение запускает процессы оксидантного стресса, а он, в свою очередь, негативно сказывается на процессах нейрогенеза. (Huang, 2012)

При исследовании трансгенных мышей, нокаутных по различным изоформам фермента супероксиддисмутазы (СОД), было четко показано, что дефицит СОД имеет парадоксальные эффекты в отношении гиппокампального нейрогенеза. При отсутствии облучения СОД-дефицитные животные демонстрировали снижение исходного нейрогенеза и, предположительно, повышение базального окислительного стресса и этот эффект не зависел от конкретной изоформы СОД. Облучение при этом

показывало дозозависимый эффект на оксидантный стресс, вслед за которым снижался уровень нейрогенеза. (Fishman et al., 2009; Raber et al., 2011).

У генетически модифицированных (ГМ) мышей, экспрессирующих в митохондриях человеческую каталазу, было проанализировано последствие малых доз облучения протонами (0.5-2.0Гр), в результате чего было показано улучшение нейрогенеза у ГМ животных по сравнению с инбрендными (Liao et al., 2013).

Процессы, связанные с увеличением числа окислительно-восстановительных реакций, напоминают процессы, связанные с предполагаемыми механизмами старения, а именно, в мозге стареющего организма зачастую наблюдаются схожие процессы окисления. Учитывая, что космонавты часто среднего возраста или старше, важно определить, насколько возрастной фактор повышает риск потенциально опасного воздействия частиц при длительном космическом облучении. К примеру в работе, посвященной изучению влияния ТЗЧ (^{56}Fe в дозах 1 и 2 Гр) на молодых и старых крыс, были показаны изменения в поведении и скорости синаптической передачи; кроме того, в зависимости от возраста нарушения становились более очевидными (Carey et al., 2007).

Изучения воздействия ионизирующего излучения на везикулярный трафик ранее не проводилось. Однако есть множество косвенных доказательств вовлечения данного процесса в результаты, наблюдаемые при облучении.

Так, было показано, что облучение ^{16}O в дозе 1 Гр с энергией частиц 1 ГэВ/н приводит к эффектам, сходным с эффектами старения, оксидантному стрессу, воспалительной реакции (Poulose et al., 2011). В то же время, снижение аутофагии и старение неразрывно связаны с потерей нормальной функции синаптического трафика (Berchtold et al., 2013; Chuang, et al., 2014).

В тканях, подвергнутых воздействию ИИ, происходит стойкое повреждение ДНК в регионах субвентрикулярной зоны гиппокампа, что приводит к увеличению экспрессии гена p16INK4a, супрессора опухолевого процесса. Эффект воздействия ИИ частично нивелируется у мышей-нокаут по гену Ink4a/ARF. Восстановление нейрогенеза у INK4a/ARF нокаут не зависело от апоптоза и активации микроглии.

Таким образом, ИИ-индуцированная экспрессия p16INK4a является одним из механизмов, ограничивающих процессы нейрогенеза в гиппокампе. (Le et al., 2018)

После воздействия ядер ТЗЧ и протонов в дозах более 1 Гр наблюдаются повышения концентрации нейровоспалительных маркеров в тканях головного мозга. Воспалительный процесс в нервной ткани можно назвать еще одним фактором, существенно угнетающим нейрогенез за счет синтеза противовоспалительных факторов, таких, как IL-1, INF- α , INF- γ , IL-6, а также активации нейроглии (Jenrow et al., 2013; Monje et al., 2003).

Поскольку работа головного мозга и иммунной системы тесно взаимосвязаны как морфологически, так и биохимически, вопрос работы иммунной системы в условиях космического полета и влияния процессов воспаления на когнитивные функции должен быть детально изучен. (Maier, 2003) После облучения ТЗЧ происходит увеличение IL-12 и одновременное снижение IFN-гамма (Raber et al., 2016).

Гамма-облучение таламуса, гипоталамуса и гиппокампа 15Гр приводит к увеличению IL-1 β , TNF- α , и IL-6 у крыс. Примечателен тот факт, что резекция блуждающего нерва нивелировала данный эффект. (Marquette et al., 2003)

В совокупности эти результаты свидетельствуют о том, что вызванные радиационным воздействием воспалительные процессы могут быть еще одной причиной дисфункций ЦНС.

Различные новые исследования показывают возникновение микрососудистых и структурных морфологических изменений как следствие влияния ионизирующего излучения. Известно, что позднее некротическое повреждение тканей головного мозга после высоких доз облучения связано с повреждением сосудистой системы, (Lyubimova и др., 2004) однако имеются данные, что низкие дозы ТЗЧ также нарушают структуру и функцию сосудов. Так, после облучения ^{56}Fe наблюдались точечные кровоизлияния на корковой поверхности у 1.5-суточных новорожденных крыс через сутки после облучения (670 МэВ/н в дозах 1.4-2.0 Гр + рентгеновское облучение в дозах 0.5Гр – 8.0 Гр). (Yang и др., 1984)

Топология нейронных связей и путей, их структурная пластичность и морфологические изменения являются важными элементами поддержания когнитивных функций. Недавние исследования морфологического строения нейронов трансгенных мышей, экспрессирующих флюоресцирующий белок (EGFP) продемонстрировали, что γ -лучи, протоны и воздействие ТЗЧ ^{56}Fe вызывают уменьшение ветвления дендритов гиппокампа более чем в два раза а также сокращение числа дендритных шипиков (Chakraborti et al., 2012; Parihar, Limoli, 2013). При этом сокращение дендритного дерева наблюдается спустя 10 и 30 дней после облучения протонами дозой 1 Гр (250 МэВ/н). (Parihar et al., 2015)

Как было сказано выше, воздействие ИИ на ЦНС вызывает повышенный уровень окислительного стресса и воспаления. Эти вторичные реактивные процессы являются динамичными и ставят под угрозу нормальное функционирование ЦНС, в частности, нарушая эндогенный нейрогенез в гиппокампе. Хотя имеющиеся данные свидетельствуют о том, что нейрогенез чувствителен к облучению и окислительно-восстановительному состоянию, механизмы, лежащие в основе этих эффектов, изучены не полностью. Процессы воспаления в нервной ткани, микрососудистые изменения, дисфункции гематоэнцефалического барьера зачастую появляются в качестве патологических последствий облучения головного мозга (Greene-Schloesser et al., 2012) и признаются в качестве процессов, способствующих широкому кругу острых неврологических нарушений, влияющих на функции ЦНС (Obermeier et al., 2013; Zlokovic, 2011)

Таким образом, антиоксиданты и противовоспалительные агенты потенциально могут быть использованы в качестве радиопротекторов. Так, к примеру, было показано снижение негативных когнитивных последствий для гиппокампа после облучения ТЗЧ (^{56}Fe 500 МэВ/н, 1.5 Гр) за счет превентивного введения альфалипоевой кислоты. (Manda et al., 2008)

Существует ряд исследований, показывающих антиоксидантное влияние диеты с повышенным содержанием свежих ягод. Изменения в головном мозге животных, получающих диету, дополненную ягодами, продемонстрировали повышенную регуляцию некоторых генов защитного сигнала стресса, что косвенно доказывает

значительное влияние ионизирующего излучения на процессы оксидантного окисления. (Shukitt-Hale et al., 2013) Соответственно, коррекция питания космонавтов может оказать некоторую радиопротекторную функцию.

Таким образом, в настоящее время нет чёткого представления о механизмах, лежащих в основе нейродегенеративного процесса и когнитивных нарушений, возникающих вследствие воздействия ионизирующего излучения на организм. В первую очередь стоит отметить неспецифическое действие радиации, которое приводит к целому комплексу патофизиологических событий. В то же время, специфика нервной ткани предполагает и другие уникальные механизмы поражения нейронов и, как следствие, прогрессирование нейродегенеративного процесса.

Для определения механизмов, отвечающих за негативные эффекты невесомости, была предложена методика исследований изменений структуры костной ткани *in vitro* под действием космического полета. В результате было показано значительные перестройки внутриклеточных структур прикрепления клеток и реорганизации цитоскелета, которые могут отвечать за минеральное истощение костной ткани. (Arfat et al., 2014) Кроме того, возможно, экстраполировать полученные данные на другие типы клеток.

Несмотря на множество проведенных экспериментов в этом направлении, как *in vivo* так и *in vitro*, как в условиях реальной, так и в моделируемой невесомости, многие вопросы, связанные с механизмами потери костной ткани, а также факторы, воздействующие на эти процессы, до сих пор недостаточно ясны. (Arfat et al., 2014; Endo, Matsumoto, 2012) Существует предположение, что процессы, происходящие с организмом при изменении гравитации, схожи со стрессовой реакцией организма. В подтверждение этого говорит тот факт, что анализ работы системы моноаминов префронтальной коры головного мозга показывает активизацию серотонинергической системы головного мозга. В то же время, схожие процессы в работе головного мозга наблюдаются при стрессовом состоянии у животных. (Mahar et al., 2014)

Во время американской космической миссии STS-54 на крысах было показано, что гипогравитация ($10^{-6}G$) приводит к снижению экспрессии и активности тирозингидроксилазы (Lelkes et al., 1994).

Таким образом, механизмы, вызывающие когнитивные нарушения в результате моделируемых эффектов невесомости, до конца не определены. Стоит отметить, что нарушения могут быть вызваны только физическими эффектами изменения кровоснабжения ЦНС; с другой стороны, также могут страдать более глубокие процессы работы клеток головного мозга, за счет изменений на нейрохимическом и молекулярном уровнях.

1.2.2 Нейрохимические изменения, возникающие под действием факторов космического полета

В связи с тем, что мы наблюдаем ряд различных когнитивных нарушений неоднозначного генеза, можно предположить, что также происходят изменения в нейрохимических процессах в головном мозге. Изменения метаболизма ацетилхолина было показано после низкодозного облучения в значениях менее 0.24 Гр, β - частицами (Egana, 1962).

Поскольку описанные когнитивные дефициты зачастую связаны с процессами обучения, памяти и тревожности, можно предположить изменения функционального состояния моноаминергической системы, и, прежде всего, дофаминергической системы.

При изучении влияния ионизирующего излучения (гамма-лучи, дозы 1.5 Гр и 4.5 Гр) на память, дофаминергический и серотонинергический метаболизм у мышей линии albino CD1 было показано, что в результате облучения 1.5 Гр существенных изменений как в поведении, так и в концентрации дофамина, серотонина и их метаболитов в гиппокампе, передней коре и стриатуме мышей не наблюдается. В то время как при умеренной дозе в 4.5 Гр спустя 9 дней после воздействия наблюдались значительные изменения в сохранении памятного следа, при этом концентрации дофамина и серотонина изменились незначительно. (Martin et al., 2001)

Воздействие ТЗЧ вызывает неоднозначные изменения в дофаминергической системе головного мозга, так, влияние низких доз ^{56}Fe (600 МэВ/н или 1 ГэВ/н) на различные типы вкусового отвращения (вызванное амфетамином, зависимое от дофамина, и хлоридом лития, независимое от дофамина) не показало значимых отличий (Rabin et al., 2000; Rabin et al., 2004), однако в других работах наблюдается дефицит высвобождения дофамина после облучения животных ТЗЧ ^{56}Fe (Joseph et al., 1992).

В других работах Рабина было показано, что воздействие протонами с энергией 250 МэВ в дозах 1.5–4.0 Гр не изменяло нейрохимических механизмов дофаминергической системы крыс. (Rabin et al., 2004)

Несмотря на разрозненность данных, существует предположение, что повреждения, происходящие во время облучения, сходны с нейрохимическими нарушениями, возникающими при шизофрении. (Monje et al., 2002). Существует ряд косвенных подтверждений вовлеченности дофаминергической системы ЦНС; так, при облучении протонами мышей линии C57/6 наблюдаются характерные для повреждения дофаминергической системы изменения в поведении (Pescut et al., 2002)

Последние данные орбитальной программы «Бион» показали снижение уровня экспрессии мРНК, кодирующих GDNF и CDNF в дофаминергических нейронах нигростриатальной системы у мышей (Tsybko et al., 2015). В то же время длительный космический полет не повлиял на экспрессию генов, кодирующих BDNF, а также его рецепторов (TrkB и p75) и не вызвал нарушения регуляции генетического контроля апоптоза нервных клеток (Naumenko et al., 2015)

Механизмы, лежащие в основе этих нарушений, до конца неизвестны, но некоторые исследования показывают, что воздействие ТЗЧ нарушает регуляцию долговременной потенциации (LTP) в синапсах CA1 гиппокампа. Воздействие ионов ^{56}Fe в дозе 60 сГр приводило к высвобождению глутамата в синаптические щели гиппокампа, дефицит глутаматергической передачи сохранялся по крайней мере в течение 6 месяцев после облучения.. (Machida et al., 2010)

Последние исследования косвенно сообщают о вовлечении ГАМК-ергической нейромедиаторной системы в физиологические механизмы нейродегенеративного

процесса, (Iwata et al., 2014) вызванного облучением, а также об изменениях уровня гидроксилазы тирозина (тропа допамина) после воздействия ^{56}Fe (Rice et al., 2009). А также предположения о нарушениях в работе глутаматергической системы в гиппокампе (^{56}Fe 1 ГэВ/н 60 сГр.), что может привести к нарушениям пространственной памяти (Britten et al., 2012).

Полученные данные о нейрохимических изменениях и молекулярных механизмах тщательно изучаются на предмет применения их в качестве биомаркеров, которые могут быть использованы у космонавтов для мониторинга степени поражения их ЦНС ионизирующим излучением (Straume et al., 2007) или же для разработки адекватных контрмер.

1.4 Заключение обзора литературы

В обзоре литературы представлено большое количество работ, посвящённых влиянию ФКП на организм, однако работ, в которых внимание уделяется эффектам комбинированного воздействия очень мало. Однако, в данных работах рассматривается последовательное воздействие ФКП, что не соответствует реальным условиям полета, так как в условиях реального космического полета происходит комбинация различных факторов и их взаимное влияние на работу организма.

Исследования, проведенные на модельных животных, облученных ядрами ТЗЧ и подвергнутых ряду иных ФКП, указывают на существенный риск для ЦНС, однако достоверных доказательств, полученных в условиях реальных полетов космонавтов, на данный момент нет. Велика вероятность, что схожие эффекты последних влияний на ткани (Rubin и др., 1968) произойдут на более низких дозах, но с увеличенной латентностью. Следует отметить, что большинство исследований на сегодняшний день были проведены с относительно небольшим количеством животных ($N \leq 10$ в группе обработки) и непродолжительным по времени облучением (менее 90 дней), из чего следует сделать вывод, что пороговые эффекты (если таковые имеются) для низких доз, еще не были обнаружены.

Острое и позднее радиационное повреждение ЦНС может привести к нарушениям двигательной функции, изменениям поведения или неврологическим

расстройствам. Радиационное и синергетическое действие радиации с другими ФКП могут повлиять на нервные ткани, которые, в свою очередь, могут привести к изменениям в работе когнитивных функций и сказаться на эффективности работы экипажа. Понимание и смягчение рисков для ЦНС требует активной исследовательской программы, основанной на базовом понимании механизмов влияния факторов космического полета, полученных на клеточных моделях и животных. Исходя из данных, полученных в модельных экспериментах с участием животных и культур клеток человека, необходимо определять возможное негативное влияние ФКП на ЦНС, в первую очередь - за счет ИИ. Если этот риск определен как достаточно высокий, следует разрабатывать и использовать соответствующие стратегии защиты.

Следовательно, наиболее приоритетными вопросами для последующих исследований можно назвать следующие:

- существуют ли значительные неблагоприятные изменения в работе ЦНС в контексте длительных космических полетов и каковы пути и механизмы решения данной проблемы;

- существует ли вероятность влияния ФКП в виде космической радиации на развитие болезни Альцгеймера (БА) и Паркинсона;

- виды комбинированных воздействий ФКП: ИИ, гипо- и гипергравитации, психологических (изоляция и ограниченный экипаж), стресса, недостатка сна, изменения циркадных ритмов, несущие значительные риски для ЦНС.

В настоящее время дать надежные прогнозы относительно рисков для ЦНС от длительного воздействия ФКП невозможно в связи с отсутствием эпидемиологических данных, полученных на людях. Вместе с тем, данные, полученные на животных и клеточных моделях, показывают, что космическое излучение оказывает влияние на молекулярном, структурном, функциональном и поведенческом уровнях.

ГЛАВА 2

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Экспериментальные животные

Исследование влияния изучаемых факторов проводилось в нескольких независимых сериях экспериментов. В качестве тестируемых животных использовались самцы крыс линии Wistar (120-180 г, 8-10 животных в группе в каждом эксперименте; общее число за все серии экспериментов - 180 крыс), а также самцы мышей линии C57BL/6 (20-25г, по 8-10 животных в группе в каждом эксперименте; общее число за все серии экспериментов - 40 мышей). Крысы и мыши содержались в клетках по 8 животных с постоянным доступом к воде и пище в контролируемых условиях вивария при 12-часовом цикле освещения.

Эксперименты проводились в соответствии с международными правилами по работе с лабораторными животными, а также были предприняты все меры для соблюдения биоэтических норм и сокращения числа использованных животных.

2.2 Циклограмма экспериментов

Схематическое отображение планов экспериментов с крысами представлено в таблице 1: А - эксперименты, связанные с облучением и Б - эксперименты, связанные с комбинированным воздействием, с указанием времени воздействий, количества животных, моделируемых ФКП и последующих манипуляций для анализа эффектов от воздействия.

Схематическое отображение планов экспериментов с мышами представлено в таблицах 2 А (только облучение) и 2 Б (комбинированное воздействие), с указанием времени воздействий, количества животных и моделируемых факторов космического полета.

Таблица 1А – план эксперимента (крысы, облучение)

Эксперименты Облучение	Группы и тип воздействия	Порядок манипуляций			
		Декапитация нейрохимия (половина животных)	Открытое поле	Обучение Y-образный лабиринт	
Облучение протонами на пролете	1.Контроль 2.Облучение 1.5Гр 3.Облучение 3 Гр				
Облучение протонами в пике Брэгга (происходил о после начала обучения)	1.Контроль 2.Облучение 1 Гр 3.Облучение 2 Гр	Открытое поле	Обучение в Т-образном лабиринте 1 этап	Облучение и обучение в Т-образном лабиринте, 2 этап, УРПИ	Декапитация и нейрохимия
Облучение ТЗЧ ^{12}C	1.Контроль 2.Облучение	Декапитация и нейрохимия			

Таблица 1Б – план эксперимента (крысы, комбинация)

Экспери- мент тип воздейст- вия	Группы и тип воздей- ствия	Порядок манипуляций				
		Декапита- ция и нейрохимия (половина животных)	ОП	Припо- д- нятый кресто- образн ый лабири нт	УРПИ	Водный лаби- ринт Мориса
Комбини- рованное воздей- ствие АнОВ-7 суток, облучение гамма	1.Контроль 2.Облуче- ние 3.АнОВ 3.Облуче- ние+АнОВ	Декапита- ция и нейрохимия (половина животных)	ОП	Припо- д- нятый кресто- образн ый лабири нт	УРПИ	Водный лаби- ринт Мориса
Комбини- рованное воздей- ствие АнОВ-14 суток, облучение гамма	1.Контроль 2.Облуче- ние 3.АнОВ 3.Облуче- ние+АнОВ	Декапита- ция и нейрохимия (половина животных)	ОП	Припо- д- нятый кресто- образн ый лабири нт		Водный лаби- ринт Мориса
Комбини- рованное воздействи- е, АнОВ 30 суток, облучение гамма	1.Контроль 2.Облуче- ние 3.АнОВ 3.Облуче- ние+АнОВ	Декапита- ция и нейрохимия (половина животных)	ОП Уга- шение	УРПИ	Дискри- минант- ное обуче- ние	Анализ молеку- лярных меха- низмов

Комбини- рованное воздейст- вие, АноВ 30 суток, облучение гамма и протоны	1.Контроль 2.Облуче- ние 3.АноВ 3.Облуче- ние+АноВ	Декапита- ция и нейрохимия (половина животных)	ОП				
--	---	--	----	--	--	--	--

Таблица 2А – план эксперимента (мыши, АноВ)

Экс 1	Группа	Порядок манипуляций					
	Контроль	ОП		Intellicage			Декапитация
	АноВ	Вывешивание			ОП	Intellicage	Декапитация
	Дни	1	2-15	15-30	31	32-47	47

Таблица 2Б – план эксперимента (мыши, комбинация)

Экс 2	Группа	Манипуляция						
	Конт- роль	ОП	Intel- licage				Intellicage	Декапитация
	АноВ		Intel- licage	АноВ		ОП	Intellicage	Декапитация
	АноВ+ ЦФ		Intel- licage	АноВ	ЦФ	ОП	Intellicage	Декапитация
	Дни	1	2-17	17-47	47	48	49-64	65

2.3 Моделирование факторов космического полета

2.3.1 Ионизирующие излучения

Облучение крыс протонами «на пролете» проводили на установке «Фазотрон» в Объединенном Институте Ядерных Исследований (Дубна). Дозы облучения составили 1.5 и 3.0 Гр, энергия протонов 165 МэВ. Животных начинали исследовать на 2 сутки после облучения.

Облучение крыс протонами в пике Брэгга проводили на установке «Фазотрон» в Объединенном Институте Ядерных Исследований (Дубна). Дозы облучения составили 1.0 и 2.0 Гр в пике Брэгга. Животных начинали исследовать на 2 сутки после облучения. Установка представлена на рисунке 1А

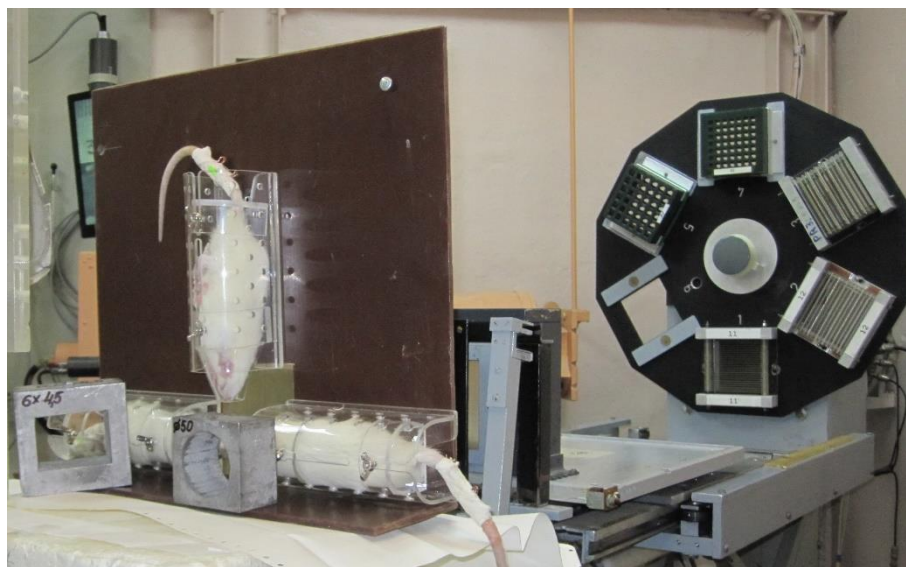


Рисунок 1А Фото облучения крыс на протонном пучке.

Облучение крыс ионами ^{12}C проводили на пучке ускорителя «Нуклотрон» в ИФВЭ (г. Протвино). Доза облучения составила 1.0 Гр, энергия ионов – 500 МэВ/н, средняя линейная передача энергии (ЛПЭ) – 10.6 кэВ/микрон. Крыс облучали с таким расчетом, чтобы поглощенная доза излучения приходилась преимущественно на голову животных.

В задачах комбинированного воздействия облучение крыс протонами проводили на установке «Фазотрон» в Объединенном институте ядерных исследований (Дубна). Доза облучения составила 1.5 Гр, энергия протонов 170 МэВ. Установка представлена на рисунке 1Б.



Рисунок 1.Б установке «Фазотрон» (Дубна, ОИЯИ)

Гамма-облучение проводили в установке Гобо-60 с сертифицированной активностью источника 72 г-экв ^{137}Cs (661,7 КэВ). Суммарная доза в 3.0Гр была равномерно разделена на весь период комбинированного воздействия. Фото источника приведено на рисунке 2Б.

2.3.2 Антиоростатическое вывешивание

Антиортостатическое вывешивание (АнОВ) представляет собой общепризнанную модель, которая симулирует в наземных условиях воздействие, оказываемое невесомостью. В рамках методики животные подвешивались за основание хвоста к металлической перекладине под углом в 30-40 градусов к горизонтали в индивидуальных ячейках размером 42x42x40 см (длина x высота x ширина). К хвосту каждой крысы с помощью эластичного лейкопластыря прикрепляется крючок, который с помощью карабина крепится к подвижным роликам на перекладине сверху ячейки, что позволяет животным свободно перемещаться в полуподвешенном состоянии. Подобное расположение обеспечивает перераспределение жидкости в организме, а именно - ее отток от задних конечностей и приток к голове. Животные подвешивались на промежутки времени от 1 до 4 недель, при постоянном доступе к воде и пище.

При создании АнОВ у мышей использовали индивидуальные секции из оргстекла. Животных вывешивали за основание хвоста с использованием лейкопластыря, с помощью специальной втулки под углом 30–40° с расчетом снятия статической нагрузки с задних конечностей. При этом мышей крепили с помощью специальных карабинов, надевающихся на металлический стержень так, чтобы они могли свободно перемещаться в пределах ячейки. Таким образом, создавался антиортостаз, вызывающий перераспределение жидкостей в организме, и снималась статическая нагрузка с задних конечностей.

2.3.3 Моделирование эффектов перегрузки

В качестве моделирования перегрузки у мышей, группу животных (АнОВ+ЦФ) подвергали однократному вращению на центрифуге ЦФ-30, плечо 7.5м в Институте военной медицины МО РФ. Данное воздействие осуществлялось до достижения перегрузки 8 g на протяжении 10 мин с градиентом нарастания и снижения перегрузки 0.4 g, что соответствует условиям полетного эксперимента.

2.3.4 Комбинированное воздействие

В рамках данной работы впервые было проведено одновременное моделирование комбинированного воздействия длительного гамма-облучения и гипогравитации, моделируемых в наземном эксперименте.

Как уже было сказано выше, в процессе межпланетного полета экипаж сталкивается с совокупностью различных ФКП, наиболее важными из которых являются длительное облучение ГКЛ и невесомость. В связи с невозможностью моделирования длительного облучения животных протонами и ТЗЧ как основными компонентами ГКЛ, были проведены различные по продолжительности сеансы длительного гамма-облучения; таким образом, наша методика моделирования эффектов влияния ФКП оказывается наиболее приближенной к условиям реального полета.

Для достижения данного эффекта животных вешивали в помещении, где происходило облучение в течение всего времени создания АноВ.

Фотография расположения клеток с животными и источника Гобо-60 представлены на рисунках 2А и 2Б.

Животные из группы АноВ, облучение которых не предполагалось, находились в том же помещении в зоне за пределами облучения, методика вешивания описана в пункте 2.3.1.

Облучение мышей не проводилось, однако на их примере был рассмотрен вопрос о комбинированном воздействии моделируемой перегрузки и моделируемой невесомости путем последовательного вешивания и вращения на центрифуге, что соответствует условиям реального полета.



Рисунок 2 Общий вид экспериментальной установки для исследования синхронного комбинированного действия антиортостатического вывешивания (АнОВ) и длительного гамма-облучения на функции ЦНС крыс.

2А – расположение животных, подвергнутых комбинированному воздействию, в секциях на стеллаже. Животные, подвергнутые облучению, располагаются в клетках на стеллажах.

2Б – расположение источника Гобо-60 с сертифицированной активностью источника 72 г-экв ^{137}Cs (661,7 КэВ), за источником находятся животные из группы вывешивание.

2.4 Методики для оценки влияния ФКП на когнитивные способности животных

2.4.1 Открытое поле

Методика «открытого поля» (ОП) является общепринятой для оценки соотношения активных и пассивно-оборонительных компонентов поведения при создании умеренно стрессовой ситуации (конкурентных отношений между

ориентировочно-исследовательской и пассивно-оборонительной – реакцией страха мотивациями).

ОП представляет собой открытую круговую арену диаметром 100 см со стенами высотой 40 см. Арена поделена на квадраты с отверстием диаметром 5 см в центре каждого. Данные отверстия служат «норами». ОП также разделяется на центральную и периферическую области.

В начале теста животное помещалось в центр арены. Время тестирования в открытом поле составляло 5 минут. В процессе эксперимента фиксировались следующие параметры: латентный период (время начала движения животного из центра), горизонтальная двигательная активность (число пересеченных квадратов, отдельно фиксировалось их число в центре и на периферии), число выходов в центр, число заглядываний в «норы», число стоек с опорой и без, число актов груминга, число уринаций и дефекаций. Кроме того, в ряде экспериментов данные сравнивались по двум временным отрезкам, а именно - за первые 2.5 минуты и за вторые 2.5 минуты, для оценки адаптации в ОП. Регистрация поведенческих актов производилась с помощью программы Real Timer (OpenScience, Russia).

Поведение мышей также исследовали в тесте ОП: контрольные группы сразу, экспериментальные группы после воздействий. ОП представляло собой круг диаметром 80 см, расчерченный на секторы с отверстием в центре каждого. В ОП регистрировались следующие параметры: латентный период (время начала движения животного после посадки в центр); горизонтальная двигательная активность (число пройденных квадратов); исследовательская активность (число заглядываний в отверстия); число стоек (вертикальная двигательная активность); число выходов в центральный квадрат, а также число уринаций и дефекаций. Время тестирования составляло 5 мин, данные оценивались независимо по 2 временным интервалам: первые 2.5 мин и вторые 2.5 мин. для оценки угашения ориентировочно-исследовательской активности.

2.4.2 Водный лабиринт Морриса

Данная методика предназначена для изучения процессов, связанных с работой пространственной памяти и ориентации. Водный лабиринт Морриса представляет собой круглый бассейн диаметром 150 см с высотой стенок 40 см, глубина наполнения водой составляла 21 см. В бассейн помещается прозрачная платформа диаметром 10 см, расположенная на 1.5 см ниже уровня воды, что делает ее совершенно невидимой с поверхности. Температура воды во время тестирования равняется 22-23°C. Во время тестирования бассейн визуально разделяется на 4 равных сектора, в центре одного из которых и оказывается платформа. Животное высаживается в центр одного из трех свободных секторов. Время попытки составляет 60 секунд, в течение которых животное должно найти платформу и забраться на нее. Если этого не происходит, по истечении времени теста животное направляется к платформе экспериментатором. Забравшись на платформу, животное получает возможность сидеть на ней 15 секунд, после чего попытка повторяется. Обучение продолжалось 4 дня по 4 попытки, разнесенные попарно во времени на три часа для каждого животного ежедневно. Фиксировалось время нахождения платформы. Последняя попытка в последний день обучения представляет собой проб-тест, когда животное запускается из произвольного угла при отсутствии платформы в бассейне, при этом фиксируется время, которое крыса находится в секторе, в котором во время обучения находилась платформа.

2.4.3 Приподнятый крестообразный лабиринт

Представленный модельный эксперимент используется для выявления степени тревожности животных. Приподнятый крестообразный лабиринт состоит из двух открытых рукавов (50x10x1.2 см) и двух закрытых рукавов (50x10x40 см), перекрещенных между собой под прямым углом, посередине на месте перекреста находится центральное пространство 10x10 см. Лабиринт располагается в 100 см от

пола, освещённость в закрытых рукавах равняется 12лк, в центральном пространстве равняется 25лк, в открытом пространстве 60лк. В начале тестирования животное помещается в один из закрытых рукавов. Фиксировались следующие параметры: число выходов из закрытых рукавов, время первого выхода из рукава в центр и общее время, проведенное в открытых и закрытых рукавах; время тестирования составляет 5 минут.

2.4.4 Тестирование в системе Intellicage

Тестированию поведения в системе Intellicage подвергались только мыши. Прибор Intellicage, разработанный компанией NewBehavior TSE (Германия), предназначен для автоматического сбора и анализа данных о поведении и обучении мелких лабораторных животных.

Данный прибор представляет собой домашнюю клетку, в которой одновременно могут проживать мыши в количестве до 16 особей. За неделю до начала исследований всем мышам под местной анестезией были внедрены транспондером в холку индивидуальные идентификационные чипы системы IntelliCage, по которому происходит различение животных в клетке в момент подхода к той или иной поилке, что позволяет контролировать место и количество выпитой жидкости.

В каждом углу клетки располагается норка с двумя поилками, доступ к которым преграждает пластмассовая шторка, управляемая программой или экспериментатором. Над каждой поилкой находится панель, оснащенная температурными датчиками присутствия, датчиками, считывающими идентификационный номер чипа, датчиком «nosepoke», которые реагируют на попытку животного дотянуться до поилки; кроме того, на самой поилке также располагаются датчики, сообщающие информацию о количестве и продолжительности питьевых актов. В клетке располагаются небольшие пластмассовые контейнеры, играющие роль «домиков», что позволяет обогатить среду обитания животных. Сверху клетка закрывается металлической решеткой с углублением для корма, соответственно, животное имеет постоянный доступ к

питанию, вне зависимости от условий задачи. Схема клетки представлена на рисунке 3.

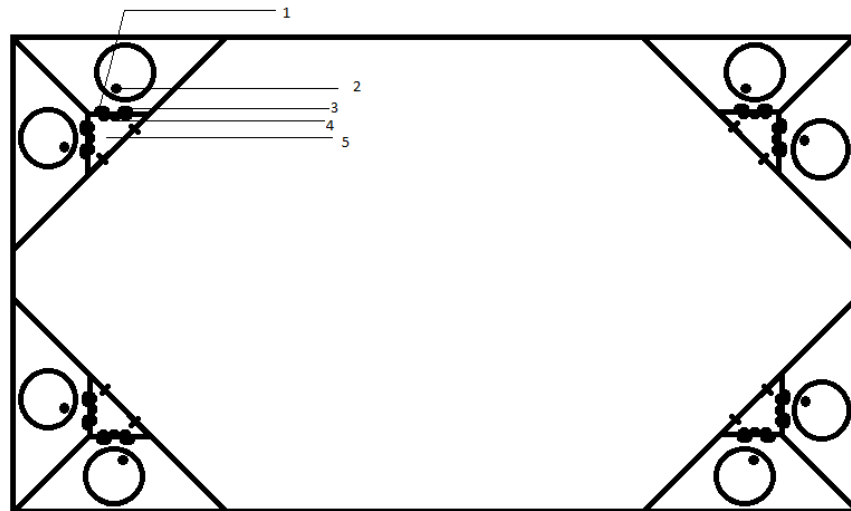


Рисунок 3 Схема клетки intellicage

1-Датчик присутствия, 2-Датчик количества выпитого, 3-Датчик «nosepoke», 4 Светодиоды, 5- Нора

После тестирования в «открытом поле» животные помещались в систему Intellicage, состоящую из 2 клеток (по 5 животных в каждой), где в течение 4 суток происходила адаптация к новым условиям, во время которой животные имели постоянный доступ к воде, что сделало углы равноценными. После адаптации в системе Intellicage в течение 2 недель происходило обучение в этой же системе по следующей парадигме: первоначально «правильной» становилась поилка № 1 для всех животных, после достижения критерия обученности 60 % «правильной» становилась поилка, находящаяся справа, относительно предыдущей, таким образом проходил круг смены поилок.

Мышей второй экспериментальной серии помещали в систему Intellicage дважды, первый раз до экспериментальных воздействий, во второй раз после

экспериментальных воздействий и в течение 2 недель исследовали динамику восстановления выработанного двигательного-пространственного стереотипа и изменение процессов адаптации к среде.

Система Intellicage обладает рядом преимуществ по сравнению с другими системами для тестирования пространственного обучения и поведения животных.

Постоянное содержание животных в сформированных социальных группах в домашних клетках позволяет анализировать не только индивидуальные особенности каждого животного (которые контролируются за счет чипов), но и наблюдать за влиянием группового общения на особенности его поведения и обучения.

Процесс обучения и сбора информации полностью автоматизирован, что позволяет свести контакты экспериментатора с системой только для совершения процедур, связанных с уходом за животными.

Программное обеспечение данной системы позволяет создавать различные как по времени, так и по сложности модели экспериментов, что дает возможность реализовать сколь угодно большое число методических задач.

Таким образом, особенности прибора Intellicage позволяют свести к минимуму влияние различных сторонних факторов, таких как присутствие экспериментатора, перенос из домашней клетки или индивидуальное содержание, уменьшив тем самым вероятность возникновения ошибок и неточностей в данных.

2.4.5 Выработка условного рефлекса пассивного и активного избегания

Для выработки рефлекса пассивного избегания использовалась состоящая из двух отсеков камера размерами 43х16х8.5 см. Один затемненный (8 лк), с электрифицированным полом, другой освещенный (320 лк), между отсеками есть проход размером 6х6 см. Во время выработки условного рефлекса животное помещалось в светлый отсек, после перехода животного в темный отсек фиксировалось время и на пол подавался электрический прямоугольный импульс длительностью 2с, силой тока 0.5мА, частотой 100Гц с заполнением 50%. Каждое животное стимулировалось однократно.

Для проверки сохранности памятного следа повторно животное помещалось в светлую камеру спустя 30 минут, 24 часа и 7 дней после обучения. Во время повторных попыток также фиксировалось время перехода в темный отсек, однако ток на пол при этом не подавался.

Для выработки условного рефлекса активного избегания используется стандартная установка из белого пластика, размерами 50х25х25 см, разделенная посередине перегородкой с отверстием 6х6см. В каждом отсеке установлены управляемый светодиодный светильник, обеспечивающий освещенность 80лк/см² и электропол, позволяющий стимулировать крысу импульсами с частотой 4-5 Гц энергией 0.004Дж. Крыса высаживается в произвольный отсек, после чего в отсеке загорается свет и начинается отсчет времени (6 секунд). Если крыса не успевает перейти в другой отсек, включается электропол, вынуждающий ее совершить переход. Проводится 4 последовательных дня по 20 раундов такого испытания, подсчитывается количество «успешных» (без включения электропола) переходов, среднее время от включения света до совершения перехода

2.4.6 Обучение в Y-образном лабиринте

Животных из группы «протоны на пролете» обучали в Y-образном лабиринте с электрооборонительным подкреплением. Процедура обучения состояла в следующем. Крыс помещали в один из отсеков лабиринта; через 5 с подавался условный раздражитель - звук частотой 1200 Гц. Через 3 секунды к нему присоединялся безусловный раздражитель - ток 500 мкА, подаваемый на электродный пол. Правильными реакциями считались побежки крысы в правый отсек лабиринта по условному сигналу (реакция избегания) или при сочетании условного и безусловного раздражителей (реакция избавления); ошибочными - побежки в левый отсек лабиринта; «отказом» - отсутствие побежки в течение всего времени сочетания. Двигательно-оборонительный условный рефлекс вырабатывался за 1 серию из 60 сочетаний.

2.4.7. Дискриминантное обучение по методике Григоряна

Обучение заключается в вырабатывании дифференцировочного двигательного пищевого условного рефлекса по методике, предложенной (Григорьян, 2005). Две одинаковые чашки, накрытые шариками черного и белого цветов, размещали в экспериментальной камере на расстоянии 10 см одна от другой. Подкрепление помещали только в чашку, накрытую черным шариком. Пространственное расположение чашек в камере меняли от пробы к пробе в случайном порядке. Обучение проводили за одну серию предъявлений – по 15 проб в серии. Интервал между пробами составлял 30 с. Правильной реакцией считали сброс черного шарика и получение подкрепления, ошибочной – сброс белого шарика и неполучение подкрепления.

В процессе обучения регистрировали следующие показатели: число правильных и ошибочных реакций выбора, латентный период условного рефлекса (ЛП УР), а также число видоспецифических стереотипных поведенческих реакций в процессе обучения: груминговых реакций, вертикальной двигательной активности и пассивно-оборонительных реакций (реакций замирания). Полученные данные обрабатывали с помощью U-критерия Вилкоксона–Манна–Уитни.

Обучали по данной методике как крыс, так и мышей.

2.4.8. Обучение в Т-образном лабиринте.

Для дискриминантного обучения крыс, облученных в пике Брэгга использовали Т-образный лабиринт (OpenScience, Россия) с шириной аллеи 10 см, длиной рукавов 30 см и высотой стенок 16 см; боковые рукава пересекались параллельной центральному рукаву перегородкой длиной 17 см таким образом, что животное не могло видеть противоположный рукав, находясь в соседнем. Перпендикулярно этой

перегородке была установлена другая, перекрывающая основной рукав; таким образом можно было открывать и закрывать проход в боковые рукава лабиринта. В оба боковых рукава лабиринта устанавливали пластиковые емкости для пищевого подкрепления (диаметром 2.5 см и высотой 1 см). В одну из емкостей помещали кусочек сыра (награду), другая лишь протиралась кусочком сыра для сохранения его запаха. Перед каждым тестированием животные находились 2 суток в условиях пищевой депривации – отсутствие пищи при свободном доступе к воде; после тестирования животные 1 сутки получали свободный доступ к воде и еде. Таким образом, тестирование повторялось каждый 5-й день. Условным сигналом служил звук частотой 1 кГц (левый рукав) и 2 кГц (правый рукав). Процедура обучения заключалась в следующем. Крысу помещали в центральный рукав, подавали звук, соответствующий рукаву с подкреплением, и, поднимая перегородку, давали возможность крысе в течение 3 мин свободно перемещаться до нахождения пищевого подкрепления; при этом в первый день время не лимитировалось: крысу вынимали лишь после нахождения пищевого подкрепления, результаты не документировали. В дальнейшем, в случае нахождения (касания носом кормушки) или поедания сыра ранее 3 мин фиксировали время и такую попытку считали правильной. В случае не нахождения пищевой награды или поворота в рукав без пищевой награды попытку считали неуспешной, а время документировали как 180 с. После каждой успешной или неуспешной попытки сыр перемещался по следующей схеме Л-П-Л-П-Л-П-П-Л-Л-П-П-Л-П-Л-П (Л – левый рукав, П – правый рукав лабиринта) или инверсно (на следующий день тестирования). Всего в день предоставляли 15 попыток, данные усредняли по дням. После облужения тестирование возобновляли на 5 день.

2.5 Анализ нейрохимических изменений в работе структур головного мозга

Декапитация отобранных для нейрохимических исследований животных, как крыс, так и мышей, проводили через 2 суток после окончания экспериментальных

воздействий. Выделяли следующие структуры мозга: префронтальную кору, прилежащее ядро (*nucleus accumbens*), гипоталамус, гиппокамп, стриатум; структуры замораживали в жидком азоте и взвешивали. Выделенные структуры гомогенизировали при +4°C в стеклянном гомогенизаторе с тефлоновым пестиком (0,2 мм) при скорости вращения пестика 3000 об/мин. В качестве среды гомогенизации и выделения использовали 0.1н HClO₄ с добавлением внутреннего стандарта ДОБА (3,4-диоксибензиламин) – вещества катехоламиновой природы, но не встречающегося в нативной ткани, в концентрации 0,5 нмоль/мл. Прилежащее ядро гомогенизировали в 40-кратном объеме, остальные структуры мозга – в 20-кратных объемах среды выделения. Пробы центрифугировали при +4°C, 10000 *g*, в течение 15 мин. Супернатант использовался в дальнейшем для определения моноаминов и их метаболитов.

Концентрацию моноаминов и их метаболитов определяли с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ионпарная хроматография) с электрохимической детекцией на хроматографе LC-304T (BAS, West Lafayette, США) с инжектором Rheodyne 7125, петля для нанесения образцов – 20 мкл. Изучаемые вещества разделяли на обращеннофазной колонке ReproSil-Pur, ODS-3, 4 × 100 мм, 3 мкм (Dr. Majsch GmbH, “Элсико”, Москва). Насос PM-80 (BAS, США), скорость элюции подвижной фазы 1.0 мл/мин при давлении 200 атм. Мобильная фаза – 0.1 М цитратно-фосфатный буфер, содержащий 1.1 мМ октансульфоновой кислоты, 0.1 мМ ЭДТА и 9% ацетонитрила (pH 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. Регистрацию образцов проводили с применением аппаратно - программного комплекса МУЛЬТИХРОМ 1.5 (АМПЕРСЕНД).

Для калибровки хроматографа использовали смеси рабочих стандартов определяемых веществ в концентрации 500 пмоль/мл. Величины концентрации моноаминов в опытных образцах рассчитывали методом “внутреннего стандарта”, исходя из отношений площади пиков в стандартной смеси и в образце. Определяли содержание норадреналина (НА), дофамина (ДА) и его метаболитов – 3,4-

диоксифенилуксусной кислоты (ДОФУК), гомованилиновой кислоты (ГВК), 3-метокситирамина (3-MT), серотонина (5-окситриптамина, 5-ОТ) и его метаболита – 5-гидроксииндолуксусной кислоты (5-ОИУК).

Результаты нейрохимических исследований выражали в виде средних величин $\pm$ стандартная ошибка среднего. Полученные результаты анализировали односторонней ANOVA; применялся также апостериорный тест Дункана. Статистически значимым результатом считали величину $p \leq 0,05$.

2.6 Анализ молекулярных механизмов

Для изучения молекулярных механизмов нейробиологических эффектов комбинированного действия АНОВ и ионизирующих излучений использовали метод обратной транскрипции и ПЦР в реальном времени (qRT-PCR).

SNARE (soluble NSF attachment receptor) комплекс представляет собой большую группу белков, осуществляющих слияние внутриклеточных транспортных везикул с клеточной мембраной или органеллой-мишенью. Всего насчитывается около 60 белков, входящих в SNARE комплекс. Для изучения изменения работы SNARE комплекса были проанализированы изменения экспрессии генов, кодирующих белки, входящие в его состав или опосредованно связанные с его работой. В качестве анализируемой структуры был выбран гиппокамп. Оценивалось содержание белков: синтаксин 1 и SNAP-25 изоформы А и В, синаптобrevин, альфа-синуклеин, комплексин, синаптотагмин, DNAJ5 и Munc18.

Синтаксин 1 и SNAP-25 составляют одну из структур SNARE- комплекса, синаптобrevин, находится на поверхности мембраны доставляемой пресинаптической везикулы. Альфа-синуклеин - специфический белок, находящийся в пресинаптических терминалах, который, как предполагается, играет определенную роль в поддержании постоянного количества синаптических везикул в пресинаптических терминалах путем их кластеризации. (Cheng, Vivacqua, Yu, 2011; Diao et al., 2013) Другой функцией данного белка можно назвать регулирование высвобождения дофамина. (Lotharius и др., 2002)

Биохимические и генетические данные свидетельствуют о том, что синаптотагмин функционирует в качестве датчика Ca^{2+} для быстрого высвобождения нейромедиаторов. (Pang et al., 2006) Кальций, связывая синаптотагмин, включается в процессы ранней стыковки синаптических пузырьков с пресинаптической мембраной при взаимодействии со SNAP-25 (Schiavo et al., 1997)

Munc-18 - белок, представляющий собой существенный компонент, задействованный в процессах синтеза синаптических пузырьков, и имеющий решающее значение для регулируемого экзоцитоза везикул в нейронах и нейроэндокринных клетках. Munc-18 связывается синтаксином и образует единый комплекс, регулирующий обратный захват везикул; этот процесс связан со SNARE комплексом и опосредуется с помощью белков: синаптобравина, SNP25 и синтаксина. (Pevsner et al., 1994). Изоформа Munc 18-1 имеет множественные роли в экзоцитозе и повышает стабильность синтаксина (Burgoyne et al., 2009).

Комплексин также играет роль в работе SNARE комплекса; так, в присутствии Ca^{2+} транспортный везикулярный белок синаптотагмин вытесняет комплексин, позволяя SNARE комплексу связывать транспортную везикулу и пресинаптическую мембрану. Комплекс действует как ингибитор и катализатор синтеза синаптических везикул и высвобождения нейромедиатора.

В одной конформации он зажимает комплексы SNAREpin, предотвращая слияние везикул, в то время как в другой конформации он освобождает SNAREpin, позволяя синаптотагмину вызвать слияние мембраны (Krishnakumar et al., 2011). Стоит отметить, что комплексин не является необходимым белком для экзоцитоза синаптических везикул, однако он увеличивает высвобождение нейромедиаторов на 60-70% как показали трансгенные по синтезу комплексина нокаут-мыши (Hu et al., 2002)

Для последующего изучения отделяли гиппокамп от других структур головного мозга. Образцы гомогенизировали в 0.1М-хлорной кислоте (1:20) с 0.5 мкМ 3,4-дигидроксibenзойной кислотой в качестве внутреннего стандарта и центрифугировали при 12000g в течение 10 минут. Супернатант анализировали с

помощью высокоэффективной жидкостной хроматография с электрохимической детекцией.

Тотальную РНК экстрагировали, используя с Тризол (Evrogen, Россия) и стандартной хлороформный фенол. Обратная транскрипция проведена с использованием MMLV RT kit с рандомными гексамерными праймерами (Евроген, Россия) в соответствии с инструкцией производителя. Анализ уровня экспрессии генов был выполнен с помощью метода qRT-PCR. К qPCRmix-HS SYBR (Евроген, Россия) добавляли необходимое количество анализируемой кДНК и праймеров. В работе был использован термоциклер BioRad CFX96 (Bio-Rad Laboratories, США). Изменение экспрессии целевых генов было определено методом $2^{-\Delta\Delta CT}$, используя β -актин как референтный ген для всех образцов. Последовательности используемых праймеров приведены в таблице 3.

Таблица 3. Олигонуклеотидные последовательности праймеров, используемых в ПЦР для определения qRT-PCR

Гены	Праймер	
	Прямой	Обратный
β -Actin	5'- CACTGCCGCATCC TCTTCCT-3'	5'- AACCGCTCATTCG CGATAGTG-3'
Catechol-O-methyltransferase (COMT)	5'- CACCTACTGCACA CAGAAGGAAT-3'	5'- AGTAGCCACAGTA AGCTCCCAGT-3'
Dopamine receptor 1 (D1)	5'- CTTCGATGTGTTTG TGTGGTTT-3'	5'- TCTTCCTTCTTCAG GTCCTCAG-3'
Dopamine receptor 2 (D2)	5'- CTTGATAGTCAGC CTTGCTGTG-3'	5'- AGGGCACGTAGAA TGAGACAAT-3'
Dopamine transporter (DAT)	5'- AATGCTCCGTGGG ACCAATG-3'	5'- CAATAACCATGAA GAGCAGG-3'
Monoamine oxidase A (MAO-A)	5'- GCCAGGAACGGAA ATTTGTA-3'	5'- TCTCAGGTGGAAG CTCTGGT-3'
Serotonin receptor 1a (5-HT1a)	5'- GATCTCGCTCACTT GGCTCA-3'	5'- ACCTTCCTGACAG TCTTGCG-3'
Serotonin receptor 2a (5-HT2a)	5'- CACCGACATGCCT CTCCATT-3'	5'- GGACACAGGCATG ACAAGGA-3'
Serotonin receptor 2c (5-HT2c)	5'- ATTTGTGCCCCGTC TGGATT-3'	5'- GCTTTCGTCCCTCA GTCCAA-3'
Serotonin transporter (SERT)	5'- ATGCTACCAGAAT GGCGGAG-3'	5'- GCCCAGGCTATGA TGGTGTT -3'

Tyrosine hydroxylase (TH)	5'- TCGGAAGCTGATT GCAGAGA-3'	5'- TTCCGCTGTGTATT CCACATG-3'
synaptobrevin (sfc) VAMP-2 (vesicle- associated membrane protein)	5 - GCATCTCTCCTACC CTTTCA -3	5- TTAGGGGTCTGA GGGTACA -3
syntaxin 1A (stx)	ATGAAGGACCGAA CCCAGGAGC	TCTATCCAAAGAT GCCCCCGA
SNAP-25A	AGGACGCAGACAT GCGTAATGAACTG GAGG	TTGGTTGATATGGT TCATGCCTTCTTCG ACACGA
SNAP-25B		CTTATTGATTTGGT CCATCCCTTCCTCA ATGCGT
Munc18	5'- AGACATCATGACC GAGGGGA-3'	5'- AGACGGGGTGATG AGGTACA-3'
synaptotagmin 1 (syt)	5'- CTTGTCCCACACA ATGCCACT-3'	5'- AAGGACCGCAACT ATGGCT-3'
complexin 1	5'- ATGGAGTTCGTGA TGAAACAAG-3'	5'- TTRACTTCTTGAACA TGTCCTGCA-3'
complexin 2	5'- ATGGACTTCGTCA TGAAGCA	5'- TTRACTTCTTGAACA TGTCCTGCA-3'
CSP-a / DNAJC5	AAGGCGCTGTTCG TCGTCTG	CATGATTCTAAGG TTGCAGTGGCC-3

2.7 Статистический анализ данных и математическая обработка

Для определения однородности выборки использовали т-Критерий. Данные представлены как среднее $\pm$ S.E.M. Стандартная обработка данных была проведена с использованием программ Microsoft Exel 2010 и Statistica 10 (StatSoft Inc., США). Внутригрупповое обучение в тесте выработки рефлекса пассивного избегания было проанализировано с помощью t-теста Стьюдента и U-критерия Вилкоксона–Манна–Уитни для зависимых выборок. Другие данные были проанализированы с помощью однофакторного дисперсионного анализа (one-way ANOVA) и апостериорный тест Дункана был рассчитан там, где были обнаружены различия дисперсий. Уровень значимости во всех тестах был принят как $p < 0,05$

Данные, полученные в системе Intellicage, были математически обработаны для сравнения между различными сериями и группами.

Для анализа поведения как в период адаптации, так и в период обучения использовались следующие параметры: длительность лизания, тычка носом и визита; общее число лизаний, тычков носом и визитов; предпочтения углов (в каком углу больший процент времени за анализируемый период проводило животное) по лизаниям, тычкам носам и визитам.

Данные адаптации и обучения обрабатывались независимо. Анализ периода адаптации проводился по трем временным отрезкам– за 1-е, 2-е сутки и за весь период адаптации (4 сут).

Сравнение проводилось как внутри каждой группы за выбранные промежутки времени, так и между 2 группами. Отдельно проводилось сравнение в различных экспериментальных сериях. Для оценки равномерности длительности и числа поведенческих актов за 1-е и 2-е сутки была проведена оценка того, какой процент составляют эти величины от значения за весь период и усреднены по группе.

Значения предпочтений выражаются процентами для каждого животного и для каждого угла таким образом: чем ближе одна из величин к 100 %, тем в большей степени животное предпочитает один угол всем остальным; чем ближе все значения

к 25 %, тем более равномерны предпочтения углов. Для статистической оценки предпочтений углов с этими данными были произведены следующие преобразования: считали, насколько по модулю отличается каждое значение от 25, складывали эти отличия и получали условную величину, характеризующую стереотипность поведения мыши: чем она больше, тем более стереотипно поведение (мышь посещает только 1 угол из 4); чем она меньше, тем более равномерно посещение углов. Для наглядности построения графиков шкала приведена к 1, где 0 – равное посещение всех углов (стереотипность отсутствует); 1 – выбор исключительно 1 угла (максимальная стереотипность поведения).

Полученные значения усреднялись по каждой группе и сравнивались по суткам между контрольной и экспериментальными группами а также между различными экспериментальными сериями.

Для сравнения тестов между различными экспериментами использовался метод приведения данных к единице.

ГЛАВА 3

ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Изменение поведения животных и нейрохимических механизмов при влиянии ионизирующего излучения разных типов

После облучения крыс протонами на пролете, следует констатировать статистически значимые отличия в различных компонентах поведения животных в тесте открытое поле, данные представлены на рисунке 4. Показатели двигательной активности в ОП снижаются у группы 1.5 Гр на 65% по сравнению с контролем и у группы 3 Гр снижаются на 90% по сравнению с контролем (рисунок 4А). Кроме того, происходит резкое возрастание в три раза количества реакций замирания у крыс, облученных в дозе 3 Гр (рисунок 4Б).

У животных экспериментальных групп снизилось число груминговых реакций и количество дефекаций (показатель эмоциональности), значения оказались статистически незначимыми, иллюстрации не приводятся.

Результаты эксперимента свидетельствуют о том, что облучение протонами сдвигает мотивационную основу поведения животных в сторону превалирования пассивно-оборонительного поведения и реакции страха (Whimbeу и др., 1967; Маркель, 1981). Это ярко иллюстрируют такие данные, как резкое увеличение латентных периодов начала активности в ОП в 2 раза при 1.5Гр, в 3.9 раза при 3 Гр, что представлено на рисунке 4В, а также значительное увеличение количества реакций замирания у крыс, облученных в дозе 3 Гр, представлено на рисунке 4Б.

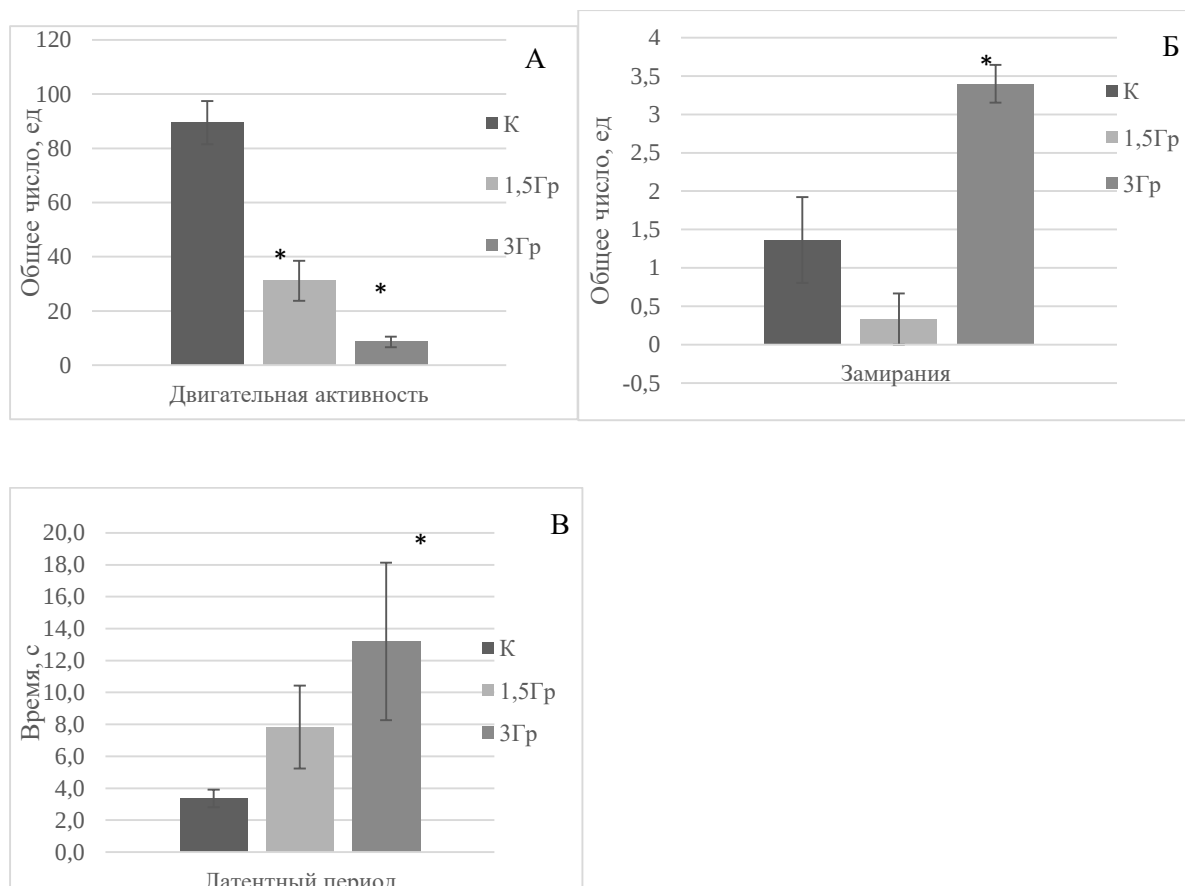


Рисунок 4 Компоненты поведения животных в тесте «открытое поле» у крыс, облученных протонами на пролете, К-контроль, 1,5Гр- группа, облученная 1,5Гр, 3Гр- группа, облученная 3Гр.,

Примечание * - $p < 0.05$, ** - $p < 0.01$

А. Усредненные значения двигательной активности в открытом поле у облученных групп, по сравнению с усредненными значениями двигательной активности у контроля.

Б. Усредненные значения числа реакций замирания в открытом поле у облученных групп, по сравнению с усредненными значениями реакций замирания у контроля.

В. Усредненные значения длительности латентного периода в открытом поле у облученных групп, по сравнению с усредненными значениями длительности латентного периода в открытом поле у контроля

Результаты обучения крыс экспериментальных групп в Y-образном лабиринте представлены на рисунках 5-7. Крысы, подвергшиеся облучению протонами в дозе 1.5 Гр, по отдельным показателям обучались даже успешнее, чем контрольные животные. Так число правильных реакций избегания у них нарастало быстрее (данные представлены на рисунке 5А), а по числу правильных реакций избавления контрольные животные сравнивались с животными этой экспериментальной группы только к концу обучения, данные представлены на рисунке 5Б.

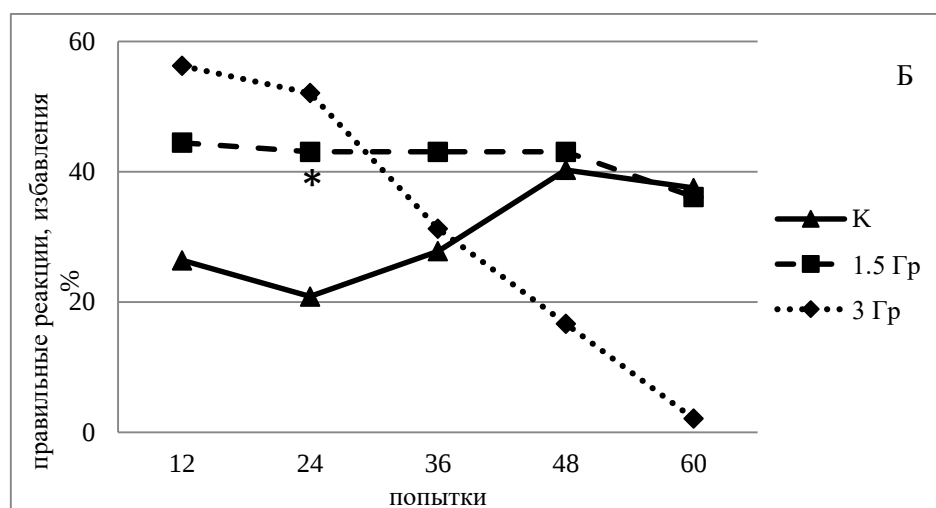
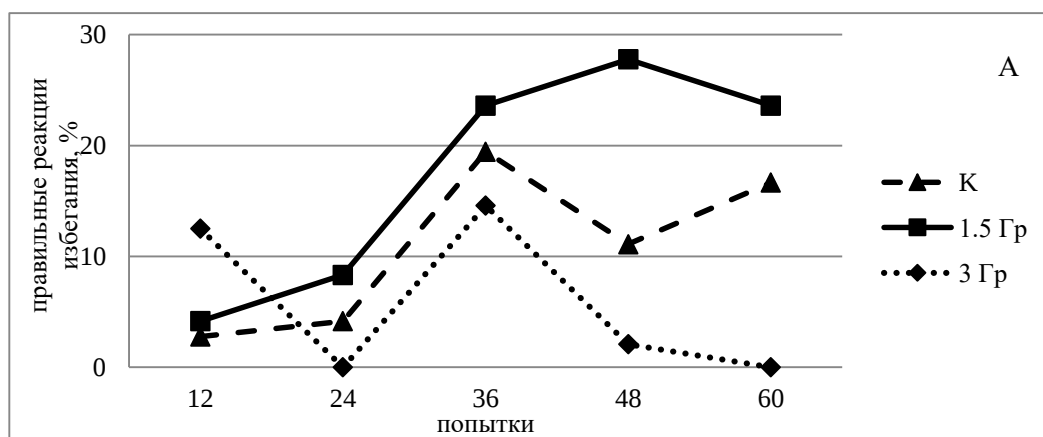


Рисунок 5 Кривая обучения в Y-образном лабиринте, крыс, облученных протонами на пролете, правильные реакции.

А. Динамика числа правильных реакций избегания в Y-образном лабиринте.

Б. Динамика числа правильных реакций избавления в Y-образном лабиринте.

К- показатели животных группы контроль, 1.5 Гр,- показатели животных группы, поглощенная доза которых равняется 1.5Гр, 3 Гр- показатели животных группы, поглощенная доза которых равняется 3Гр.

*Примечание * - $p < 0.05$*

В то же время, по числу ошибочных реакций избегания, облученные крысы превышали показатели контроля (данные представлены на рисунке 6А), а по числу ошибочных реакций избавления существенно от них не отличались (данные представлены на рисунке 6Б); в обоих случаях показатели животных всех экспериментальных групп уравнивались к концу сеанса обучения.

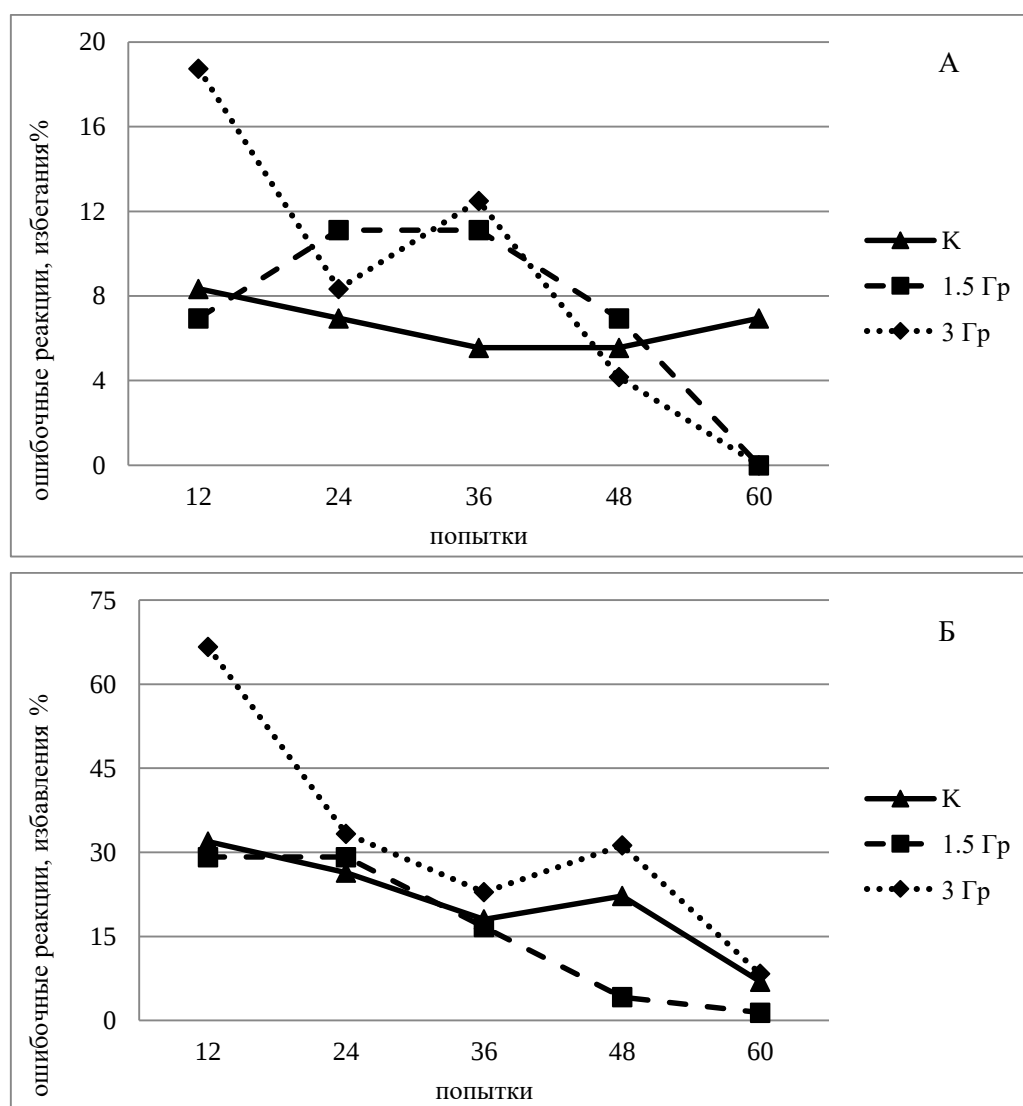


Рисунок 6 Кривая обучения в Y-образном лабиринте крыс, облученных протонами на пролете, ошибочные реакции.

А. Динамика числа ошибочных реакций избегания в Y-образном лабиринте.

Б. Динамика числа ошибочных реакций избегания в Y-образном лабиринте.

К- показатели животных группы контроль, 1.5 Гр,- показатели животных группы, поглощенная доза которых равняется 1.5Гр, 3 Гр- показатели животных группы, поглощенная доза которых равняется 3Гр

У крыс, облученных в дозе 3 Гр, напротив, показатели обучения были, в целом, ниже контрольных по числу правильных реакций (как избегания, так и избавления) и выше - по числу ошибочных реакций.

Стоит отметить, что у облученных крыс было существенно меньшее количество отказов, данные представлены на рисунке 7. Данный факт не совсем понятен, вероятно это можно объяснить эффектом возбуждения в результате воздействия ионизирующих излучений в небольших дозах (Григорьев, 1958; Кимельдорф, Хант, 1969).

Однако все описанные выше изменения были недостоверны и проявлялись лишь в виде тенденций.

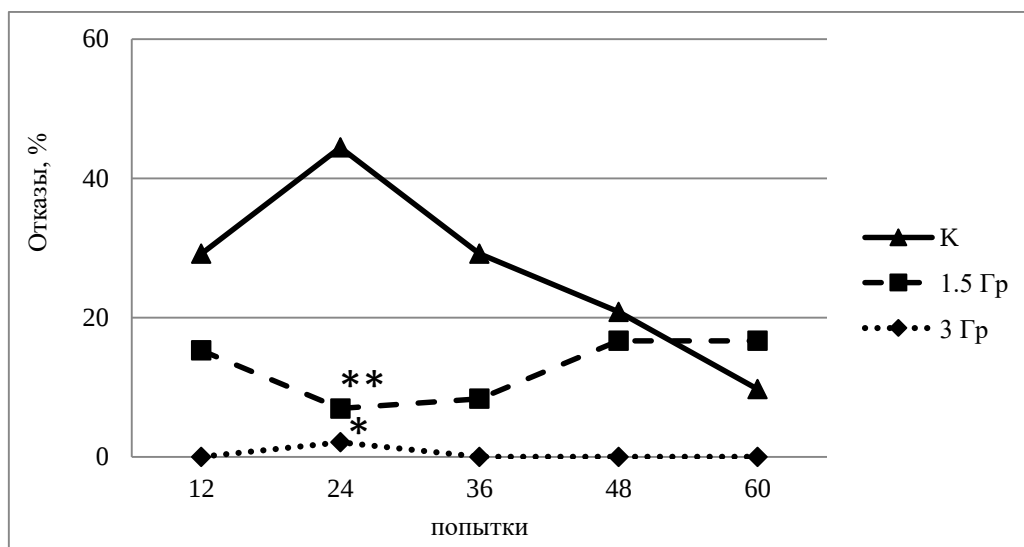


Рисунок 7. Кривая обучения в Y-образном лабиринте крыс, облученных протонами на пролете. Динамика реакции отказа.

К- показатели животных группы контроль, 1.5 Гр,- показатели животных группы, поглощенная доза которых равняется 1.5Гр, 3 Гр- показатели животных группы, поглощенная доза которых равняется 3Гр

*Примечание * - $p < 0.05$, ** - $p < 0.01$.*

Некоторое улучшение обучения животных, облученных в дозе 1.5 Гр, с наибольшей вероятностью можно объяснить эффектом так называемого сужения внимания, описанного ранее в радиобиологии ЦНС, когда наблюдается определенное улучшение условно-рефлекторной деятельности после воздействия ионизирующих излучений за счет подавления исполнительных механизмов двигательной и ориентировочно-исследовательской активности, снижающего афферентную генерализацию (Ушаков, Штемберг, 2007).

Исследование концентрации моноаминов и их метаболитов выявило эффект, соотносящийся с результатами поведения в ОП и тестов на обучение. Воздействие протонами в использованных дозах незначительно повлияло на концентрацию моноаминов и их метаболитов в исследованных структурах мозга.

В таблице 4 представлены результаты влияния облучения протонами на пролете в дозах 1.5 и 3.0 Гр на концентрацию моноаминов и их метаболитов в различных структурах мозга крыс. В префронтальной коре выявлено достоверное уменьшение концентрации СТ в 1.2 раза ($p < 0.05$), при облучении 1.5 Гр и увеличение концентрации метаболита ДА - 3-МТ более чем в 10 раз ($p < 0.05$), при облучении 3 Гр, по сравнению с контрольными животными. Облучение не вызвало каких-либо достоверных изменений в прилежащем ядре, гипоталамусе и стриатуме, однако у животных, облученных в дозе 3 Гр, происходит достоверное повышение концентрации метаболита ДА - 3-МТ в гиппокампе. Префронтальная кора, прилежащее ядро, гипоталамус, гиппокамп и стриатум управляют поведением животных через модификацию активности НА-, ДА- и СТ-систем (Mink, 2003; Базян, Сегал, 2009; Базян и др., 2000). Стриатум реализует сложное поведение, получая глутаматергическую синаптическую информацию от коры, интегрирует ее, запускает таламокортикальные сети через ядра бледного шара и черную субстанцию, и выводит информацию на моторную кору, которая напрямую реализует поведение. Процесс интеграции информации в стриатуме находится под контролем нигростриатной ДА-системы (Mink, 2003; Базян и др., 2011).

Таблица 4 Влияние облучения протонами в дозах 1,5 и 3Гр на концентрацию моноаминов (нмоль/мг ткани) в различных структурах мозга крыс.

	Контроль	1,5 Гр.	3 Гр.
Группы	1	2	3
Префронтальная кора			
НА	0,73±0,03	0,61±0,053	0,60±0,07
ДОФУК	0,17±0,02	0,20±0,04	0,22±0,03
ДА	0,18±0,01	0,27±0,06	0,23±0,03
ГВК	0,15±0,01	0,15±0,02	0,16±0,02
3-МТ	0,003±0,01	0,013±0,006	0,035±0,01*
5-ОИУК	0,68±0,06	0,52±0,05	2,80±0,20*
5-ОТ	3,52±0,25	2,80±0,20*	3,16±0,34
Прилежащее ядро			
НА	1,87±0,59	2,19±0,64	1,83±0,37
ДОФУК	2,82±0,48	1,84±0,16	1,67±0,34
ДА	14,26±2,24	10,3±1,72	9,04±2,61
ГВК	1,00±0,14	0,64±0,09	0,72±0,13
3-МТ	0,14±0,03	0,12±0,02	0,11±0,03
5-ОИУК	1,6±0,16	1,49±0,19	1,41±0,18
5-ОТ	5,22±0,51	5,23±0,64	5,25±0,82
Гипоталамус			
НА	6,59±0,30	6,79±0,22	6,49±0,19
ДОФУК	0,29±0,04	0,26±0,01	0,25±0,01
ДА	1,15±0,11	1,16±0,06	1,16±0,06
ГВК	0,07±0,01	0,05±0,01	0,09±0,04
3-МТ	0,01±0,003	0,01±0,001	0,02±0,01
5-ОИУК	1,75±0,17	1,39±0,08	1,57±0,09
5-ОТ	7,48±0,38	6,92±0,20	7,05±0,13
Стриатум			
НА	0,19±0,04	0,22±0,07	0,13±0,02

ДОФУК	2,66±0,45	2,53±0,16	2,85±0,26
ДА	28,1±3,58	27,55±2,69	30,89±1,24
ГВК	1,80±0,32	1,38±0,11	1,88±0,24
3-МТ	0,30±0,04	0,30±0,03	0,35±0,02
5-ОИУК	1,47±0,13	1,35±0,17	1,47±0,14
5-ОТ	2,91±0,12	3,10±0,03	2,93±0,12
Гиппокамп			
НА	1,21±0,14	1,17±0,06	1,01±0,10
ДОФУК	0,06±0,02	0,05±0,01	0,03±0,01
ДА	0,08±0,02	0,22±0,15	0,07±0,04
ГВК	0,03±0,003	0,03±0,007	0,02±0,006
3-МТ	0,008±0,002	0,007±0,002	0,003±0,001*
5-ОИУК	1,10±0,14	0,94±0,06	1,03±0,05
5-ОТ	3,54±0,27	3,20±0,22	3,23±0,28

Моноаминергические НА-, ДА- и СТ-системы - это модуляторные системы, т.е. системы управления ГАМК- и глутаматергической синаптической передачей и, следовательно, системы управления поведением (Mink, 2003).

Изменение содержания СТ в префронтальной коре хорошо соотносится с данными, полученными в результате теста ОП, поскольку изменения в СТ- системе напрямую затрагивают механизмы тревожного поведения (Albert et al., 2014; Mahar et al., 2014).

Воздействие на животных протонами высоких энергий в Пике Брэгга вызывает более заметные изменения, хотя суммарная поглощенная доза была выбрана ниже, а именно находилась в значениях 1 и 2 Гр. Исходный пул животных, отобранных для исследования в пике Брэгга, оказался высокогетерогенным ($p < 0.001$) что было подтверждено как результатами ОП, так и начальным этапом обучения. Облучение происходило на 5 день обучения животных, при среднем показателе более 50% правильных реакций. Результаты исследования дискриминантного обучения крыс в Т-образном лабиринте представлены на рисунках 8А и 8Б.

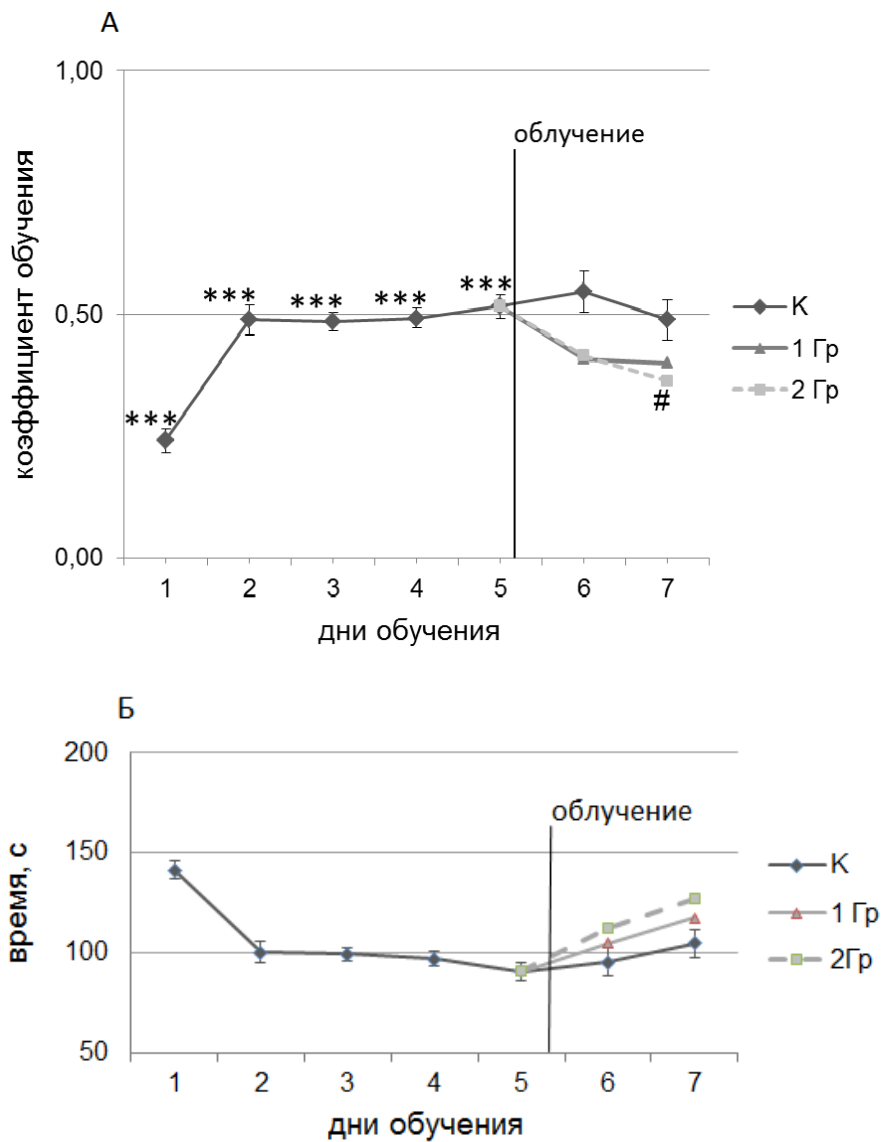


Рисунок 8 Кривая обучения в Т-образном лабиринте животных, облученных в пике Брэгга.

А – коэффициент обучения животных;

Б – время достижения кормушки. К – контрольная группа (n=15); 1 Гр – группа, для которой поглощённая доза ионизирующего излучения составила 1 Гр (n=8), 2 Гр – группа, для которой поглощённая доза ионизирующего излучения составила 2 Гр (n=9). Вертикальная линия “облучение” отсекает дни тестирования после облучения. Коэффициент обучения – отношение числа правильных попыток к общему числу попыток в рамках одного дня-теста.

Примечание *** – $p < 0.001$ (t-критерий Стьюдента для одной выборки); # – $p < 0.016$ (t-критерий Стьюдента).

На 1 день тестирования после облучения наметилась тенденция к снижению эффективности выполнения теста, достигшая значимых различий на 2 день тестирования после облучения для группы крыс, получивших дозу в 2 Гр, – крысы продемонстрировали на 25% ($p<0.01$) меньше правильных реакций, нежели животные контрольной группы.

Результаты выработки и воспроизведения УРПИ представлены на рисунке 9. Все экспериментальные группы показали значительное увеличение времени ($p<0.001$) пребывания в светлом отсеке спустя 30 мин после обучения, однако это время не различалось между группами. В то же время, спустя 7 дней со дня обучения группа крыс, облученных в дозе 2 Гр, не показала снижения времени пребывания в освещённом отсеке, тогда как группа животных, облученных в дозе 1 Гр, и контрольная группа показали снижение времени на 42% ($p=0.035$) и 41% ($p=0.03$) соответственно по сравнению с результатами, полученными спустя 30 минут после обучения.

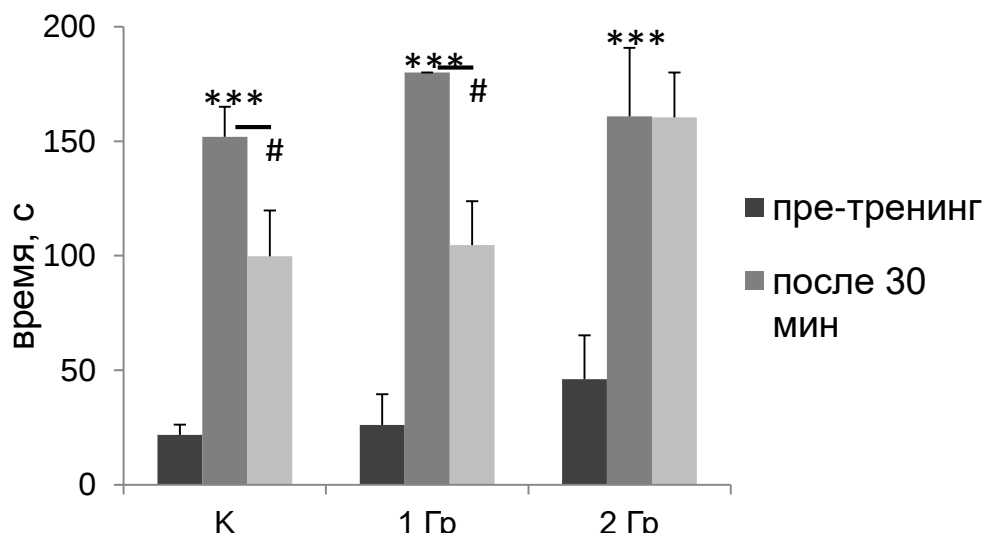


Рисунок 9. Выработка и воспроизведение УРПИ животных, облученных в пике Брэгга. К – контрольная группа ($n=15$); 1 Гр – группа, для которой поглощённая доза ионизирующего излучения составила 1 Гр ($n=8$), 2 Гр – группа, для которой поглощённая доза ионизирующего излучения составила 2 Гр ($n=9$). *Примечание* *** – $p<0.001$ (t-критерий Стьюдента); # – $p<0.05$ (t-критерий Стьюдента для зависимых выборок).

Воздействие высокоэнергетических протонов в пике Брэгга в дозе 2 Гр на животных, обученных в наших экспериментах в Т-образном лабиринте, привело к снижению воспроизведения памятного следа; при этом на 2 день тестирования (на 10 день после облучения) это снижение достигало значимых различий по сравнению с контролем. Таким образом, наблюдается тенденция к прогрессированию нарушений функционирования долговременной рабочей памяти, уже сформированной к моменту облучения. Однако результаты исследования УРПИ свидетельствуют о том, что формирование, хранение и воспроизведение вновь образованного памятного следа не страдает в процессе реакции на облучение. Более того, облучение в дозе 2 Гр привело к значительно лучшему воспроизведению памятного следа на 7 день после облучения.

Стоит отметить, что расхождение результатов может быть следствием использования положительного подкрепления вместо электрического раздражения.

В то же время, облучение в меньшей дозе (1 Гр) приводило к менее значительному ухудшению – снижение коэффициента обучения не достигало достоверного уровня. Таким образом, и при облучении протонами на пролете, и при облучении в пике Брэгга, мы наблюдаем зависимые от дозы облучения эффекты на когнитивные процессы, а именно, на формирование долговременной памяти.

Нейрохимический анализ содержания моноаминов в избранных структурах головного мозга животных, облученных в пике Брэгга, приведен в таблице 5. Полученные данные показывают снижение содержания серотонина (СТ) и дофамина (ДА) в префронтальной коре.

Таблица 5 Концентрация моноаминов и их метаболитов (нмоль/мг ткани) на 2 сутки после облучения протонами в пике Брэгга.

	Контроль	1 Гр.	2 Гр.	$p_t =$	$p_t =$	$p_t =$
Группы	1	2	3	1 к 2	1 к 3	2 к 3
Префронтальная кора						

НА	0,99±0,04	0,84±0,04	0,92±0,05	0,046	0,358	0,258
ДОФУК	0,15±0,01	0,14±0,01	0,15±0,01	0,437	0,883	0,222
ДА	0,34±0,02	0,27±0,02	0,28±0,02	0,016	0,040	0,753
ГВК	0,08±0,01	0,07±0,01	0,08±0,02	0,498	0,962	0,639
3-МТ	0,03±0,01	0,01±0,002	0,02±0,01	0,156	0,493	0,267
5-ОИУК	0,75±0,03	0,68±0,03	0,79±0,07	0,195	0,670	0,220
5-ОТ	6,30±0,27	5,84±0,31	6,18±0,16	0,331	0,783	0,366
ДОФУК/ДА	0,45±0,03	0,54±0,05	0,56±0,04	0,158	0,060	0,755
ГВК/ДА	0,24±0,02	0,27±0,05	0,32±0,08	0,625	0,283	0,642
5-ОИУК/ДА	0,12±0,003	0,12±0,002	0,13±0,01	0,436	0,468	0,408
Прилежащее ядро						
НА	1,49±0,13	1,74±0,30	1,29±0,43	0,404	0,570	0,425
ДОФУК	4,00±0,12	3,90±0,21	3,50±0,46	0,685	0,173	0,458
ДА	32,89±1,11	33,61±1,8	29,35±3,76	0,738	0,256	0,349
ГВК	1,57±0,21	1,15±0,09	1,18±0,2	0,472	0,866	0,874
3-МТ	0,33±0,09	0,23±0,04	0,30±0,16	0,354	0,238	0,610
5-ОИУК	3,13±0,13	2,92±0,17	2,77±0,35	0,205	0,264	0,715
5-ОТ	14,47±0,56	15,33±1,52	12,55±0,73	0,531	0,058	0,139
ДОФУК/ДА	0,12±0,004	0,11±0,01	0,12±0,01	0,413	0,675	0,753
ГВК/ДА	0,05±0,008	0,03±0,002	0,04±0,02	0,230	0,509	0,268
5-ОИУК/ДА	0,22±0,01	0,20±0,01	0,22±0,02	0,311	0,972	0,489
Гипоталамус						
НА	4,22±0,13	3,96±0,10	4,23±0,17	0,212	0,948	0,203
ДОФУК	0,16±0,01	0,16±0,02	0,16±0,01	0,647	0,798	0,835
ДА	1,28±0,06	1,3±0,09	1,3±0,08	0,899	0,881	0,987
ГВК	0,06±0,01	0,06±0,02	0,06±0,01	0,725	0,907	0,828
3-МТ	0,01±0,002	0,02±0,01	0,01±0,002	0,102	0,928	0,230
5-ОИУК	1,67±0,05	1,54±0,06	1,69±0,08	0,123	0,627	0,194
5-ОТ	8,12±0,18	7,75±0,36	8,34±0,28	0,337	0,537	0,246
ДОФУК/ДА	0,13±0,01	0,12±0,01	0,13±0,004	0,381	0,545	0,699
ГВК/ДА	0,05±0,004	0,05±0,01	0,05±0,01	0,916	0,859	0,852
5-ОИУК/ДА	0,21±0,01	0,20±0,004	0,20±0,01	0,394	0,599	0,808

Стриатум						
НА	0,17±0,03	0,28±0,06	0,17±0,03	0,090	0,986	0,138
ДОФУК	3,44±0,09	3,32±0,14	3,21±0,16	0,485	0,111	0,632
ДА	54,14±1,10	48,95±5,46	53,92±1,71	0,223	0,244	0,425
ГВК	1,97±0,09	2,05±0,26	1,68±0,10	0,746	0,064	0,229
3-МТ	0,32±0,02	0,3±0,04	0,26±0,02	0,427	0,023	0,523
5-ОИУК	1,80±0,09	1,88±0,12	1,63±0,08	0,630	0,151	0,118
5-ОТ	6,30±0,2	5,97±0,65	6,00±0,23	0,547	0,293	0,968
ДОФУК/ДА	0,06±0,001	0,11±0,05	0,06±0,002	0,152	0,945	0,309
ГВК/ДА	0,04±0,001	0,11±0,07	0,03±0,001	0,155	0,456	0,319
5-ОИУК/ДА	0,29±0,01	0,79±0,5	0,27±0,01	0,153	0,335	0,337
Гиппокамп						
НА	1,26±0,05	1,17±0,07	1,11±0,05	0,284	0,081	0,540
ДОФУК	0,08±0,01	0,06±0,01	0,05±0,01	0,286	0,216	0,711
ДА	0,10±0,02	0,09±0,01	0,11±0,02	0,795	0,608	0,469
ГВК	0,07±0,02	0,06±0,02	0,06±0,03	0,712	0,782	0,960
3-МТ	0,03±0,02	0,03±0,01	0,03±0,01	0,655	0,771	0,746
5-ОИУК	1,28±0,04	1,23±0,05	1,25±0,10	0,635	0,825	0,904
5-ОТ	4,26±0,11	4,25±0,21	0,27±0,24	0,946	0,604	0,752
ДОФУК/ДА	0,99±0,09	0,92±0,27	0,72±0,23	0,760	0,223	0,621
ГВК/ДА	0,76±0,12	0,78±0,20	0,71±0,26	0,901	0,848	0,825
5-ОИУК/ДА	0,30±0,01	0,29±0,01	0,30±0,02	0,725	0,899	0,680

Нарушения обучения, базирующегося на рабочей памяти, вследствие целевой инъекции агонистов и антагонистов дофаминовых рецепторов или локального снижения содержания дофамина в области префронтальной коры (Arnsten et al., 1994; Sawaguchi, Goldman-Rakic, 1991), подтверждают центральную роль дофаминергической нейромедиации в исследуемых процессах обучения. Кроме того, известно, что нейромедиация вовлечена в активацию эмоциональной системы, вызывающей процесс воспроизведения памятного следа (Molodtsova, 2005).

Нейрохимические изменения в моноаминергической системе головного мозга крыс в результате облучения ^{12}C представлены в таблице 6.

Воздействие ионов ^{12}C показало достоверное однонаправленное снижение концентрации ДА в прилежащем ядре (до 45.3%). В других структурах также происходит снижение концентрации исследуемых веществ, но эти изменения, в большинстве случаев, недостоверны. Концентрация ЗМТ (метаболита ДА) снижается до 48.5%, концентрация ДОФУК (также метаболит ДА) снижается до 73.5%, недостоверно для обоих. Концентрация НА увеличивается до 136.9%, но недостоверно, а серотонина (5ОТ) и его метаболита 5ОИУК уменьшается до 97.3% и 89.3% соответственно, т.е. практически не изменяется. Воздействие ионов ^{12}C выявляет тенденцию значительного снижения в гиппокампе концентрации ДА и его метаболитов. Концентрация ДОФУК уменьшается до 31.3%, ДА – до 21.2%, а ГВК – до 33.3%, но все эти изменения недостоверны. В гиппокампе концентрации НА, 5ОИУК и 5ОТ уменьшаются до 75.2, 71.2 и 80.9% соответственно. В гипоталамусе наблюдается слабо выраженное снижение концентрации большинства веществ. Концентрации НА, ДОФУК, ДА, 5ОИУК и 5ОТ снизились до 94.2, 94.1, 83.0, 94.2 и 89.6% соответственно. Концентрации ГВК и ЗМТ практически не изменились. Изменения концентраций исследуемых веществ в стриатуме также были недостоверны, но направленность этих изменений принципиально отличалась от таковой в предыдущих структурах. Концентрации НА, ДОФУК, ГВК и ЗМТ под влиянием облучения ионами углерода повышались до 153.19, 111.56, 207.92 и 145.95% соответственно. Концентрация ДА практически не менялась (98.14%), а концентрации 5ОИУК и 5ОТ снижались до 92.05 и 91.59% соответственно.

Таблица 6 Влияние облучения тяжелыми частицами, ионами углерода (^{12}C), на концентрацию моноаминов и их метаболитов в различных структурах мозга крыс (нмоль/мг ткани).

Группы животных	НА	ДОФУК	ДА	ГВК	З-МТ	5-ОИУК	СТ
Префронтальная кора							
1 Контрольные (n = 6)	1.26 ± 0.1	0.26 ± 0.02	0.41 ± 0.03			0.93 ± 0.07	3.31 ± 0.13

2 Облученные (n = 6)	0.89 ± 0.11* P = 0.05	0.18 ± 0.03* P = 0.015	0.33 ± 0.05			0.70 ± 0.06* P = 0.021	2.27 ± 0.43* P = 0.018
Прилежащее ядро							
1 Контрольные (n = 6)	3.36 ± 0.99	3.62 ± 0.81	35.16 ± 6.21	1.31 ± 0.31	0.33 ± 0.10	3.46 ± 0.32	6.39 ± 1.12
2 Облученные (n = 6)	4.60 ± 0.99	2.66 ± 0.43	15.91 ± 4.72* P = 0.048	0.98 ± 0.20	0.16 ± 0.06	3.09 ± 0.26	6.22 ± 0.85
Гиппокамп							
1 Контрольные (n = 6)	2.54 ± 0.21	0.16 ± 0.05	0.52 ± 0.28	0.09 ± 0.04		2.29 ± 0.38	3.77 ± 0.53
2 Облученные (n = 6)	1.91 ± 0.42	0.05 ± 0.01	0.11 ± 0.02	0.03 ± 0.01		1.63 ± 0.22	3.05 ± 0.48
Гипоталамус							
1 Контрольные (n = 6)	9.21 ± 1.48	0.34 ± 0.04	2.23 ± 0.19	0.08 ± 0.01	0.05 ± 0.01	2.07 ± 0.18	6.53 ± 0.53
2 Облученные (n = 6)	8.68 ± 0.78	0.32 ± 0.03	1.85 ± 0.10	0.08 ± 0.01	0.05 ± 0.02	1.95 ± 0.13	5.85 ± 0.33
Стриатум							
1 Контрольные (n = 6)	0.94 ± 0.31	3.20 ± 0.62	43.98 ± 5.20	2.40 ± 0.44	0.37 ± 0.10	1.51 ± 0.06	2.26 ± 0.12
2 Облученные (n = 6)	1.44 ± 0.48	3.57 ± 0.46	43.16 ± 5.37	4.99 ± 1.61	0.54 ± 0.10	1.39 ± 0.12	2.07 ± 0.21

Таким образом, данные, полученные при облучении мозга крыс ионами углерода ^{12}C , имеют принципиальное значение. Выявлена высокая чувствительность и реактивность префронтальной коры относительно других структур мозга.

Известно, что при замедлении прохождения и остановки заряженных частиц в пике Брэгга, в зависимости от природы частицы, происходит резкое возрастание удельной ионизации и, соответственно, относительной биологической эффективности (Ярмоненко, 2004). Этим феноменом можно объяснить значительно более существенное влияние на содержание моноаминов и их метаболитов при облучении в пике Брэгга по сравнению с облучением протонами на пролете и углеродом.

В итоге, воздействие протонов с различными значениями поглощенных доз вызывает нарушения в процессах обучения и усиление тревожности, что отражается

и на моноаминергической системе головного мозга крыс. Изменения в моноаминергической системе префронтальной коры после облучения ^{12}C позволяют предположить возникновение изменений в процессах обучения и памяти в связи с вовлечением данной структуры в сложные когнитивные процессы.

Воздействие протонов в пике Брэгга вызывает существенные нарушения по сравнению с облучением протонами на пролете, даже при меньших значениях доз.

3.2 Изменение поведения животных и концентрации моноаминов при влиянии антиортостатического вывешивания и однократной перегрузки у мышей.

Для оценки влияния антиортостатического вывешивания на поведение мышей и концентрацию моноаминов нами были проведены две независимые серии экспериментов. Длительность АНОВ в обеих сериях составляла 30 суток. В первой серии, в качестве моделируемого фактора, использовали только АНОВ. Во второй серии, параллельно с АНОВ (группа АНОВ) оценивали влияние совместного последовательного воздействия АНОВ и однократного вращения на центрифуге, как пример моделирования перегрузки (группа АНОВ+ЦФ).

Исходя из анализа компонентов поведения животных в ОП были посчитаны средние значения для всех показателей разных групп в разных сериях, далее было проведено сравнение результатов данных двух серий по отдельным поведенческим компонентам. Гистограммы сравнения средних показателей, полученных при тестировании в ОП, представлены на рисунке 10.

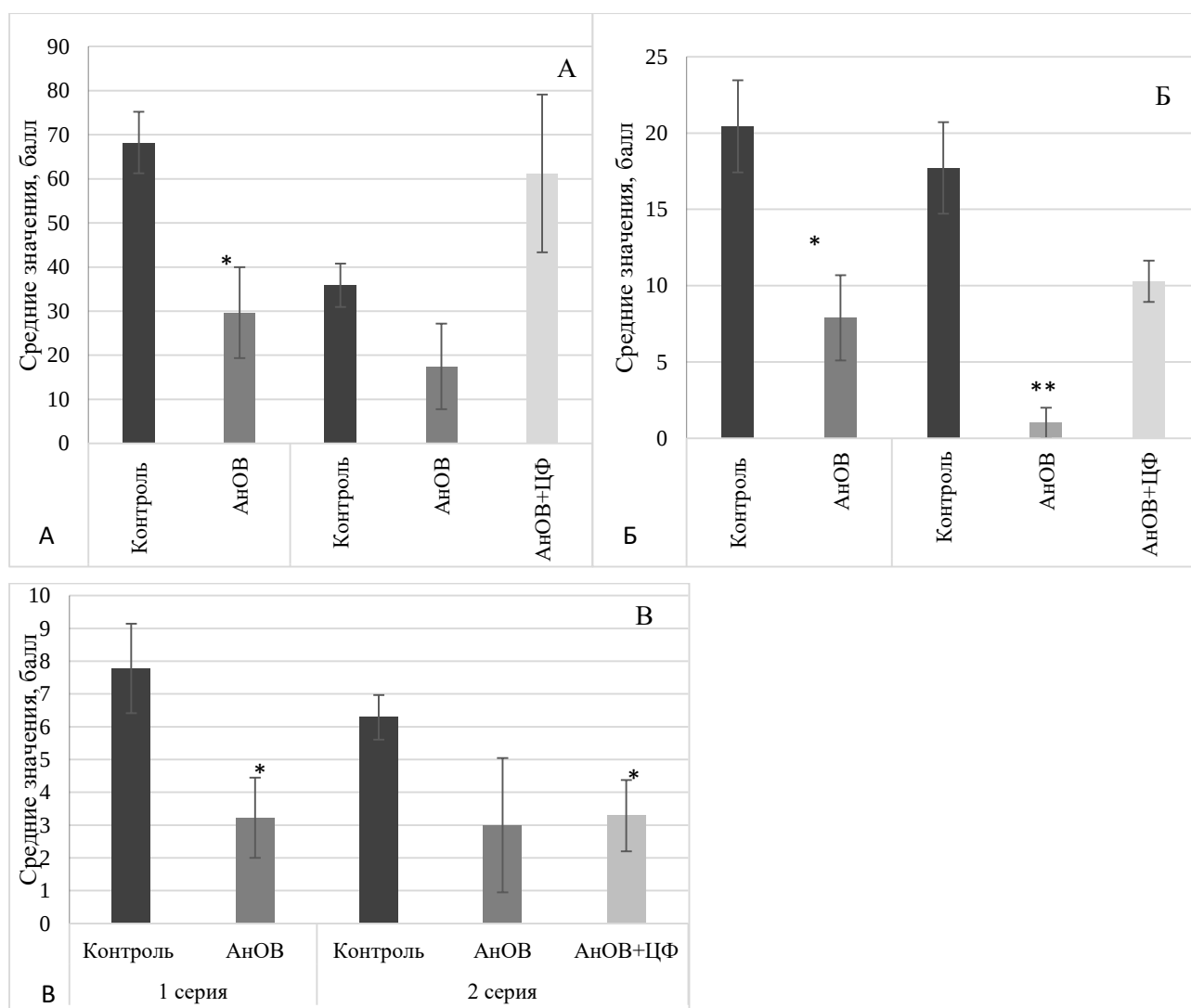


Рисунок 10. Усредненные результаты поведенческих компонентов, полученных в тесте открытое поле, в двух сериях экспериментов с мышами. Группы 1 серии – контроль, АнОВ – группа, подвергнутая 30 суточному вывешиванию, Группы 2 серии – контроль, АнОВ – группа, подвергнутая 30 суточному вывешиванию, АнОВ+ЦФ – группа, подвергнутая последовательному комбинированному воздействию 30 суточного вывешивания и однократному вращению на центрифуге.

А Сравнение средних значений горизонтальной двигательной активности;

Б. Сравнение средних значений норковых реакций;

В Сравнение средних значений выходов в центр;

Ось у – усредненные абсолютные значения числа пересеченных квадратов для рисунка А, числа поведенческих актов для рисунков Б и В.

Примечание * - $p < 0.05$, ** – $p < 0.001$

Результаты ОП свидетельствуют о снижении горизонтальной двигательной активности у группы АНОВ в первой серии эксперимента в 2,3 раза, по сравнению с контролем ($p=0.0099$). Во второй серии эксперимента также наблюдается снижение двигательной активности в 2 раза у группы АНОВ. Число стоек в ОП имеет тенденцию к возрастанию (увеличивается в 1,7 раза, в обеих сериях). Среднее значение норковых реакций уменьшается у групп АНОВ в обеих сериях эксперимента, в 2,5 и в 17 раз соответственно, достоверно в обоих случаях ($p=0.007$ и 0.00001 соответственно). При этом средние значения норковых реакций у группы АНОВ+ЦФ, во второй серии эксперимента недостоверно отличаются от контроля (в 1,7 раза). Среднее число выходов в центр уменьшается у всех экспериментальных групп: у группы АНОВ 1 серии - в 2,4 раза ($p=0.02$) и в 1,9 раз ($p=0.037$) у группы АНОВ+ЦФ 2 серии, у группы АНОВ 2 серии снижение оказывается меньшим (в 2 раза).

Исследование поведения животных экспериментальных групп обеих серий в тесте ОП свидетельствует о снижении активных компонентов поведения и возрастании тревожности и пассивно-оборонительного поведения. При этом однозначных различий при сравнении двух серий экспериментов нет, однако можно предположить разнонаправленность двух исследуемых моделируемых ФКП, так как показатели группы АНОВ+ЦФ в открытом поле ближе по своим значениям к контролю, нежели значения животных, подвергнутых только воздействию АНОВ. Кроме того, сходную реакцию в открытом поле можно наблюдать после стрессорных воздействий (Cryan, et al., 2005).

За время адаптации в системе Intellicage у группы АНОВ наблюдается значительное (на 46 % по сравнению с контролем) снижение общей двигательной активности, в то время как у группы АНОВ+ЦФ этого не происходит. Усредненные данные активности за первые дни в системе Intellicage представлены на рисунке 11.

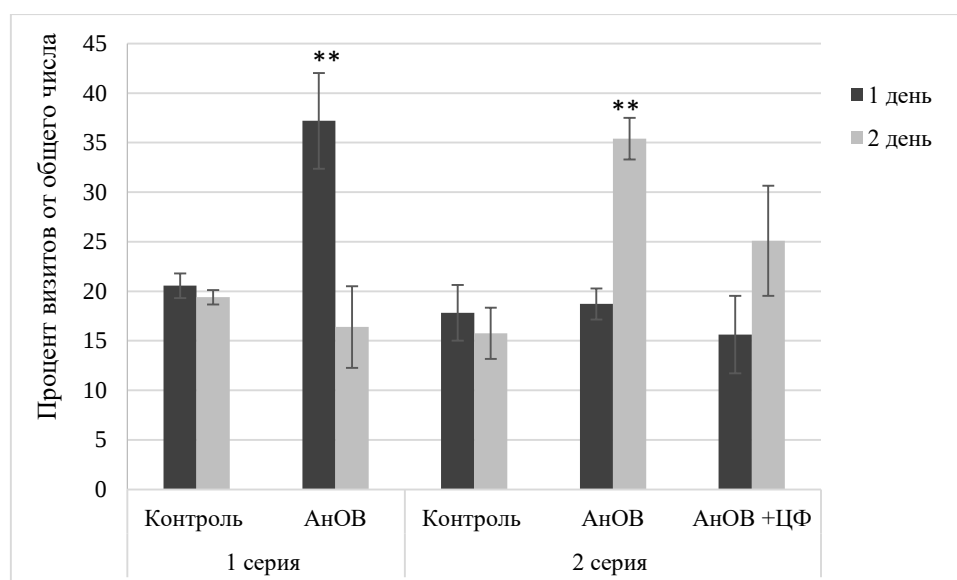


Рисунок 11. Усредненные данные, активность мышей в системе Intellicage в первые дни адаптации к системе; данные представлены как процент от общего числа визитов за весь период адаптации. Группы 1 серии – контроль, АнОВ – группа, подвергнутая 30 суточному вывешиванию, Группы 2 серии – контроль, АнОВ – группа, подвергнутая 30 суточному вывешиванию, АнОВ+ЦФ – группа, подвергнутая последовательному комбинированному воздействию 30 суточного вывешивания и однократному вращению на центрифуге.

Примечание * - $p < 0.05$, ** – $p < 0.001$

Время адаптации составляло 4 дня, но, поскольку значимые отличия присутствуют только в первые два дня, то они представлены в виде гистограммы.

Исходя из данных гистограммы, в первой серии эксперимента у группы АнОВ за первый день происходит наибольшее количество визитов (37% от общего числа), что достоверно отличается как от контрольной группы в первый и второй дни, так и от группы АнОВ во второй день ($p = 0.006$, 0.02 , 0.001 , соответственно). Однако во второй серии эксперимента большинство визитов у группы АнОВ происходит во второй день (35% от общего числа), что достоверно больше, чем показатели в первый день и в любой другой день у контрольной группы и группы АнОВ+ЦФ ($p = 0.02$, 0.002 соответственно). Примечателен тот факт, что активность во второй день у группы АнОВ+ЦФ также наибольшая (составляет 25 %) в сравнении с активностью

контрольной группы и активностью группы АноВ+ЦФ в первый день, однако это отличие недостоверно.

Для оценки стереотипии поведения животных в период адаптации полученные данные были преобразованы следующим образом: считали среднюю стереотипию, которая заключается в отклонении по модулю значений предпочтений в процентах от 25, эти отклонения складывали и получали условную величину, характеризующую стереотипность поведения мыши: чем она больше, тем более стереотипно поведение (посещает только 1 угол из 4); чем она меньше, тем более равномерно посещение углов. Для наглядности построения графиков шкала приведена к 1, где 0 – равное посещение всех углов (стереотипность отсутствует); 1 – выбор исключительно 1 угла (максимальная стереотипность поведения)

Стереотипия поведения представлена на рисунке 12. Исходя из приведенного математического анализа следует, что наибольшую стереотипию проявляет группа АноВ во второй день, что достоверно отличается от остальных показателей первой серии эксперимента ($p = 0.01, 0.001, 0.0002, 0.004$).

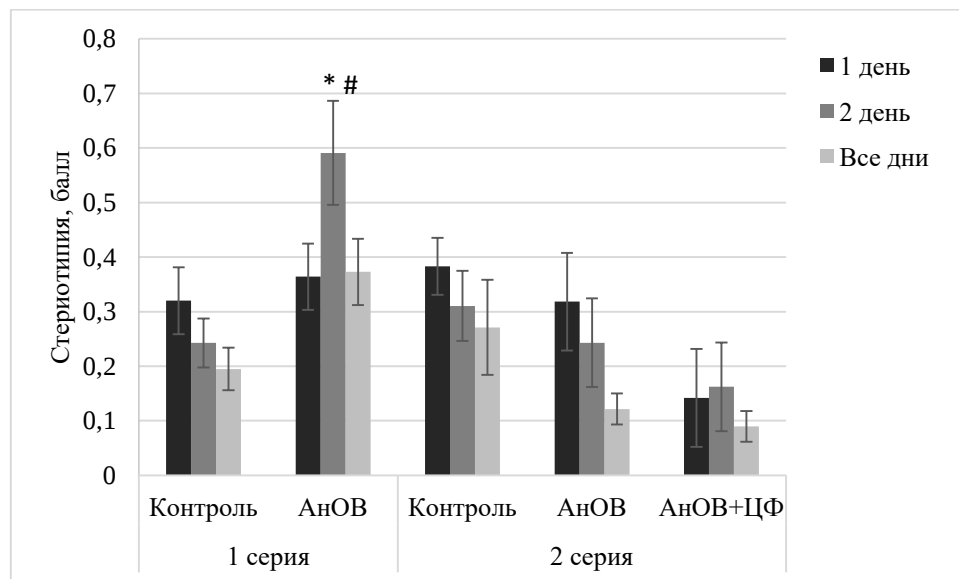


Рисунок 12. Стереотипия в поведении мышей в системе Intellicage, анализ предпочтений за первые дни адаптации и за весь период. Группы 1 серии – контроль, АноВ – группа, подвергнутая 30 суточному вывешиванию, Группы 2 серии – контроль, АноВ – группа, подвергнутая 30 суточному вывешиванию, АноВ+ЦФ – группа, подвергнутая последовательному комбинированному воздействию 30

суточного вывешивания и однократному вращению на центрифуге Шкала у – относительные значения стереотипии, от 0 – 1, где 0 – равномерное посещение всех поилок, 1 – предпочтение лишь одной поилки

*Примечание * - $p < 0.05$, # – $p < 0.05$, отличие внутри группы.*

В процессе адаптации в системе Intellicage все животные освоились, о чем свидетельствует посещение всех углов за время эксперимента мышами всех групп обеих серий экспериментов.

Сравнение процессов локомоторной адаптации в системе Intellicage также показывает усиление тревожности у групп АНОВ, поскольку достоверное большинство посещений углов было предпринято только в один из дней периода адаптации.

Интересен тот факт, что в первой и второй серии эксперимента день наибольшей активности отличается; так, в первой серии он приходится на первый день, а во второй наибольшая активность приходится на вторые сутки. Однозначное объяснение данного факта невозможно в связи с недостаточным количеством данных. В качестве гипотетической причины данного различия могут выступать любые факторы влияния - как связанные с воздействием ФКП, так и нет. К примеру, стресс оказывает порой разнонаправленные влияния в зависимости от конкретной ситуации (Sandi и др., 2007). Кроме того, это может быть связано с индивидуальными различиями нейрохимических или иных особенностей разных пометов мышей одной линии.

Снижение исследовательской активности животных может быть расценено как реакция на стресс (Krasnow et al., 2010); кроме того, можно предположить, что поведение животных групп АНОВ было более импульсивно, чем у контрольной группы или группы АНОВ+ЦФ. В процессах адаптации, как и в открытом поле, отмечается компенсаторный эффект воздействия ЦФ к воздействию АНОВ, что говорит о разной направленности влияния данных факторов. Еще одним доказательством этого может служить анализ общей локомоторной активности.

Было отмечено возникновение стереотипии в поведении. В первой серии эксперимента стереотипия проявляется сильнее, чем во второй. Однако подобный факт может быть связан с меньшим общим числом визитов у групп АнОВ, нежели у контрольной.

По результатам первой серии эксперимента никаких значимых изменений в системе моноаминов замечено не было. В то же время во второй серии эксперимента наблюдаются достоверные отличия как в концентрации моноаминов и их метаболитов, так и в их соотношениях.

Для оценки вовлеченности в наблюдаемые процессы была проведена оценка работы дофаминергической системы головного мозга мышей. Результаты концентрации моноаминов и их метаболитов в головном мозге животных первой серии эксперимента представлены в таблице 7. В связи с незначительным количеством достоверных отличий результаты не проиллюстрированы. На рисунке 13 проиллюстрированы наиболее существенные изменения в работе моноаминергической системы головного мозга мышей второй серии эксперимента. Таблица 7. Концентрация моноаминов и их метаболитов (нмоль/мг ткани) в головном мозге мышей первой серии эксперимента, группы контрольная и АнОВ, подвергнутая 30 суточному вывешиванию и опытной группы.

	Префронтальная кора		Величины Р
	Контроль (n = 4)	Опыт (n = 8)	p _t =
группы	1	2	1 к 2
НА	0,94 ± 0,06	1,37 ± 0,35	0,457
ДОФУК	0,20 ± 0,007	0,19 ± 0,02	0,736
ДА	0,26 ± 0,04	0,30 ± 0,06	0,659
ГВК	0,27 ± 0,04	0,36 ± 0,04	0,296
5-ОИУК	1,76 ± 0,07	1,76 ± 0,27	0,998

5-ОТ	$3,61 \pm 0,25$	$3,74 \pm 0,24$	0,762
	Гипоталамус		Величины Р
	Контроль (n = 4)	Опыт (n = 8)	$p_t =$
	1	2	1 к 2
НА	$0,13 \pm 0,03$	$3,64 \pm 0,21$	0,285
ДОФУК	$0,69 \pm 0,08$	$0,62 \pm 0,02$	0,377
ДА	$1,44 \pm 0,17$	$1,54 \pm 0,13$	0,668
ГВК	$0,78 \pm 0,08$	$0,76 \pm 0,05$	0,802
3-МТ	$0,06 \pm 0,02$	$0,07 \pm 0,02$	0,786
5-ОИУК	$6,89 \pm 0,48$	$6,63 \pm 0,29$	0,665
5-ОТ	$7,53 \pm 0,11$	$7,71 \pm 0,18$	0,554
	Стриатум		Величины Р
	Контроль (n = 4)	Опыт (n = 8)	$p_t =$
	1	2	1 к 2
ДОФУК	$4,1 \pm 0,45$	$3,53 \pm 0,10$	0,1703
ДА	$59,6 \pm 4,17$	$61,55 \pm 2,22$	0,6887
ГВК	$4,74 \pm 0,46$	$4,56 \pm 0,23$	0,5935
3-МТ	$0,75 \pm 0,04$	$0,58 \pm 0,05$	0,0865
5-ОИУК	$4,75 \pm 0,35$	$5,10 \pm 0,22$	0,4405
5-ОТ	$3,85 \pm 0,18$	$4,46 \pm 0,10$	<u>0,0135</u>
	Гиппокамп		Величины Р
	Контроль (n = 4)	Опыт (n = 8)	$p_t =$
	1	2	1 к 2
НА	$0,44 \pm 0,13$	$0,73 \pm 0,06$	0,0610
ДОФУК	$0,14 \pm 0,04$	$0,21 \pm 0,07$	0,5673

ДА	$0,17 \pm 0,03$	$0,41 \pm 0,10$	0,1525
ГВК	$0,22 \pm 0,04$	$0,20 \pm 0,04$	0,8129
5-ОИУК	$5,41 \pm 0,51$	$4,83 \pm 0,28$	0,3445
5-ОТ	$4,36 \pm 0,17$	$4,46 \pm 0,24$	0,8038

Примечание: Достоверные отличия подчеркнуты, отличия на грани достоверности выделены курсивом.

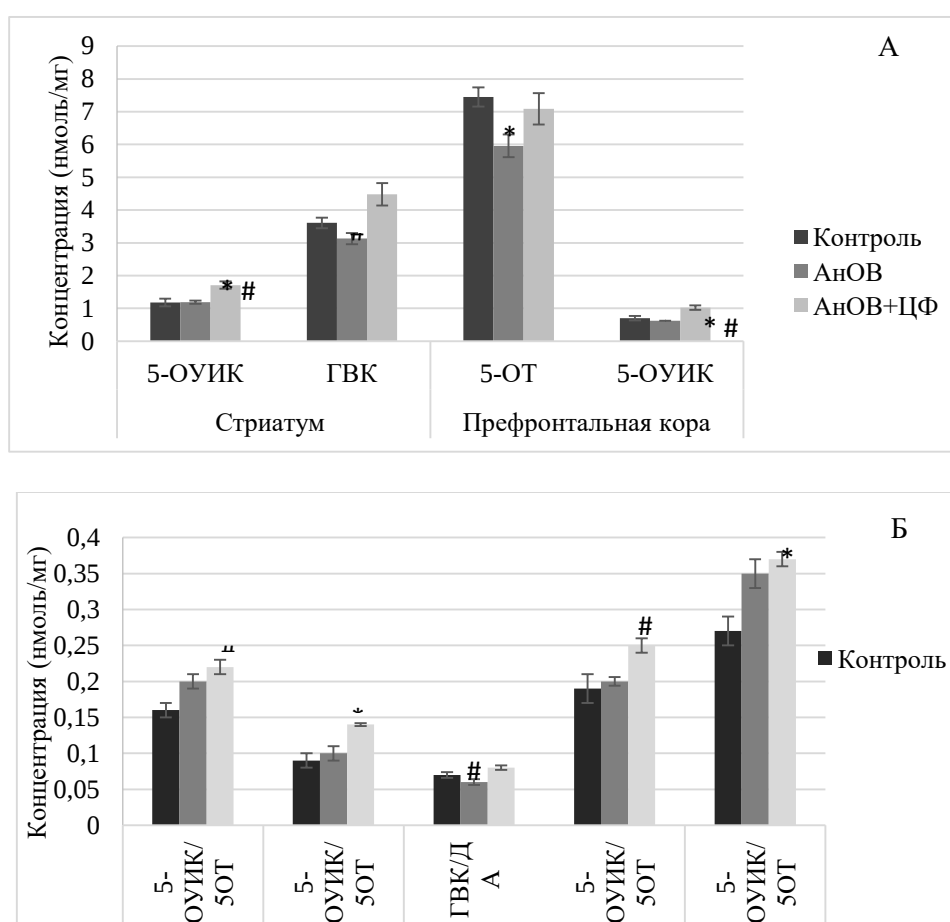


Рисунок 13 Содержание моноаминов и их метаболитов в тканях головного мозга мышей второй серии эксперимента. По оси у – концентрация нмоль/мг. Группы - контроль, АНОВ – группа, подвергнутая 30 суточному вывешиванию, АНОВ+ЦФ – группа, подвергнутая последовательному комбинированному воздействию 30 суточного вывешивания и однократному вращению на центрифуге

А – содержание моноаминов в стриатуме и префронтальной коре, которые имеют достоверные изменения. Б. – соотношения содержания метаболитов моноаминов, в гипоталамусе, префронтальной коре, стриатуме и гиппокампе, которые имеют достоверные изменения. *Примечание* * - $p < 0.05$, # – $p < 0.05$ отличие между группами АноВ и АноВ+ЦФ

В исследованных структурах мозга мышей обнаружены достоверные изменения, которые преимущественно относятся к метаболизму серотонина и, в значительно меньшей степени, к метаболизму дофамина. В префронтальной коре обнаружено достоверное уменьшение концентрации СТ у мышей группы АноВ относительно контрольных.

В то же время соотношение 5ОИУК/СТ (интенсивность 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 не обнаружено, но выявлено достоверное уменьшение метаболизма ДА (соотношение ГВК/ДА у мышей группы АноВ относительно мышей группы АноВ + ЦФ и увеличение соотношения 5ОИУК/СТ у группы АноВ + ЦФ по отношению к контролю).

В гипоталамусе также обнаружено значимое повышение интенсивности метаболизма серотонина (соотношение 5ОИУК/СТ) в группе АноВ+ЦФ по сравнению с контролем.

В стриатуме обнаружены значимые изменения метаболизма серотонина и дофамина: выявлено значимое повышение концентрации метаболита серотонина (5ОИУК) в группе АноВ+ЦФ по сравнению с группой АноВ и по сравнению с контрольной группой и увеличение соотношения 5ОИУК/СТ в группе АноВ + ЦФ по сравнению с группой АноВ; наблюдается увеличение концентрации метаболита ДА ГВК и соотношения ГВК/ДА по сравнению с группой АноВ.

Поскольку стереотипное поведение напрямую связано с дофаминергической системой, о чем свидетельствует появление стереотипии после введения амфетамина

(FigueO a et al. 2014; Jensen et al. 2016), можно предположить изменения и в биохимии головного мозга, однако анализ содержания моноаминов в исследованных структурах (префронтальной коре, гипоталамусе, стриатуме и гиппокампе) не выявил существенных различий в дофаминергической системе.

В то же время во второй серии эксперимента выбранные ФКП оказали большее влияние на моноаминергическую систему - НА, ДА и СТ - и их метаболиты (ДОФУК, ГВК, 3-МТ и 5ОИУК). Наиболее чувствительной оказалась серотонинергическая система, поскольку основные изменения коснулись процессов метаболизма данного медиатора, что может быть связано с развитием депрессивного состояния после воздействия. В префронтальной коре наблюдается снижение уровня серотонина, сходное с процессами, происходящими в префронтальной коре после стрессирующего воздействия (Albert et al., 2014; Andolina et al., 2013), что соответствует усилению тревожности наблюдаемой у группы АноВ.

В процессах, связанных с формированием депрессии, помимо префронтальной коры также участвует и миндалина. Основными медиаторами, связанными с подобными состояниями, считаются моноамины, однако ряд клинических исследований показывает причастность ГАМК и глутаматергических систем к регуляции депрессивных состояний. Одним из предполагаемых путей регуляции может быть активация связей медиально-префронтальной коры и миндалины через 5HT1 рецепторы (Andolina et al., 2013). Это предположение интересно и заслуживает дальнейшего изучения, особенно в свете наличия данных об изменении содержания ГАМК и увеличении глутамата после вывешивания (Wang et al., 2015).

Примечателен тот факт, что и в рамках серотонинергической системы префронтальной коры мы также видим компенсаторный эффект фактора ЦФ к АноВ, аналогично процессам поведения. Однако, при комбинированном воздействии, происходит увеличение метаболита серотонина, свидетельствующее об ускорении обменных процессов в головном мозге после выбранного воздействия.

Мы пришли к выводу, что воздействие моделируемой невесомости вызывает увеличение тревожности, наблюдаемое как в поведении, так и в небольших

отклонениях в работе серотонинергической системы в префронтальной коре, однако фактор ЦФ оказывает слабое компенсаторное воздействие на фактор АноВ.

3.3 Изменение поведения животных и нейрохимических механизмов, при комбинированном воздействии ионизирующих излучений и АноВ

В рамках данной работы было проведено сравнение результатов трех различных экспериментов, моделирующих одновременное комбинированное воздействие с различной длительностью факторов (облучения и вывешивания).

Было проведено три независимые серии экспериментов, с одинаковыми условиями воздействия ионизирующего излучения, доза облучения протонами составила 1.5 Гр, энергия протонов 170 МэВ, суммарная доза гамма-облучения составила 3.0 Гр и была равномерно разделена на весь период комбинированного воздействия, длительность которого зависела от длительности вывешивания.

Таким образом, анализировались три группы комбинированного воздействия АноВ и облучения, длительностью 7 суток, 14 суток и 30 суток.

Так как для оценки влияния на поведение использовались различные тесты в каждой серии экспериментов, провести полноценное сравнение всех тестов оказалось невозможным. Сначала мы рассмотрим сравнение одинаковых тестов в разных сериях эксперимента приведенных к общему параметру (доля от контрольного значения), а затем проанализируем результаты индивидуальных тестов всех серий.

Сравнение результатов теста ОП, достоверных отличий в эксперименте длительностью 7 суток не показало, однако у всех групп число норковых реакций увеличивается в два раза по сравнению с контролем. Также наблюдаются тенденции к увеличению времени, проведенного в центре поля, и числа актов замирания относительно контроля. Иллюстрация не приводится.

Результаты ОП в эксперименте длительностью 14 суток представлены на рисунке 14. Существенные различия были обнаружены в количестве выходов в центр

($p=0.0007$), времени, проведенном в центре поля ($p=0.003$) и в числе реакций замирания ($p=0.002$). Таким образом, при увеличении длительности воздействия, происходит существенное смещение компонентов поведения в ОП в сторону тревожности.

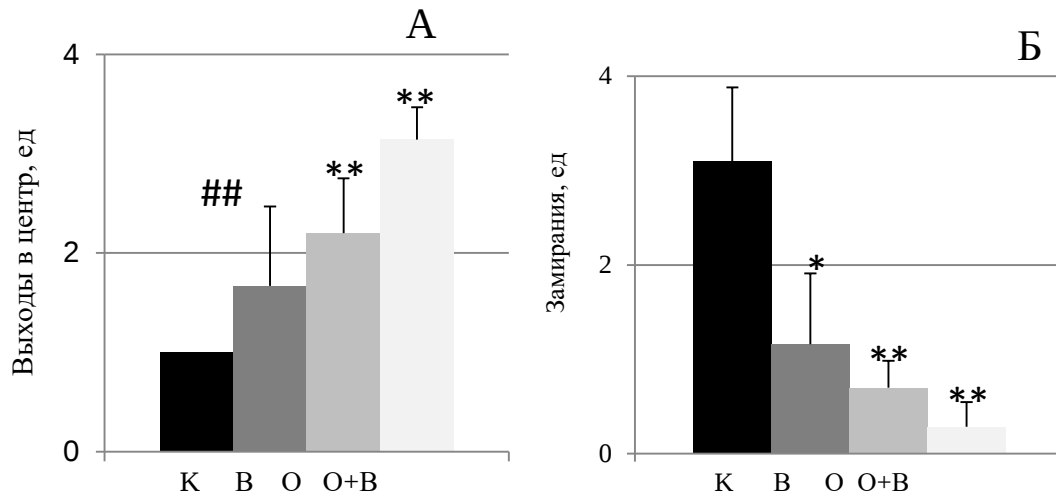


Рисунок 14

Поведение животных в открытом поле при воздействии 14 суток АноВ+облучение

Группы К – контроль В – вывешивание О - облучение О+В – облучение + вывешивание

А число выходов в центр в тесте «открытое поле», абсолютные значения 14 суток АноВ, облучение гамма + протоны.

Б число замираний в тесте «открытое поле 14 суток АноВ, облучение гамма + протоны. *Примечание* * - $p<0.05$, ** – $p<0.001$, ## – $p<0.001$, отличие между группами В и В+О.

При 30-суточном вывешивании основные компоненты двигательной и ориентировочно-исследовательской активности у экспериментальных групп животных достаточно быстро восстанавливались, о чем свидетельствовало отсутствие достоверных различий с контролем по всем показателям активного поведения крыс при тестировании их в ОП. Общая динамика поведения животных в

ОП свидетельствовала о достаточно эффективном угасании активных форм поведения как в кратковременной (в течение одного сеанса тестирования), так и в долговременной (повторное тестирование после экспериментальных воздействий) динамике, причем характер угасания не отличался от контроля. В основе экспериментальной ситуации ОП лежит конкуренция мотиваций страха и обусловленного им пассивно-оборонительного поведения и ориентировочно-исследовательской активности (Whimbeу и др., 1967; Маркель, 1981). Эти данные свидетельствуют о преобладании ориентировочно-исследовательской активности над пассивно-оборонительным поведением у животных этой экспериментальной группы, что согласуется с представлениями о преимущественно возбуждающем эффекте радиации в небольших дозах (Ушаков, Штемберг, 2007). В то же время обращают на себя внимание высокие показатели эмоциональной реактивности животных, подвергнутых АноВ, и, в особенности, комбинированному воздействию АноВ и облучения, что свидетельствует о том, что воздействие АноВ превалирует в формировании эмоционально-мотивационной основы поведения в ОП.

Стоит отметить, что общие тенденции в поведении животных в ОП могут свидетельствовать об усилении тревожности. Сравнительные результаты по изменению двигательной активности в открытом поле в различных сериях экспериментов представлены на рисунке 15.

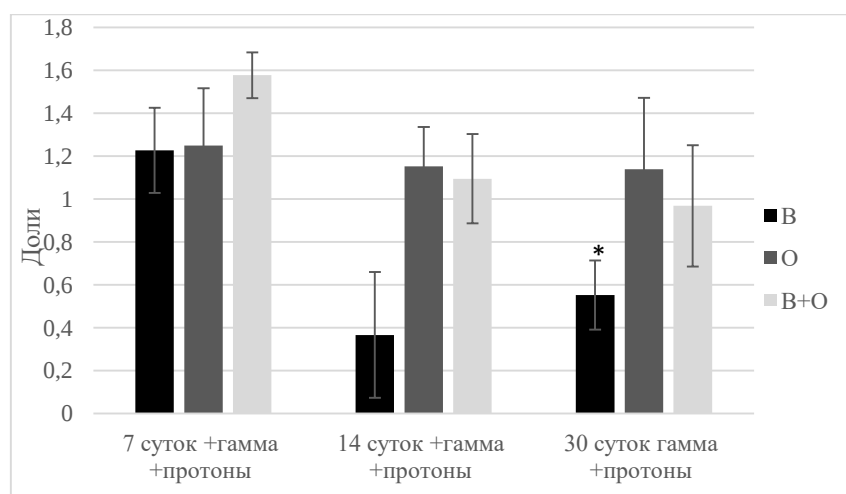


Рисунок 15 Сравнение двигательной активности животных в тесте «открытое поле», изменения оцениваются относительно контроля, данные контроля приведены к 1. Группы: В – вывешивание, О – облучение, О+В – облучение + вывешивание

*Примечание * - $p < 0.05$,*

Исходя из сопоставления данных полученных, в трех сериях экспериментов, можно предположить следующую зависимость: облучение оказывает сопоставимые эффекты, приводя к незначительному усилению двигательной активности (около 120% от контроля). Вывешивание вызывает снижение двигательной активности, до 56% ($p=0.05$) от контрольных значений при вывешивании 30 суток, до 36% от контрольных значений при длительности вывешивания 14 суток (снижение до), при вывешивании 7 суток значения практически не изменяются.

Также при анализе двигательной активности (рисунок 15), наблюдается компенсаторный эффект, который фактор ИИ оказывает на эффекты, вызываемые АНОВ - у группы комбинированное воздействие значения двигательной активности приближаются к контрольным, причем наиболее заметен эффект при наибольшей длительности выбранных факторов.

Из результатов исследования животных в приподнятом крестообразном лабиринте (данные представлены на рисунке 16; тест проводился в рамках эксперимента продолжительностью 7 суток) следует, что уровень ситуативной тревожности снижается у группы О. Это согласуется с гипотезой (Kimeldorf, Hunt, 1965) о том, что ионизирующее излучение в малой дозе оказывает стимулирующее действие на ЦНС. Однако, данный эффект не наблюдается столь явно у группы с комбинированным воздействием (О+В), хотя доза облучения, полученная животными в обеих группах, одинакова. Следовательно, можно сделать предположение о разнонаправленности механизмов влияния, оказываемых факторами «облучение» и АНОВ.

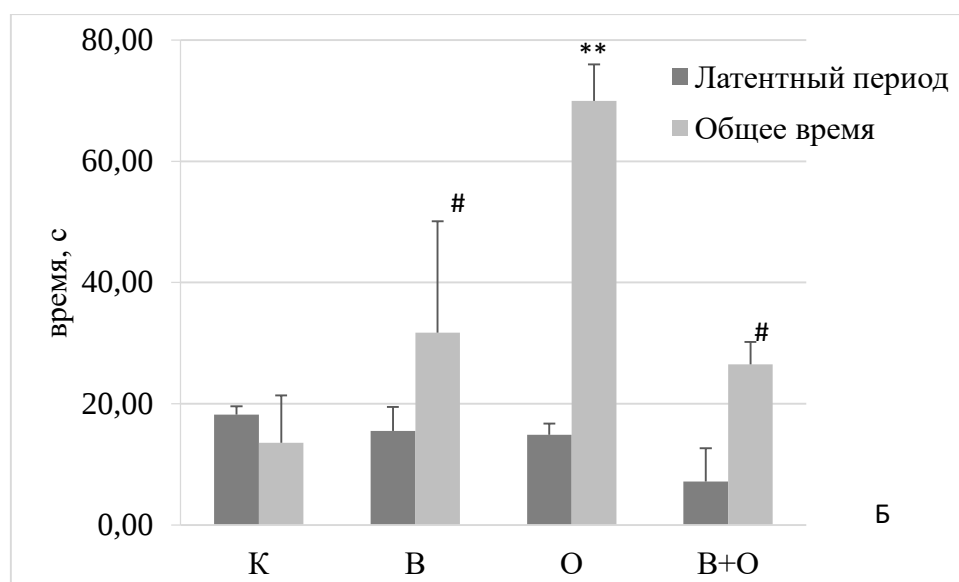


Рисунок 16 Поведение крыс в приподнятом крестообразном лабиринте, АноВ-7 суток, облучение «протоны+гамма».

Группы К –контроль В – вывешивание О - облучение О+В – облучение + вывешивание

Примечание: # $p < 0.05$, между экспериментальными группами В и О, В+О и О.

*** $p < 0.01$, между группой О и К.*

При воздействии длительностью 14 суток наблюдаются достоверные отличия при обучении животных в водном лабиринте Морриса на 5 день после воздействий, данные представлены на рисунке 17.

Полученные нами данные расходятся с описанными ранее (Rabin et al., 2012; Shukitt-Hale et al., 2013), свидетельствующими о значительном ухудшении пространственной памяти после облучения. Данные разногласия связаны с различными условиями воздействия, поскольку влияние ТЗЧ вызывает более существенные эффекты в работе ЦНС (Kimeldorf, Hunt, 1965; Ушаков И.Б., А. С. Штемберг, 2007).

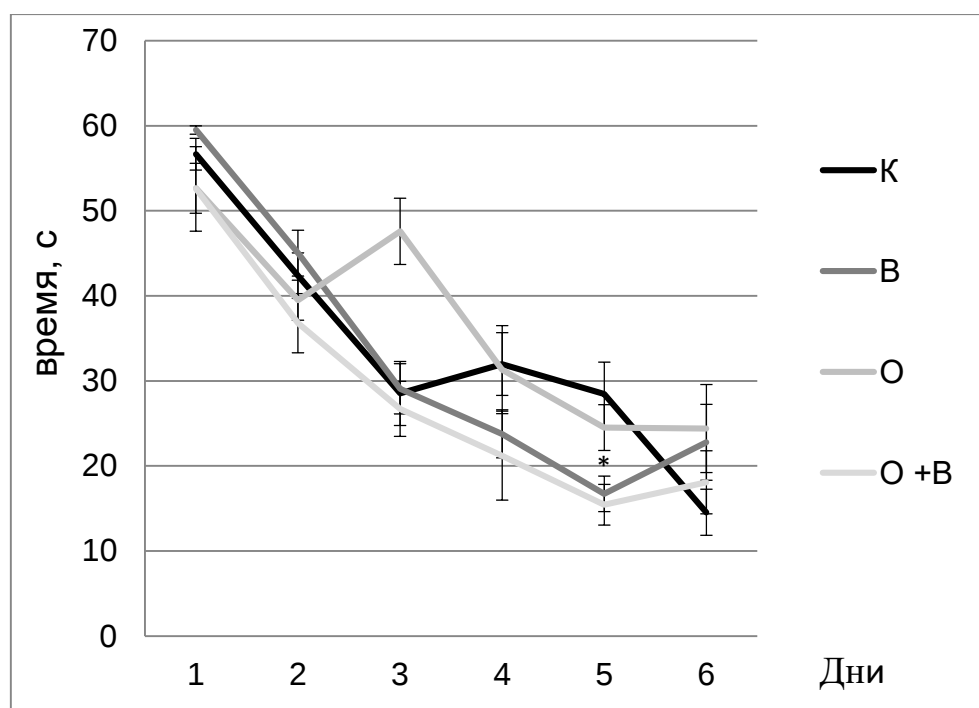


Рисунок 17. Кривая обучения в водном лабиринте Мориса АНОВ- 14 суток, облучение «протоны+гамма». Группы: К –контроль, В – вивешивание, О – облучение, О+В – облучение + вивешивание. По оси х – дни обучения, по оси у латентный период достижения платформы, усредненные данные.

Исследование динамики дискриминантного обучения крыс по методике Григоряна при 30-суточном вивешивании не выявило существенных различий в скорости обучения у экспериментальных групп по сравнению с контрольными животными. Число правильных реакций колебалось относительно контроля, однако у группы АНОВ+О этот показатель был выше, особенно в начале обучения. Данный эффект согласуется с результатами, полученными при облучении животных протонами, и может быть объяснен так называемым “сужением внимания” - улучшением условнорефлекторной деятельности за счет снижения афферентной генерализации (Ушаков, Штемберг, 2007). Динамика латентных периодов условнорефлекторных реакций характеризовалась резкими колебаниями у крыс экспериментальных групп относительно контрольных значений, с тенденцией к их снижению к концу обучения.

Изменения в работе моноаминергической системы, вызываемые экспериментальными воздействиями при длительности вывешивания 7 суток, представлены на рисунке 18 и в таблице 8.

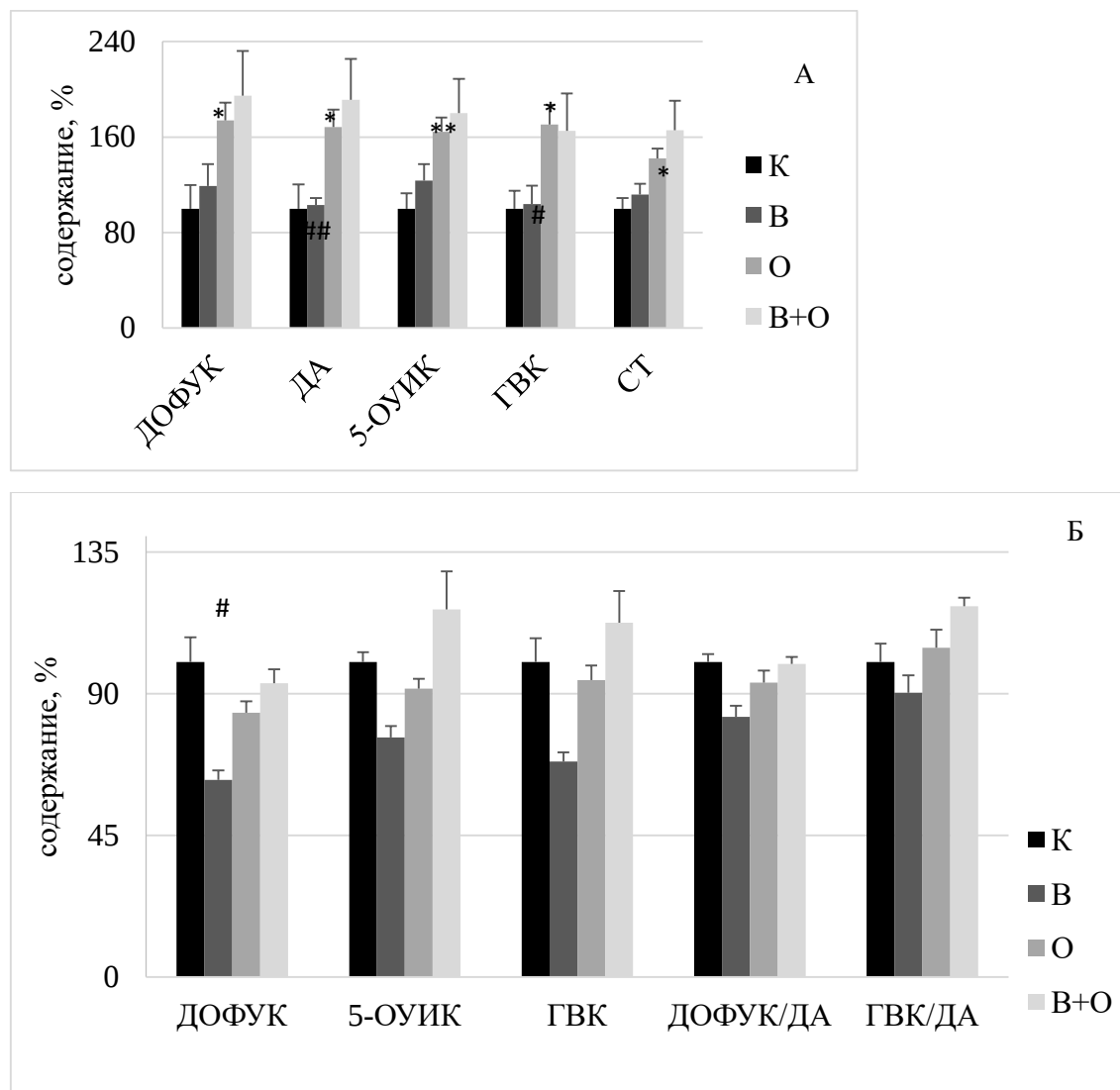


Рисунок 18 Анализ содержания моноаминов и их метаболитов в головном мозге крыс, после 7 суточного вывешивания и облучения гамма +протоны.

А Сравнение содержания моноаминов и их метаболитов в префронтальной коре, гипоталамусе, гиппокампе. Группы К –контроль В – вывешивание О - облучение О+В – облучение + вывешивание.

Б Сравнение содержания моноаминов и их метаболитов прилежащее ядро

Примечание: * $p < 0.05$, между экспериментальной группой и контролем. ** $p < 0.01$, между экспериментальной группой и контролем. # $p < 0.05$, между экспериментальными группами, В и О, В+О и О. ## $p < 0.01$, между экспериментальными группами В и О, В+О и О

Достоверные изменения отмечены в следующих структурах: префронтальная кора, гипоталамус, гиппокамп (результаты на рисунке 18А), и прилежащее ядро (результаты на рисунке 18Б). Наиболее статистически значимыми оказались отличия в прилежащем ядре.

Таблица 8. Концентрация моноаминов и их метаболитов (нмоль/г. ткани) в мозге крыс при действии АНОВ длительностью 7 суток, совместно с облучением гамма+протоны облучением гамма +протоны.

	Префронтальная кора	НА	ДОФУК	ДА	ГВК	3-МТ	5-ОИУК	5-ОТ
1	Контроль	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	АНОВ+облучение	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
	p=1 vs 2	0,596	0,201	0,820	0,747	0,379	0,884	0,220
3	Облучение.	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
	p=1 vs 3	0,878	0,623	0,581	0,265	0,013	0,070	0,026
	p=2 vs 3	0,821	0,130	0,088	0,113	0,102	0,152	0,216
4	АНОВ.	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
	p= 4 vs 1	0,731	0,050	0,584	0,735	0,853	0,014	0,050
	p= 4 vs 2	0,469	0,401	0,645	0,832	0,297	0,033	0,201
	p= 4 vs 3	0,68	0,042	0,74	0,23	0,009	0,205	0,618
	Прилежащее ядро	НА	ДОФУК	ДА	ГВК	3-МТ	5-ОИУК	5-ОТ

1	Контроль	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	АНОВ+ОБЛУЧЕНИЕ	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
	p=1 vs 2	0,465	0,559	0,649	0,401	0,682	0,234	0,648
3	Облучение гамма+протоны.	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
	p=1 vs 3	0,779	0,135	0,464	0,585	0,585	0,129	0,886
	p=2 vs 3	0,350	0,189	0,620	0,165	0,855	0,091	0,653
4	АнОВ.	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
	p= 4 vs 1	0,957	<u>0,040</u>	<u>0,052</u>	<u>0,009</u>	<u>0,064</u>	<u>0,002</u>	<u>0,016</u>
	p= 4 vs 2	0,506	<u>0,001</u>	<u>0,055</u>	<u>0,047</u>	<u>0,028</u>	<u>0,017</u>	0,189
	p= 4 vs 3	0,850	<u>0,004</u>	<u>0,047</u>	<u>0,003</u>	0,130	<u>0,020</u>	0,271
	Стриатум	НА	ДОФУК	ДА	ГВК	3-МТ	5-ОИУК	5-ОТ
1	Контроль	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	АНОВ+ОБЛУЧЕНИЕ	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
	p =1 vs 2	0,213	0,584	0,487	0,956	0,240	0,354	0,679
3	Облучение гамма+протоны.	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
	p=1 vs 3	<u>0,003</u>	0,182	0,434	0,931	0,614	0,923	0,272
	p=2 vs 3	0,632	0,530	0,957	0,897	0,155	0,399	0,766
4	АнОВ.	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
	p= 4 vs 1	<u>0,002</u>	<u>0,085</u>	0,708	0,573	0,893	0,888	0,301
	p= 4 vs 2	0,582	0,349	0,560	0,718	0,283	0,338	0,332
	p= 4 vs 3	0,684	0,673	0,440	0,404	0,726	0,824	0,119

	Гиппоталамус	НА	ДОФУ К	ДА	ГВК	3-МТ	5-ОИУК	5-ОТ
1	Контроль	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	АНОВ+ОБЛУ- ЧЕНИЕ	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
	p =1 vs 2	0,409	0,542	0,896	0,879	0,173	0,293	0,433
3	Облучение гамма+протоны.	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
	p=1 vs 3	0,183	<u>0,028</u>	<u>0,041</u>	<u>0,023</u>	0,9850	<u>0,012</u>	<u>0,015</u>
	p=2 vs 3	0,385	<u>0,070</u>	<u>0,006</u>	<u>0,030</u>	0,344	<u>0,079</u>	<u>0,059</u>
4	АнОВ.	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
	p= 4 vs 1	0,169	<u>0,080</u>	<u>0,075</u>	0,132	0,844	<u>0,052</u>	<u>0,056</u>
	p= 4 vs 2	0,292	0,141	<u>0,053</u>	0,165	0,169	0,149	0,105
	p= 4 vs 3	0,440	0,657	0,601	0,900	0,857	0,664	0,439
	Гиппокамп	НА	ДОФУК	ДА	ГВК	3-МТ	5-ОИУК	5-ОТ
1	Контроль	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	АНОВ+ОБЛУ- ЧЕНИЕ	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
	p =1 vs 2	0,360	0,442	0,566	0,364	0,229	0,102	0,187
3	Облучение гамма+протоны.	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
	p=1 vs 3	0,103	0,121	0,817	0,237	0,386	0,707	0,822
	p=2 vs 3	<u>0,060</u>	0,308	0,272	0,463	0,618	0,195	0,436
4	АнОВ.	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
	p= 4 vs 1	0,339	0,136	0,385	0,880	0,560	<u>0,072</u>	0,827

p= 4 vs 2	0,143	0,261	0,543	0,410	0,152	<u>0,015</u>	0,208
p= 4 vs 3	0,809	0,536	0,294	0,29	0,224	0,074	0,702

В префронтальной коре у группы В достоверно снижается (относительно контроля) уровень 5-ОУИК - на 25 % ($p<0.05$) и увеличивается уровень 3-МТ - на 155 % ($p<0.05$). Различие между группами В и В+О также достоверно и составляет 24 процента ($p<0.05$).

Отличия в гипоталамусе достоверны ($p<0.05$) для группы О: уровень ДОФУК вырос на 74 процента, уровень 5-ОУИК вырос на 64 процента, а уровень серотонина вырос на 42 процента. Кроме того, уровень ДА у группы О+В меньше на 55 % относительно значений группы О ($p<0.01$). В гиппокампе достоверны лишь отличия между группами В и В+О, значения в группе В+О больше на 28 % ($p<0.05$).

В прилежащем ядре достоверные отличия от контроля ($p<0.01$ для всех веществ) наблюдаются у группы В. Таким образом, у группы В уровень ДОФУК меньше на 37 %, уровень 5-ОУИК меньше на 23 процента, уровень ГВК меньше на 31 процент и соотношение ДОФУК /ДА меньше на 17 %.

Значения группы О относительно группы В также достоверно больше для ДОФУК на 21 процент ($p<0.01$), для 5-ОУИК на 16 % ($p<0.05$) для ГВК на 25 % ($p<0.01$) и на 11 % для соотношения ДОФУК/ДА($p<0.05$).

Для группы В+О значения относительно группы В увеличиваются на 31 процент для ДОФУК ($p<0.01$), на 41 процент для 5-ОУИК ($p<0.05$) и на 44 процента для ГВК ($p<0.01$).

Достоверные отличия в уровне соотношения ГВК/ДА отмечены только между группами В и В+О, у последней значения больше на 27 % ($p<0.01$).

Различия в содержании моноаминов между экспериментальными группами крыс были обнаружены в префронтальной коре, гиппокампе, гипоталамусе и прилежащем ядре, так как эти структуры тесно связаны между собой и непосредственно участвуют в процессах памяти, эмоционального восприятия и системы подкрепления (Chiba, 2000; Ishikawa, 2006).

Наибольшие изменения коснулись серотонинергической системы у группы В. Снижение уровня 5-ОУИК в префронтальной коре и прилежащем ядре аналогично депрессивному состоянию животных. Исходя из содержания моноаминов у группы О в гипоталамусе и префронтальной коре, можно судить об активации этих структур. Увеличение уровня серотонина в гипоталамусе происходит при увеличении активации ядер шва, как одного из основных источников серотонина в головном мозге (Carey et al., 2007). Кроме того, ядра шва являются основным источником серотонина для префронтальной коры, прилежащего ядра и гиппокампа (Bockstaele et al., 1993), однако активации у группы О в этих структурах мы не наблюдаем, что может быть, предположительно, связано с наличием собственных клеток синтеза серотонина (Wardener et al., 2001).

Соотношения 5-ОУИК между группами В и В+О подтверждают нашу гипотезу о компенсаторном эффекте между воздействием факторов О и В, так как, исходя из изменений в серотонинергической системе группы В+О, происходит компенсация между различными эффектами двух воздействий В и О.

Данные нейрохимического анализа содержания моноаминов для статистически значимых изменений в некоторых структурах при воздействиях продолжительностью 14 суток представлены на рисунках 19А и Б и в таблице 9. Существенных различий в содержании веществ в прилежащем ядре и стриатуме не обнаружено.

Содержание 5-ОУИК и соотношения 5-ОУИК/СТ в гиппокампе у группы В достоверно увеличивается на 24% ($P=0.006$) и 22% ($P=0.04$) соответственно, относительно значений контроля. Соотношение 5-ОУИК/СТ снижается на 20% ($P=0,005$) у группы О в гиппокампе. Соотношение 5-ОУИК/СТ увеличивается в гипоталамусе у группы В на 9% ($p=0.002$). Содержание ДОФУК у групп В в префронтальной коре снижается на 40% ($P=0.02$). В гиппокампе также происходит увеличение уровня 5-ОУИК/СТ в группе О на 59% ($p=0.01$) и группе В+О на 48% ($p=0.03$) соответственно по сравнению с группой В.

Интересен тот факт, что изменение уровня моноаминов в прилежащем ядре незначительны при двухнедельном вывешивании, хотя при недельном вывешивании у экспериментальной группы В наблюдается снижение уровня ДОФУК, 5-ОУИК,

ГВК, что может быть связано с высоким уровнем общего метаболизма в прилежащем ядре, или же с миграцией моноаминов в префронтальную кору (Belujon et al., 2014), поскольку, при более длительном вывешивании, мы наблюдаем высокую чувствительность ПФК к воздействиям в группах О и В, а также при комбинировании данных факторов.

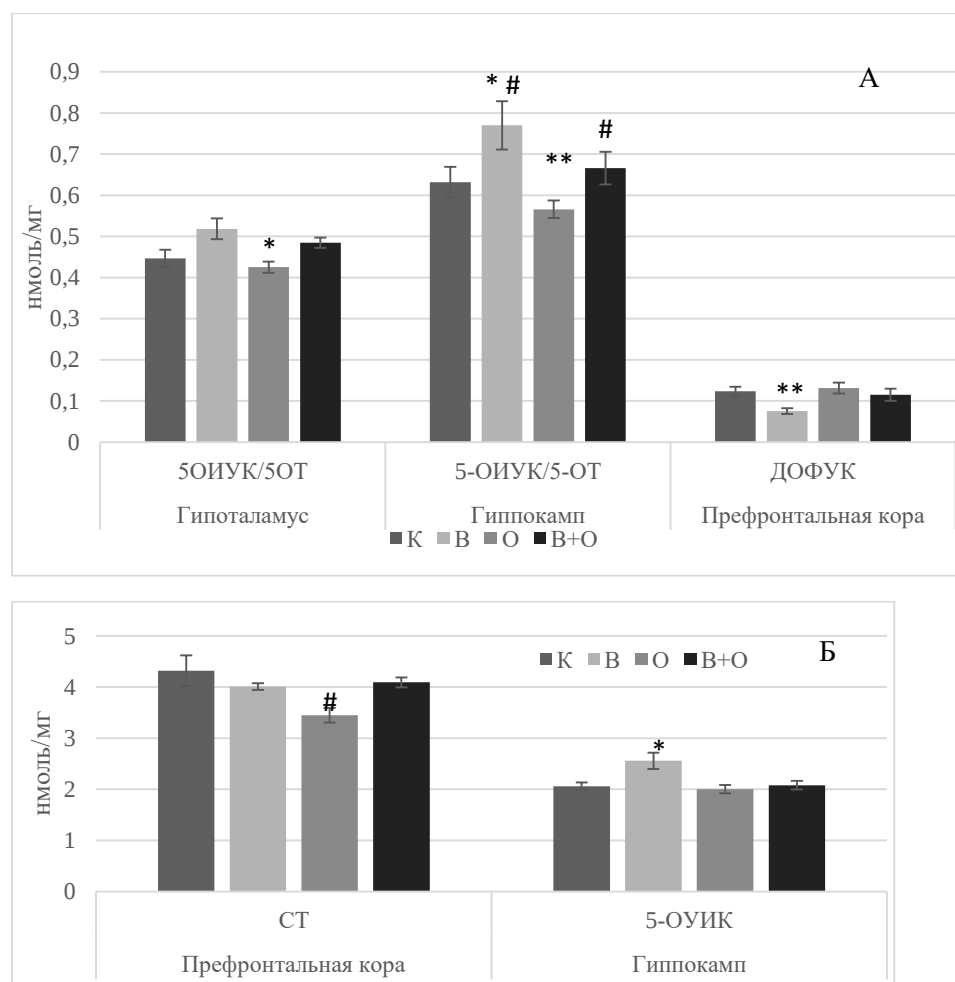


Рисунок 19 Содержание моноаминов в выбранных структурах при воздействии АНОВ продолжительностью 14 суток и облучении гамма и протоны

А Сравнение содержания моноаминов и их метаболитов в префронтальной коре, гипоталамусе, гиппокампе.

Б Сравнение содержания моноаминов и их метаболитов в префронтальной коре и гиппокампе.

Группы К – контроль В – вывешивание О - облучение О+В – облучение + вывешивание.

Примечание: * $p < 0.05$, между экспериментальной группой и контролем. ** $p < 0.01$, между экспериментальной группой и контролем. # $p < 0.05$, между экспериментальными группами, В и О, В+О и О. ## $p < 0.01$, между экспериментальными группами В и О, В+О и О.

Таблица 9 Концентрация моноаминов и их метаболитов (нмоль/г ткани) в некоторых структурах головного мозга крыс. Комбинированное воздействие 14 суток АНОВ облучение гамма+ протоны.

	Группа животных	НА	ДОФУК	ДА	ГВК	3-МТ	5-ОИУК	СТ
Префронтальная кора								
1	Контроль (n = 7)	2,09 ± 0,13	0,12 ± 0,01	0,49 ± 0,09	0,19 ± 0,03	0,17 ± 0,06	1,31 ± 0,18	4,32 ± 0,3
2	Вывеш. (n = 7)	1,77 ± 0,1	0,08 ± 0,01	0,46 ± 0,08	0,24 ± 0,03	0,18 ± 0,04	1,37 ± 0,08	4,01 ± 0,06
3	Облучение (n = 7)	1,85 ± 0,09	0,13 ± 0,01	0,38 ± 0,02	0,14 ± 0,02	0,05 ± 0,02	1,06 ± 0,06	3,57 ± 0,17
4	Выв. + Обл. (n = 8)	2,05 ± 0,06	0,12 ± 0,01	0,38 ± 0,01	0,24 ± 0,05	0,25 ± 0,17	1,27 ± 0,06	4,09 ± 0,1
	2 к 1; p =	0,097	0,015	0,833	0,269	0,895	0,803	0,373
	3 к 1; p =	0,193	0,681	0,268	0,272	0,109	0,239	0,067
	3 к 2; p =	0,573	0,014	0,333	0,033	0,025	0,014	0,04
	4 к 1; p =	0,823	0,656	0,229	0,448	0,668	0,828	0,491
	4 к 2; p =	0,032	0,084	0,292	0,889	0,702	0,360	0,056
	4 к 3; p =	0,09	0,442	0,960	0,122	0,288	0,032	0,412
Прилежащее ядро								
1	Контроль (n = 7)	3,12 ± 0,24	4,43 ± 0,32	40,84 ± 2,23	2,00 ± 0,2	0,60 ± 0,10	2,74 ± 0,25	6,40 ± 0,39
2	Вывеш. (n = 7)	2,3 ± 0,26	4,81 ± 0,52	32,02 ± 3,16	2,33 ± 0,19	0,63 ± 0,09	2,97 ± 0,22	5,12 ± 0,49
3	Облучение (n = 7)	2,35 ± 0,33	4,55 ± 0,34	43,80 ± 3,84	2,45 ± 0,2	0,57 ± 0,10	2,32 ± 0,09	5,64 ± 0,35
4	Выв. + Обл. (n = 8)	3,01 ± 0,4	4,44 ± 0,31	40,88 ± 3,00	2,37 ± 0,14	0,60 ± 0,06	2,75 ± 0,21	6,12 ± 0,36
	2 к 1; p =	0,069	0,569	0,056	0,277	0,811	0,530	0,080
	3 к 1; p =	0,119	0,811	0,549	0,159	0,861	0,169	0,201
	3 к 2; p =	0,927	0,703	0,049	0,692	0,675	0,025	0,445
	4 к 1; p =	0,915	0,989	0,992	0,176	1,00	0,965	0,629
	4 к 2; p =	0,176	0,559	0,081	0,901	0,765	0,514	0,143
	4 к 3; p =	0,227	0,818	0,583	0,737	0,827	0,109	0,385
Гипоталамус								
1	Контроль (n = 7)	8,79 ± 0,50	0,24 ± 0,01	2,03 ± 0,11	0,27 ± 0,07	0,06 ± 0,03	3,08 ± 0,21	7,18 ± 0,94
2	Вывеш. (n = 7)	9,08 ± 0,25	0,24 ± 0,02	2,08 ± 0,22	0,22 ± 0,02	0,09 ± 0,04	3,21 ± 0,17	6,02 ± 0,12
3	Облучение (n = 7)	9,22 ± 0,25	0,22 ± 0,02	2,12 ± 0,21	0,20 ± 0,03	0,01 ± 0,004	2,69 ± 0,08	6,33 ± 0,16
4	Выв. + Обл. (n = 8)	9,64 ± 0,4	0,26 ± 0,02	2,13 ± 0,16	0,20 ± 0,02	0,06 ± 0,03	2,91 ± 0,12	6,04 ± 0,3

	2 vs 1; p =	0,528	0,995	0,846	0,471	0,536	0,557	0,358
	3 vs 1; p =	0,408	0,576	0,725	0,357	0,167	0,133	0,427
	3 vs 2; p =	0,702	0,651	0,908	0,587	0,105	0,025	0,564
	4 vs 1; p =	0,192	0,516	0,633	0,352	0,973	0,513	0,277
	4 vs 2; p =	0,289	0,609	0,861	0,66	0,593	0,195	0,662
	4 vs 3; p =	0,438	0,273	0,965	0,862	0,297	0,176	0,453
с	Группа животных	НА	ДОФУК	ДА	ГВК	3-МТ	5-ОИУК	5-ОТ
Стриатум								
1	Контроль (n = 7)	1,14 ± 0,12	4,18 ± 0,29	57,76 ± 2,14	2,67 ± 0,17	1,06 ± 0,10	2,40 ± 0,25	3,30 ± 0,16
2	Вывеш. (n = 7)	1,07 ± 0,16	4,51 ± 0,24	52,97 ± 4,23	3,03 ± 0,19	0,82 ± 0,09	2,49 ± 0,11	3,36 ± 0,15
3	Облучение (n = 7)	0,89 ± 0,08	4,33 ± 0,34	53,99 ± 2,85	2,74 ± 0,23	0,87 ± 0,09	1,97 ± 0,18	2,96 ± 0,23
4	Выв.+Обл. (n = 8)	0,97 ± 0,07	4,23 ± 0,39	53,86 ±	2,96 ± 0,27	0,90 ± 0,08	2,18 ± 0,13	3,17 ± 0,09
	2 vs 1; p =	0,761	0,427	0,368	0,223	0,122	0,777	0,799
	3 vs 1; p =	0,138	0,770	0,344	0,829	0,217	0,220	0,278
	3 vs 2; p =	0,347	0,686	0,856	0,388	0,698	0,041	0,200
	4 vs 1; p =	0,305	0,520	0,435	0,432	0,257	0,483	0,513
	4 vs 2; p =	0,607	0,974	0,889	0,845	0,555	0,177	0,330
	4 vs 3; p =	0,461	0,724	0,981	0,585	0,851	0,386	0,450
Гиппокамп								
	Контроль (n = 7)	2,62 ± 0,12	0,05 ± 0,01	0,20 ± 0,08	0,12 ± 0,01	0,05 ± 0,01	2,06 ± 0,07	3,32 ± 0,19
2	Вывеш. (n = 7)	2,39 ± 0,17	0,05 ± 0,03	0,16 ± 0,06	0,12 ± 0,02	0,08 ± 0,03	2,56 ± 0,16	3,50 ± 0,10
3	Облучение (n = 7)	2,58 ± 0,13	0,06 ± 0,01	0,17 ± 0,03	0,15 ± 0,04	0,13 ± 0,05	2,00 ± 0,08	3,55 ± 0,13
4	Выв.+Обл. (n = 8)	2,56 ± 0,16	0,04 ± 0,004	0,12 ± 0,03	0,12 ± 0,02	0,04 ± 0,01	2,08 ± 0,08	3,17 ± 0,15
	2 vs 1; p =	0,355	0,476	0,732	0,890	0,521	0,032	0,473
	3 vs 1; p =	0,875	0,681	0,783	0,478	0,234	0,666	0,380
	3 vs 2; p =	0,411	0,352	0,863	0,552	0,432	0,014	0,757
	4 vs 1; p =	0,818	0,214	0,425	0,724	0,651	0,862	0,566
	4 vs 2; p =	0,485	0,451	0,609	0,884	0,316	0,022	0,108
	4 vs 3; p =	0,926	0,183	0,271	0,576	0,125	0,536	0,084

Данные по исследованию содержания моноаминов в выбранных структурах для 30 суточного вывешивания представлены на рисунке 20.

В префронтальной коре у животных группы В+О было обнаружено достоверное увеличение концентрации ДОФУК относительно контроля и группы В. По всем остальным показателям достоверных изменений не наблюдалось. В прилежащем ядре и гиппокампе достоверные изменения также обнаружены не были.

В гипоталамусе концентрация 5-ОИУК была достоверно ниже у облученных крыс по сравнению с крысами, подвергнутыми воздействию АноВ.

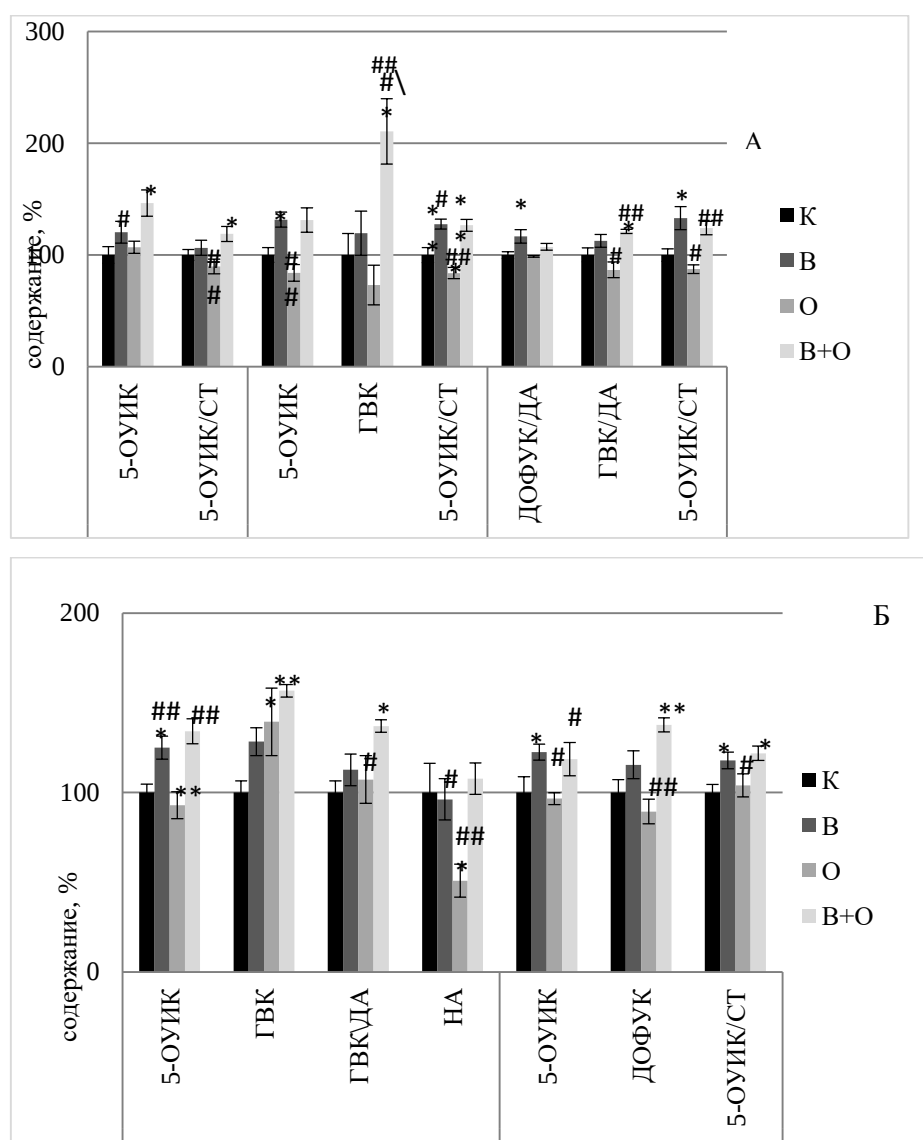


Рисунок 20 Содержание моноаминов в выбранных структурах при воздействии АноВ продолжительностью 30 суток и облучении гамма и протоны Группы К – контроль В – вывешивание О - облучение О+В – облучение + вывешивание.

А Сравнение содержания моноаминов и их метаболитов в префронтальной коре, гиппокампе и стриатуме

Б Сравнение содержания моноаминов и их метаболитов в прилежащем ядре и гипоталамусе.

Примечание: * $p < 0.05$, между экспериментальной группой и контролем. ** $p < 0.01$, между экспериментальной группой и контролем. # $p < 0.05$, между

экспериментальными группами, В и О, В+О и О. ## $p < 0.01$, между экспериментальными группами В и О, В+О и О.

В стриатуме у крыс группы В и группы В+О концентрация ГВК была достоверно вышена относительно контрольной группы. Концентрация 5-ОИУК также достоверно увеличивалась у крыс в группе АНОВ относительно контрольной. В группе АНОВ+О концентрация 5-ОИУК тоже увеличивалась относительно контрольной группы, но не доходила до достоверного значения.

При экспериментальных воздействиях концентрация всех трех моноаминов (НА, ДА и СТ) не менялась. В префронтальной коре и стриатуме усиливался метаболизм ДА, осуществляемый разными ферментными системами: моноаминооксидазой-В при синтезе ДОФУК из ДА и катехол-О-метилтрансферазой при синтезе ГВК из ДА. В обоих случаях повышение концентрации метаболита свидетельствовало о сокращении времени действия ДА на соответствующие рецепторы. Повышение концентрации 5-ОИУК в гипоталамусе и стриатуме также укорачивает время действия СТ на соответствующие рецепторы. Эти результаты указывают на незначительно выраженную модификацию активности ДА- и СТ-систем мозга, недостаточную для модификации поведения.

Таким образом, наиболее существенные отличия от контроля на всех уровнях организации ЦНС наблюдаются при вывешивании сроком в 30 суток, наименее существенные - при вывешивании сроком в две недели. Можно предположить, что выбранные сроки АНОВ пришлись на разные стадии общего адаптационного синдрома: 7-суточное воздействие – на стадию тревоги, 15-суточное – на стадию резистентности и 30-суточное – на стадию истощения (Ушаков, Штемберг, 2007).

3.4 Исследования изменений молекулярных механизмов, лежащих в основе наблюдаемых изменений после облучения

Как отмечалось в первой главе, вопрос о вовлечении молекулярных изменений в видимые эффекты воздействия на нейрохимические и когнитивные изменения остается открытым. В рамках данной работы был проведен анализ содержания в структурах матричной РНК, кодирующей рецепторы к серотонину, дофамину и ферменты их транспортеров, соответственно в префронтальной коре, гиппокампе и стриатуме; результаты представлены на рисунке 21 А, Б, В, Г.

Особый интерес представляет собой экстремальное повышение уровня экспрессии SERT в префронтальной коре после воздействия АНОВ и в гиппокампе и стриатуме после комбинированного действия факторов. SERT осуществляет контроль серотонинергической нейротрансмиссии в мозге посредством быстрого устранения СТ из синаптических щелей а также в пресинаптических мембранах окончаний нервов и дендритных разветвлений в непосредственной близости к содержащим СТ телам клеток. Изменения экспрессии и активности SERT связаны с различными психоэмоциональными и когнитивными нарушениями (Sakakibara et al., 2014). Мы можем предложить несколько гипотез, объясняющих данный феномен.

Во-первых, экспрессия мРНК не является однозначным критерием содержания продукта трансляции, что позволяет предположить нарушение трансляции; нельзя исключить и нарушение доставки SERT к пресинаптической мембране (Steiner et al., 2008). Так или иначе, эти события порождают усиление экспрессии в силу действия обратной отрицательной связи.

Во-вторых, увеличение экспрессии SERT может быть маркером воспаления. В поддержку этой гипотезы выступает тот факт, что экспрессия нейронального SERT свидетельствует о стимуляции противовоспалительного цитокина IL-1b и p38 MAPK-связанных каскадов реакций (Zhu et al., 2010). Воспалительная реакция является частью патофизиологического ответа нейрональной ткани на стресс (Munhoz et al., 2006).

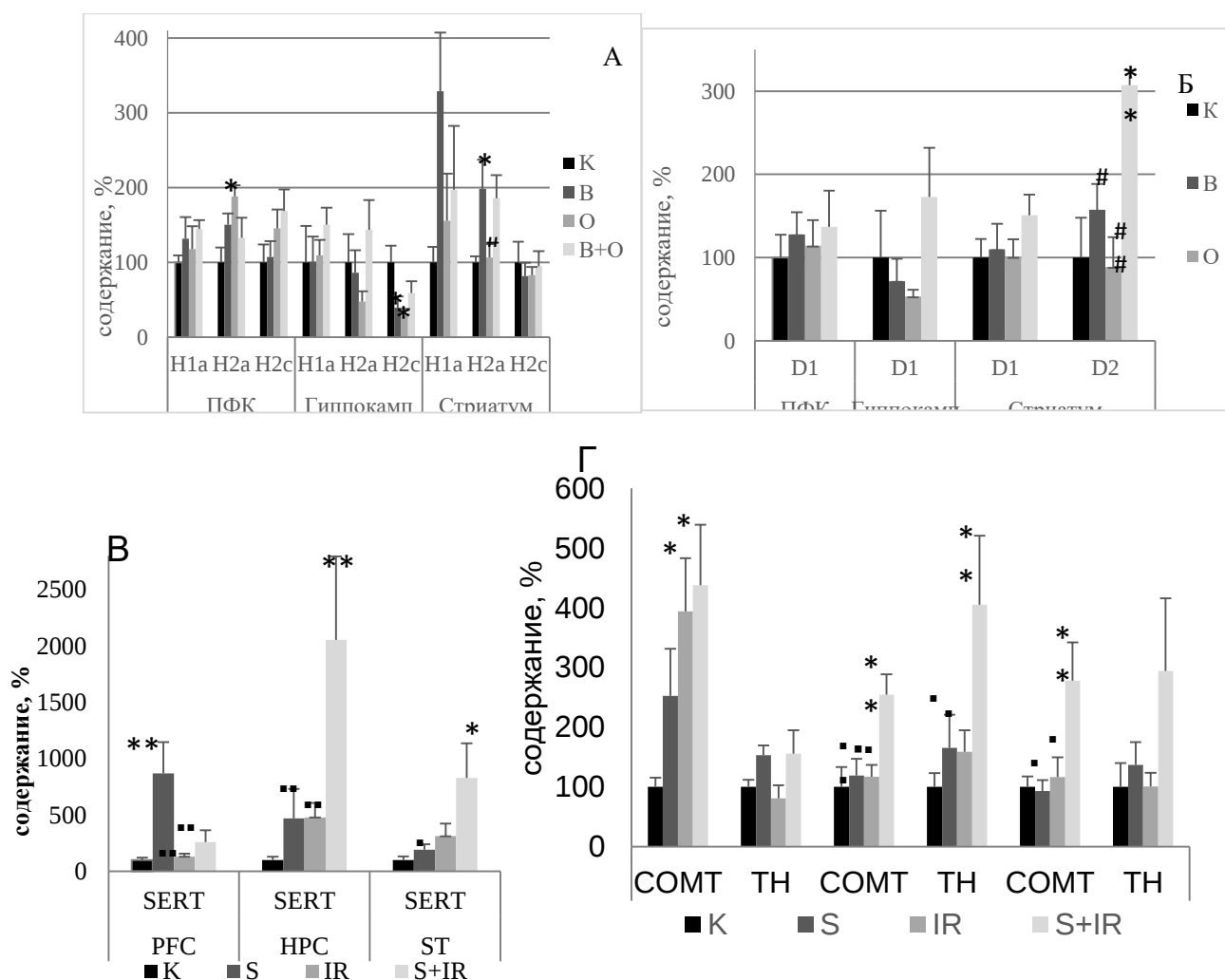


Рис. 21. ПЦР анализ уровня экспрессии мРНК ключевых белков-участников метаболизма моноаминов. Группы К(К) –контроль, В(В)-вывешивание О(О) – облучение В+О(В+О) вывешивание и облучение. ПФК(PFC) –префронтальная кора, НРС – гиппокамп, СТ- стриатум. А – рецепторы серотонина. Б – рецепторы дофамина; $n(K)=4$; $n(S)=4$; $n(IR)=4$; $n(S+IR)=4$. В – Na-зависимый серотониновый транспортер (SERT). Г – ферменты-участники метаболизма моноаминов: катехол-О-метилтрансфераза (COMT) и тирозингидроксилаза (TH). COMT и TH представлены попарно для PFC, HPC и ST соответственно.

Столбцы показывают среднее значение (% от контроля)+S.E.M. (%). $n(K)=7$; $n(S)=7$; $n(IR)=7$; $n(S+IR)=7$ для всех, за исключением “Б”.

Примечание * - $p<0.05$, ** – $p<0.001$, отличие от контроля, # $p<0.05$, ## – $p<0.001$, отличие между экспериментальными группами.

Одновременно с этим имеет место стресс-индуцированная глубокая коррекция нейрональной структуры в миндалине, гиппокампе и префронтальной коре. В то же время, микрогравитация в модели АНОВ, наравне с двигательной депривацией, является стрессогенным фактором. Отдельно стоит отметить снижение экспрессии 5-НТ_{2с} в ответ на изолированное действие АНОВ и облучения, но не на комбинацию этих факторов в гиппокампе. Мы наблюдаем ещё один вариант взаимодействия – нейтрализации однонаправленных эффектов при их комбинированном действии. Учитывая, что содержание 5-НТ_{2с} может быть эквивалентом снижения экспрессии рецептора, стоит отметить, что 5-НТ_{2с} играет существенную роль в процессах обучения (Giovanni et al., 2011), а селективные антагонисты приводят к нарушению производительности в тестах избегания (Graeff et al., 1993). Однако, мы не наблюдаем нарушений рабочей памяти у облученных крыс в отличие от подвергнутых АНОВ. Несомненно, снижение экспрессии 5-НТ_{2с} обусловлено разнородными причинно-следственными связями при воздействии исследуемых факторов.

Опираясь на вышеизложенное, можно сделать вывод о том, что эффекты ионизирующих излучений и АНОВ при их комбинированном воздействии претерпевают интерференционные взаимодействия либо нейтрализуя друг друга, либо порождая новые эффекты в отношении моноаминергических нейросетей в пределах исследуемых морфологических структур мозга, которые нейтрализуют негативные последствия от изолированного действия факторов. Наряду с этим, 5-НТ_{2а} в префронтальной коре и D₂ в гиппокампе могут быть потенциальными мишенями для фармакологической коррекции патофизиологического ответа нейрональной ткани на действие радиационного и гравитационного факторов.

Одновременно с этим мы наблюдаем восстановление двигательной активности, сниженной под действием АНОВ. Таким образом, мы находим подтверждение нашей гипотезы о компенсаторном характере изменений метаболизма СТ системы в гиппокампе и стратуме. Однако, в случае комбинированного действия факторов, мы наблюдаем эффект восстановления, который логично объяснить через вновь появившиеся эффекты: усиления метаболизма ДА и рост уровня экспрессии D₂

рецептора в гиппокампе. Действительно, потенцирование D2 рецептора может приводить к гиперлокомоторному фенотипу, тогда как селективное ингибирование или же целевая инактивация экспрессии гена D2 приводит к моторным нарушениям (поза, походка) и гиполокомоторному фенотипу.

Нами было выдвинуто предположение о вовлечении в данные процессы белков, участвующих в устройстве SNARE – комплекса. Для оценки этой гипотезы мы проанализировали содержание матричной РНК в гиппокампе после облучения. Существенных изменений в данных по выбранным последовательностям обнаружено не было, однако при сравнении содержания генов, кодирующих последовательности аминокислот, белков - альфа-синуклеина и синтаксина-1 - были найдены статистически значимые результаты, представлены на рисунке 22.

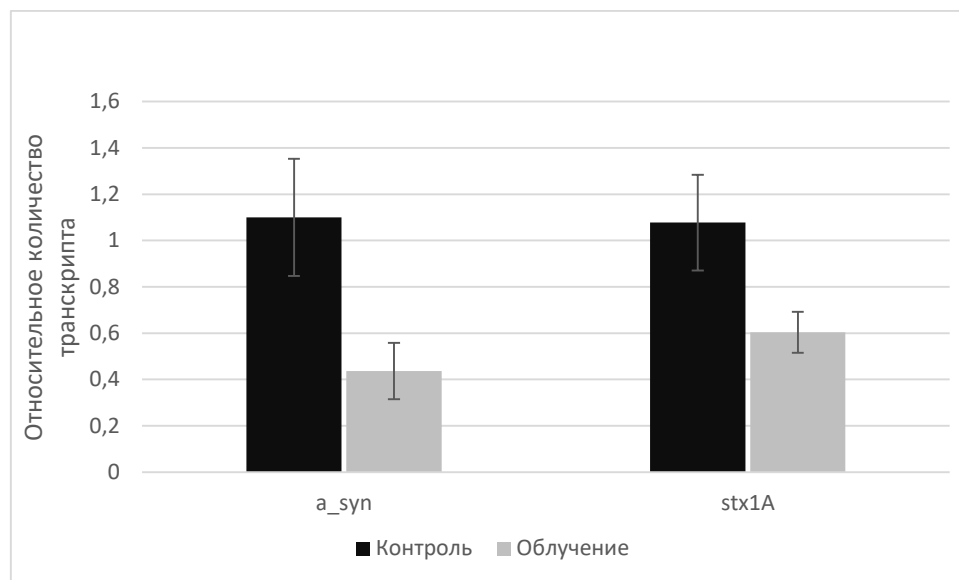


Рисунок 22 Сравнение экспрессии генов, кодирующих альфа- синуклеин и синтаксин 1А, между облученными и контрольными крысами.

Для альфа-синуклеина $p=0.02$, $F=6,75268$, для синтаксина 1А $p=0.029$, $F=5.935$.

Кроме того, в зоне, близкой к зоне достоверности, также наблюдаются изменения в содержании мРНК, кодирующих SNPB.

Механизм работы альфа-синуклеина еще не до конца исследован (Cheng et al., 2011), но, по-видимому, альфа-синуклеин необходим для нормального развития когнитивных функций. Нокаут-мыши с направленной инактивацией экспрессии

альфа-синуклеина показывают стойкие нарушения пространственного обучения и рабочей памяти (Kokhan et al., 2012).

Подобное снижение альфа-синуклеина может быть результатом адаптации к повышенному оксидантному стрессу, возникающему в результате облучения (Huang, 2012), поскольку аналогичные эффекты можно наблюдать при исследовании болезни Паркинсона (Pathak et al., 2017). Полученные данные свидетельствуют о наличии изменений в некоторых элементах SNARE-комплекса после облучения.

Таким образом, клинически значимая схема фракционированного облучения цельного мозга привела к значительным нарушениям пространственного обучения и референтной памяти, а также к изменениям относительных уровней субъединиц NMDA (но не AMPA) рецепторов в гиппокампе CA1. Полученные впервые данные свидетельствуют о том, что радиационно-индуцированные когнитивные нарушения могут быть связаны с изменением рецепторного состава глутамата (Shi et al., 2006).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исходя из приведенных результатов, можно сделать вывод, что исследуемые факторы оказывали значительно более выраженное действие на эмоционально-мотивационные процессы, нежели на когнитивные функции.

Таким образом, изученные экспериментальные воздействия - облучение протонами с различными значениями ЛПЭ, длительное фракционированное гамма-облучение, антиортостатическое вывешивание, а также одновременное воздействие этих факторов, моделируемые в наземном эксперименте - неоднозначно влияют на когнитивную деятельность животных. Данные эффекты, хотя и детектируются, но не носят однозначно выраженного характера, что хорошо согласуется с различными и не всегда значительными изменениями концентрации моноаминов в структурах мозга, отвечающих за когнитивное и эмоционально-мотивационное поведение.

В итоге, воздействие протонами с различными значениями поглощенных доз вызывает нарушения в процессах обучения и усиление тревожности, что отражается и на моноаминергической системе головного мозга крыс. Воздействие протонами в пике Брэгга приводит к более серьезным нарушениям по сравнению с облучением протонами на пролете, даже при меньших значениях поглощенных доз. Известно, что при замедлении прохождения и остановке заряженных частиц (что и происходит в пике Брэгга), в ткани резко возрастает ЛПЭ и, соответственно, ОБЭ протонов. Этим феноменом можно объяснить значительно более выраженное влияние облучения в пике Брэгга на содержание моноаминов и их метаболитов. При этом, выявленное нами снижение содержания дофамина в префронтальной коре может быть непосредственно связано со снижением производительности рабочей памяти. Учитывая, что значимые эффекты после облучения в пике Брэгга касались лишь воспроизведения УРПИ, выработка которого производилась до облучения, можно предположить, что страдают уже образованные устойчивые связи, функционирующие с вовлечением дофаминергической нейромедиаторной системы. Этот эффект оказался неожиданным, поскольку хорошо известно, что процессы

формирования памяти до ее консолидации значительно более чувствительны к внешним воздействиям, в том числе радиационным, чем консолидированная временная связь (Кругликов, 1971; Федоров В.К., Ситдилов М.Х., 1972).

Изменения в префронтальной коре после облучения ионами углерода ^{12}C позволяют предположить также изменения в процессах обучения и памяти в связи с задействованием данной структуры в сложных когнитивных процессах, однако в рамках этого исследования, соответствующие поведенческие тесты проведены не были.

Воздействие моделируемой невесомости вызывает увеличение тревожности у мышей, наблюдаемое как в поведении, так и в небольших отклонениях в работе серотонинергической системы в префронтальной коре. Однако фактор ЦФ оказывает небольшое компенсаторное воздействие на фактор АНОВ на различных уровнях организации системы, как в рамках поведения, так и в рамках серотонинергической системы префронтальной коры. При комбинированном воздействии двух факторов также наблюдается увеличение метаболита серотонина, что может говорить об ускорении обменных процессов в головном мозге после выбранного воздействия.

При комбинированном воздействии более значимыми оказываются факторы облучения (О) или вывешивания (В), в зависимости от длительности вывешивания. При комбинировании О и В воздействий происходит нивелирование негативного влияния каждого из факторов. Поскольку, при тестировании спустя неделю, наиболее сильный эффект наблюдается у группы О, можно предположить большее токсическое воздействие данного фактора или же более существенные механизмы влияния облучения, что согласуется с литературными данными, о нарушениях нейрогенеза в гиппокампе после стрессовых ситуаций (Mahar et al., 2014) и облучения (Mizumatsu et al., 2003a).

Анализ молекулярных механизмов демонстрирует усиление метаболизма СТ, наблюдаемого в гиппокампе и стриатуме, и ДА в стриатуме при комбинированном воздействии. В то же время, повышение уровня экспрессии СОМТ в префронтальной коре, наблюдающееся у облученных животных, распространяется на гиппокамп и стриатум. Эти данные не только ложатся в доказательную базу активации обмена ДА,

но и могут свидетельствовать о тонкой настройке моноаминергических нейросетей, что нашло своё обоснование при анализе ответа нервной ткани на действие радиации.

Эти изменения, как и результаты поведенческого анализа, демонстрируют всё разнообразие взаимодействий эффектов изучаемых факторов, которое принимает различные формы. Предлагается назвать такой характер взаимодействия интерференционным по аналогии с физическим эффектом интерференции.

ВЫВОДЫ

1. Воздействие высокоэнергетических протонов вызывает сдвиг эмоционально-мотивационных отношений в сторону пассивно-оборонительного поведения и тревожности, а также вызывает нарушения в процессах обучения, статистически значимые при облучении в пике Брэгга. Изменения сопровождаются снижением концентрации моноаминов и их метаболитов в ключевых структурах мозга, особенно выраженное при облучении ионами углерода ^{12}C .
2. Выявлена высокая чувствительность префронтальной коры к экспериментальным воздействиям, что имеет принципиальное значение для формирования когнитивных функций.
3. В целом АноВ является превалирующим фактором в формировании поведенческих нарушений при использованных параметрах комбинированных воздействий.
4. Нейробиологические эффекты комбинированного действия АноВ и ионизирующих излучений зависят от длительности воздействия АноВ: наибольший эффект наблюдается при АноВ+гамма-облучение продолжительностью 30 суток; наименьший – 14 суток. 7-дневное воздействие занимает промежуточное положение. Возможно, это зависит от стадии общего адаптационного синдрома.
5. При разных условиях и параметрах комбинированных воздействий ионизирующих излучений различного качества и АноВ наблюдаются различные варианты эффектов их взаимодействия – как аддитивные или синергические, так и антагонистические. По аналогии с явлением интерференции это явление можно назвать интерференционным эффектом. Данный эффект проявляется на всех уровнях функциональной организации ЦНС – от молекулярного до интегративного.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....

	N-метил-D-аспартат
NMDA	
3-МТ	3-метокситирамин
5-ОИУК	5-оксииндолуксусная кислота
(5-HIAA)	
COMT	катехол-О-метилтрансфераза
IFN-гамма	Интерферон
IL	интерликин
Ppm	единица измерения концентрации (миллионная доля)
TH	тирозингидроксилаза
АКТГ	Аденокортикотропный гормон
АнОВ	антиортостатическое вывешивание
АнОГ	Антиортостатическая гиподинамия
АФА	Активные формы азота
АФК	активные формы кислорода
АЭС	Атомная Электростанция
БА	Болезнь Альцгеймера
В (S)	вывешивание
ВВЯ	верхнее вестибулярное ядро
ВНД	высшая нервная деятельность
ГАМК	гамма-аминомасляная кислота
ГВК	гаммаванилиновая кислота
(HVA)	

ГКЛ	галактические космические лучи
ГМ	Генетически модифицированные
ГМП	гипомагнитное поле
Гр	Грей
ДА (DA)	дофамин
ДВП, LTP	Долговременная потенция
ДОБА	3,4-диоксибензиламин
ДОФУК (DOPAC)	диоксифенилуксусная кислота
Зв	Зиверт
ИИ	ионизирующие излучения
ИФВЭ	институт физики высоких энергий
К	Контроль
ЛП	Латентный период
ЛПЭ	линейная передача энергии
М	моль
МКС	международная космическая станция
МэВ, ГэВ	Мегаэлектронвольт, гигаэлектронвольт
НА (NA)	норадреналин
О (IR)	облучение
О+В (IR-S)	облучение + вывешивание
ОБЭ	Относительная Биологическая Эффективность
ОП	Открытое поле
ПФК, (PFC)	Префронтальная кора
ПЦР	Полимеразная цепная реакция

Р	рентген
СКЛ	солнечные космические лучи
СОД	супероксиддисмутаза
СТ (5НТ, 50Т)	серотонин
ТЗЧ	тяжелые заряженные частицы
УР	Условный рефлекс
УРАИ	Условный рефлекс активного избегания
УРПИ	условные рефлексы пассивного избегания
ФКП	факторы космического полета
ЦНС	центральная нервная система
ЦФ	центрифуга
ЭЭГ	Электроэнцефалограмма

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Базян А. С., Сегал О.Л. Синаптические и паракринные несинаптические системы мозга млекопитающих // Нейрохимия. 2009. Т. 26. № 2. С. 93–103.
2. Базян А. С., Орлова Н.В., Гетсова В.М. Модификация дофамином активности моноаминоергических систем мозга и эмоциональных состояний крыс при выработке реакции эмоционального резонанса // Высшая нервная деятельность. 2000. Т. 50. № 3. С. 500–508.
3. Базян А.С., Григорьян Г.А., Иоффе М.Е. Регуляция моторного поведения // Успехи Физиологических Наук. 2011. Т. 42. № 3. С. 65–80.
4. Беляева А.Г., Штемберг А.С., Носовский А.М., Васильева О. Н., Гордеев Ю. В., Кудрин В.С., Наркевич В.Б., Красавин Е.А., Тимошенко Г.Н., Лапин, Б. А., Базян А. С. Воздействие высокоэнергетических протонов и ионов углерода С на когнитивные функции обезьян и содержание моноаминов и их метаболитов в периферической крови // Нейрохимия. 2017. Т. 34. № 2. С. 168–176.
5. Григорьев А.И., Красавин Е.А., Островский М.А. К вопросу о радиационном барьере при пилотируемых межпланетных полётах // 2017. С. 65–69.
6. Григорьев Ю.Г. Материалы к изучению реакции центральной нервной системы человека на проникающее излучение.// М.: Медгиз, 1958. С.136.
7. Григорьян Г.А. Новая упрощенная модель дискриминантного обучения мышей // Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова. 2005. Т. 55. №3. С. 418–426.
8. Кимельдорф, Д., Хант Э. Действие ионизирующей радиации на функции нервной системы.// М.: Атомиздат, 1969.С.376.
9. Королькова Г.А. Электрофизиологическое исследование влияния ионизирующей радиации на функциональное состояние коры головного мозга в норме и патологии. // Труды Института Высшей нервной деятельности, серия патофизиологическая. 1959. Т.3. С. 121–335.
10. Кругликов И.Р. Закономерности закрепления временных связей // в кн.

Физиология высшей нервной деятельности, ч.2. М: Наука, 1971. С. 34–59.

11. Лившиц, Н.Н., Мейзеров, Е.С., Закирова, Р.М., Тихая В.А. Сравнение изолированного и комбинированного действия вибрации и ионизирующих излучений на условные рефлексы и лабиринтные навыки крыс. // в кн. Функции центральной нервной системы при комбинированном действии стресс-факторов. М.: Наука, 1973. С. 41–51.

12. Маркель Л.А. К оценке основных характеристик поведения крыс в «открытом поле». // Высшая нервная деятельность, 1981. Т. 31. № 2. С. 301–307.

13. Сапецкий А.О., Ушаков, И.Б., Сапецкий, Н.В., Штемберг, А.С., Косицын, Н.С., Тимофеев Н.Н. Радиационная нейробиология дальних космических полетов // Успехи современной биологии. 2017. Т. 137. № 2. С. 165–194.

14. Ушаков И.Б., Штемберг А.С., Шафиркин А.В. Реактивность и резистентность организма млекопитающих. // М.: Наука. 2007. С.493.

15. Ушаков И.Б., Петров В.М., Шафиркин А.В., Штемберг А.С. Проблемы обеспечения радиационной безопасности человека в условиях межпланетных полетов // Радиационная биология. Радиоэкология. 2011. Т. 51. № 5. С. 596–610.

16. Федоров В.К., Ситдилов М.Х., Ширяева.Н.В. Выработка условного оборонительного рефлекса пассивного избегания у крыс // Высшая нервная деятельность. 1972. Т. 22. № 3. С. 624–627.

17. Шафиркин А.В., Григорьев Ю.Г., Коломенский А.В. Радиационный риск для космонавтов при осуществлении полета к Марсу //Авиакосмическая и экологическая медицина, 2004, Т.38, N2, С.3-1

18. Шафиркин А.В., Григорьев Ю.Г. Межпланетные и орбитальные космические полеты. Радиационный риск для космонавтов. Радиобиологическое обоснование // М. Изд. Экономика". 2009. 639 с

19. 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.

20. 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.

21. Штемберг А.С. Проблемы экспериментального исследования комбинированного действия факторов космического полета на функции организма животных //

Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2004. Т. 100. № 10. С. 1152–1168.

22. Ярмоненко С.П., Вайнсон.А.А. Радиобиология человека и животных. // М.: Высшая школа, 2004. С. 549.

23. 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. № 6. P. 1–13.

24. Amrein I. Adult hippocampal neurogenesis in natural populations of mammals. // 2015. V. 7. № 5. P. a021295.

25. Andolina D., Maran D., Valzania A., Conversi, D., Puglisi-Allegra S. Prefrontal/amygdalar system determines stress coping behavior through 5-HT/GABA connection // *Neuropsychopharmacology*. 2013. V. 38. № 10. P. 2057–2067.

26. Anger W.K. Neurobehavioural tests and systems to assess neurotoxic exposures in the workplace and community. // *Occupational and environmental medicine*. 2003. V. 60. № 7. P. 531–8, 474.

27. Arfat Y., Xiao W.Z., Iftikhar S., Zhao F., Li D.J., Sun Y.L., Zhang G., Shang P., Qian A.R. Physiological effects of microgravity on bone cells. // *Calcified tissue international*. 2014. V. 94. № 6. P. 569–79.

28. Arnsten A.F., Cai J.X., Murphy B.L., Goldman-Rakic P.S. Dopamine D1 receptor mechanisms in the cognitive performance of young adult and aged monkeys // *Psychopharmacology (Berl)*. 1994. V. 116. № 2. P. 143–151.

29. BEIR V. Health Effects of Exposure to Low Levels of Ionizing Radiation., 1990.

30. Belujon P., Patton M.H., Grace A.A. Role of the prefrontal cortex in altered hippocampal-accumbens synaptic plasticity in a developmental animal model of schizophrenia. // *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)*. 2014. V. 24. № 4. P. 968–77.

31. Berchtold, N.C., Coleman, P.D., Cribbs, D. H., Rogers, J., Gillen, D.L., Cotman, C.W. и др. Synaptic genes are extensively downregulated across multiple brain regions in

normal human aging and Alzheimer's disease // *Neurobiology of Aging*. 2013. V. 34. № 6. P. 1653–1661.

32. Bockstaele E.J., Biswas A.V, Pickel V.M. Topography of serotonin neurons in the dorsal raphe nucleus that send axon collaterals to the rat prefrontal cortex and nucleus accumbens. // *Brain research*. 1993. V. 624. № 1–2. P. 188–98.

33. Bohm E.L, Hendry J.F., Hill J.R., Heron J. M., Trott K. L. Wondergem J.C. Radiation biology: a handbook for teachers and students. Vienna: , 2010.

34. 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 ⁵⁶ Fe-Particle Radiation Lead to a Persistent Reduction in the Spatial Learning Ability of Rats // *Radiation Research*. 2012. V. 177. № 2. P. 146–151.

35. Britten R.A., Davis L.K., Jewell J.S., Miller V.D., Hadley M.M., Sanford L.D., Machida M.,

Lonart G. Exposure to Mission Relevant Doses of 1 GeV/Nucleon ⁵⁶ Fe Particles Leads to Impairment of Attentional Set-Shifting Performance in Socially Mature Rats // *Radiation Research*. 2014. V. 182. № 3. P. 292–298.

36. Bromet E.J., Havenaar J.M., Guey L.T. A 25 year retrospective review of the psychological consequences of the Chernobyl accident. // *Clinical oncology (Royal College of Radiologists (Great Britain))*. 2011. V. 23. № 4. P. 297–305.

37. Buckner R.L., Wheeler M.E. The cognitive neuroscience of remembering. // *Nature reviews. Neuroscience*. 2001. V. 2. № 9. P. 624–34.

38. Burgoyne R.D., Barclay J.W., Ciufo L.F., Graham M.E., Handley M.T.W., Morgan, A. The functions of Munc18-1 in regulated exocytosis. // *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2009. V. 1152. P. 76–86.

39. Butler R.W., Haser J.K. Neurocognitive effects of treatment for childhood cancer // *Mental Retardation/ and Developmental Disabilities Research Reviews*. 2006. V. 12. № 3. P. 184–191.

40. Carey A.N., Shukitt-Hale B., Rabin, B.M., Joseph, J.A. Interaction between age and exposure to ⁵⁶Fe particles on behavior and neurochemistry // *Advances in Space Research*. 2007. V. 39. № 6. P. 987–993.

41. Casadesus G., Shukitt-Hale B., Cantuti-Castelvetri I., Rabin, B. M., Joseph, J. A. The effects of heavy particle irradiation on exploration and response to environmental change // *Advances in Space Research*. 2004. V. 33. № 8. P. 1340–1346.
42. Chakraborti A., Allen A., Allen B., Rosi S., Fike J.R. Cranial irradiation alters dendritic spine density and morphology in the hippocampus // *PLoS ONE*. 2012. V. 7. № 7.
43. Cheng F., Vivacqua G., Yu S. The role of alpha-synuclein in neurotransmission and synaptic plasticity // *Journal of Chemical Neuroanatomy*. 2011. V. 42. № 4. P. 242–248.
44. Cherry J.D., Liu B., Frost J.L., Lemere C.A., Williams J.P., Olschowka J.A., O'Banion M. K. Galactic Cosmic Radiation Leads to Cognitive Impairment and Increased A β Plaque Accumulation in a Mouse Model of Alzheimer's Disease // *PLoS ONE*. 2012. V. 7. № 12.
45. Chiba T. Collateral projection from the amygdalo--hippocampal transition area and CA1 to the hypothalamus and medial prefrontal cortex in the rat. // *Neuroscience research*. 2000. V. 38. № 4. P. 373–83.
46. Chuang S.-Y., Lin C.-H., Fang J.-Y. Natural compounds and aging: between autophagy and inflammasome. // *BioMed research international*. 2014. V. 2014. P. 297293.
47. Clément G., Paloski W. H., Rittweger J., Linnarsson D., Bareille M. P., Mulder E., Wuyts F. L., Zange, J. Centrifugation as a countermeasure during bed rest and dry immersion: What has been learned? // *Journal of Musculoskeletal Neuronal Interactions*. 2016. V. 16. № 2. P. 84–91.
48. Costa J. Neurocognitive effects of childhood cancer treatment. // *Advances in experimental medicine and biology*. 2010. V. 678. P. 26–32.
49. Cryan J.F., Mombereau C., Vassout A. The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: Review of pharmacological and genetic studies in mice // *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 2005. V. 29. № 4–5. P. 571–625.
50. Cucinotta F.A., Alp M., Sulzman F.M., Wang M. Space radiation risks to the central nervous system // *Life Sciences in Space Research*. 2014. V. 2. P. 54–69.
51. Cucinotta F.A. Review of NASA approach to space radiation risk assessments for mars exploration // *Health Physics*. 2015. V. 108. № 2. P. 131–142.

52. Cucinotta F.A., Durante M. Cancer risk from exposure to galactic cosmic rays: implications for space exploration by human beings // *Lancet Oncol.* 2006. V. 7. № 5. P. 431–435.
53. Cucinotta F.A., Nikjoo H., Goodhead D.T. The Effects of Delta Rays on the Number of Particle-Track Traversals per Cell in Laboratory and Space Exposures // *Radiation Research.* 1998. V. 150. № 1. P. 115.
54. Cucinotta F.A., Nikjoo H., Goodhead D.T. Applications of amorphous track models in radiation biology // *Radiation and Environmental Biophysics.* 1999. V. 38. № 2. P. 81–92.
55. Curtis S.B., Vazquez M. E., Wilson J. W., Atwell W., Kim M. Capala J. Cosmic ray hit frequencies in critical sites in the central nervous system // *Advances in Space Research.* 1998. V. 22. № 2. P. 197–207.
56. Curtis S.B., Vazquez M. E., Wilson J. W., Atwell W., Kim M. Cosmic ray hits in the central nervous system at solar maximum // *Advances in Space Research.* 2000. V. 25. № 10. P. 2035–2040.
57. Dalecki M., Bock O., Guardiera S. Simulated flight path control of fighter pilots and novice subjects at +3 Gz in a human centrifuge // *Aviation Space and Environmental Medicine.* 2010. V. 81. № 5. P. 484–488.
58. Davis C.M., DeCicco-Skinner K.L., Roma P.G., Hienz R.D. Individual Differences in Attentional Deficits and Dopaminergic Protein Levels following Exposure to Proton Radiation // *Radiation Research.* 2014. V. 181. № 3. P. 258–271.
59. Denisova N., Shukitt-Hale B., Rabin B.M., Joseph J. A Brain signaling and behavioral responses induced by exposure to (56)Fe-particle radiation. // *Radiation research.* 2002. V. 158. № 6. P. 725–34.
60. Diao J., Burré J., Vivona S., Cipriano D.J., Sharma M., Kyoung M., Südhof T.C., Brunger A.T. Native α -synuclein induces clustering of synaptic-vesicle mimics via binding to phospholipids and synaptobrevin-2/VAMP2. // *eLife.* 2013. V. 2. P. e00592.
61. Egana E. Some effects of ionizing radiations on the metabolism of the central nervous system // *Int. J. Neurol.* 1962. V. 3. P. 631–647.
62. Endo I., Matsumoto T. Space flight/bedrest immobilization and bone. Bisphosphonate and the loss of bone mineral due to space flight or prolonged bed rest. // *Clinical calcium.*

2012. V. 22. № 12. P. 1863–70.

63. Figueira F.H., Leal C.Q., de Moraes Reis E., Röpke J., Wagner C., da Rocha J.B. Teixeira F.R. Effects of diphenyl diselenide on behavioral and biochemical changes induced by amphetamine in mice // *Journal of Neural Transmission*. 2014. V. 122. № 2. P. 201–209.
64. Fishman K., Baure J., Zou Y., Huang T.T., Andres-Mach M., Rola R., Suarez T., Acharya M., Limoli C L., Lamborn K R., Fike J.R.. Radiation-induced reductions in neurogenesis are ameliorated in mice deficient in CuZnSOD or MnSOD // *Free Radical Biology and Medicine*. 2009. V. 47. № 10. P. 1459–1467.
65. Giedzinski E., Rola R., Fike J.R., Limoli C.L. Efficient production of reactive oxygen species in neural precursor cells after exposure to 250 MeV protons. // *Radiation research*. 2005. V. 164. № 4 Pt 2. P. 540–544.
66. Giovanni, G., Esposito, E., Di Matteo V. Di. 5-HT_{2C} Receptors in the Pathophysiology of CNS Disease. New York: , 2011. Вып. Humana Pre.
67. Goldberg I.D., Bloomer W.D., Dawson D.M. Nervous system toxic effects of cancer therapy. // *JAMA*. 1982. V. 247. № 10. P. 1437–41.
68. Grabherr L., Mast F.W. Effects of microgravity on cognition: The case of mental imagery // *Journal of Vestibular Research: Equilibrium and Orientation*. , 2010. P. 53–60.
69. Graeff F. G., Silveira M. C. L., Nogueira R. L., Audi E. A., Oliveira R. M. W. Role of the amygdala and periaqueductal gray in anxiety and panic // *Behavioural Brain Research*. 1993. V. 58. № 1–2. P. 123–131.
70. Greene-Schloesser D., Robbins M.E., Peiffer A.M., Shaw E.G., Wheeler K.T., Chan M.D. Radiation-induced brain injury: A review // *Frontiers in Oncology*. 2012. V.2..
71. Hada M., Meador J.A., Cucinotta F.A., Gonda S.R., Wu H. Chromosome aberrations induced by dual exposure of protons and iron ions 2007. 125–129 c.
72. Haley G.E., Yeiser L., Olsen R.H.J., Davis M.J., Johnson L.A., Raber J. Early effects of whole-body (56)Fe irradiation on hippocampal function in C57BL/6J mice. // *Radiation research*. 2013. V. 5 №179. P. 590–6.
73. Hall P., Adami H.-O., Trichopoulos D., Pedersen N.L., Lagiou P., Ekblom A., Ingvar M., Lundell M., Granath F. Effect of low doses of ionising radiation in infancy on

cognitive function in adulthood: Swedish population based cohort study. // *BMJ NoClinical research ed.*. 2004. V. 7430 No328. P. 19.

74. Herculano-Houzel S. The remarkable, yet not extraordinary, human brain as a scaled-up primate brain and its associated cost // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2012. V. Supplement_1 No109. P. 10661–10668.

75. Horneck G., Facius R., Reitz G., Rettberg P., Baumstark-Khan C., Gerzer R. Critical issues in connection with human missions to Mars: protection of and from the Martian environment. // *Advances in space research : the official journal of the Committee on Space Research (COSPAR)* 2003. V. 1 No31. P. 87–95.

76. Hu K., Carroll J., Rickman C., Davletov B. Action of complexin on SNARE complex. // *The Journal of biological chemistry*. 2002. V. 44 No277. P. 41652–6.

77. Huang T.-T. Redox balance- and radiation-mediated alteration in hippocampal neurogenesis // *Free Radical Research*. 2012. V. 8 No46. P. 951–958.

78. Hubbard T.L. Environmental invariants in the representation of motion: Implied dynamics and representational momentum, gravity, friction, and centripetal force. // *Psychonomic bulletin & review*. 1995. V. 3 No2. P. 322–38.

79. Ishikawa A. Ventral Hippocampal Neurons Project Axons Simultaneously to the Medial Prefrontal Cortex and Amygdala in the Rat // *Journal of Neurophysiology*. 2006. V. 4 No96. P. 2134–2138.

80. Iwata C., Abe C., Nakamura M., Morita H. Hypergravity exposure for 14 days increases the effects of propofol in Rats // *Anesthesia and Analgesia*. 2014. V. 1 No118. P. 125–131.

81. Jenrow K.A., Brown S.L., Lapanowski K., Naei H., Kolozsvary A., Kim J.H. Selective Inhibition of Microglia-Mediated Neuroinflammation Mitigates Radiation-Induced Cognitive Impairment // *Radiation Research*. 2013. V. 5 No179. P. 549–556.

82. Jensen M., Ratner C., Rudenko O., Christiansen S.H., Skov L.J., Hundahl C., Woldbye D.P.D., Holst B. Anxiolytic-like effects of increased ghrelin receptor signaling in the amygdala // *International Journal of Neuropsychopharmacology*. 2016. V. 5 No19.

83. Joseph, J. A., Cutler R.C. The Role of Oxidative Stress in Signal Transduction Changes and Cell Loss in Senescence // *Annals of the New York Academy of Sciences*.

1994. V. 1 №738. P. 37–43.

84. Keime-Guibert F., Napolitano M., Delattre J.-Y. Neurological complications of radiotherapy and chemotherapy // *Journal of Neurology*. 1998. V. 11 №245. P. 695–708.

85. Kim M.H.Y., Cucinotta F.A., Wilson J.W. A temporal forecast of radiation environments for future space exploration missions 2007. 95–100 с.

86. Kimeldorf, D. J., Hunt E.L. Ionizing radiation : neural function and behavior. / E.L. Kimeldorf, D. J., Hunt, Academic P-е изд., New York:, 1965. 331 с.

87. Kokhan V.S., Afanasyeva M.A., Van'kin G.I. α -Synuclein knockout mice have cognitive impairments // *Behavioural Brain Research*. 2012. V. 1 №231. P. 226–230.

88. Kokhan V.S., Matveeva M.I., Mukhametov A., Shtemberg A.S. Risk of defeats in the central nervous system during deep space missions // *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 2016. V. 71. 621–632 с.

89. Kokošová N., Tomášová L., Kisková T., Šmajda B. Neuronal Analysis and Behaviour in Prenatally Gamma-Irradiated Rats // *Cellular and Molecular Neurobiology*. 2014. V. 1 №35. P. 45–55.

90. Krackow S. [и др.]. Consistent behavioral phenotype differences between inbred mouse strains in the IntelliCage // *Genes, Brain and Behavior*. 2010. V. 7 №9. P. 722–731.

91. Krishnakumar S.S. [и др.]. A conformational switch in complexin is required for synaptotagmin to trigger synaptic fusion. // *Nature structural & molecular biology*. 2011. V. 8 №18. P. 934–40.

92. Kumar M., Haridas S., Trivedi R., Khushu S., Manda K. Early cognitive changes due to whole body γ -irradiation: A behavioral and diffusion tensor imaging study in mice // *Experimental Neurology*. 2013. №248. P. 360–368.

93. Le O., Palacio L., Bernier G., Batinic-Haberle I., Hickson G., Beauséjour P. INK4a/ARF Expression Impairs Neurogenesis in the Brain of Irradiated Mice // *Stem Cell Reports*. 2018. V. 6 №10. P. 1721–1733.

94. Lelkes P.I., Ramos E.M., Chick D.M., Liu J.D., Unsworth B.R. Microgravity decreases tyrosine hydroxylase expression in rat adrenals // *FASEB Journal*. 1994. V. 14 №8. P. 1177–1182.

95. Liao A.C., Craver B.M., Tseng B.P., Tran K.K., Parihar V.K., Acharya M.M., Limoli

- C.L. Mitochondrial-Targeted Human Catalase Affords Neuroprotection From Proton Irradiation // *Radiation Research*. 2013. V. 1 №180. P. 1–6.
96. Limoli C.L., Giedzinski E., Baure J., Rola R., Fike J.R. Redox changes induced in hippocampal precursor cells by heavy ion irradiation 2007. 167–172 c.
97. Limoli C.L., Giedzinski E., Rola R., Otsuka S., Palmer T.D., Fike J.R. Radiation Response of Neural Precursor Cells: Linking Cellular Sensitivity to Cell Cycle Checkpoints, Apoptosis and Oxidative Stress // *Radiation Research*. 2004. V. 1 №161. P. 17–27.
98. Loganovsky K.N. EEG Patterns in Persons Exposed to Ionizing Radiation as a Result of the Chernobyl Accident: Part 1: Conventional EEG Analysis // *Journal of Neuropsychiatry*. 2001. V. 4 №13. P. 441–458.
99. Lonart G., Parris B., Johnson A.M., Miles S., Sanford L.D., Singletary S.J., Britten R.A. Executive Function in Rats is Impaired by Low (20 cGy) Doses of 1 GeV/u ^{56}Fe Particles // *Radiation Research*. 2012. V. 4 №178. P. 289–294.
100. Lotharius J., Brundin P. Impaired dopamine storage resulting from alpha-synuclein mutations may contribute to the pathogenesis of Parkinson's disease. // *Human molecular genetics*. 2002. V. 20 №11. P. 2395–407.
101. Lyubimova N., Hopewell J.W. Experimental evidence to support the hypothesis that damage to vascular endothelium plays the primary role in the development of late radiation-induced CNS injury // *British Journal of Radiology*. 2004. V. 918 №77. P. 488–492.
102. Machida M., Lonart G., Britten R.A. Low (60 cGy) Doses of ^{56}Fe HZE-Particle Radiation Lead to a Persistent Reduction in the Glutamatergic Readily Releasable Pool in Rat Hippocampal Synaptosomes // *Radiation Research*. 2010. V. 5 №174. P. 618–623.
103. Mahar I., Bambico F.R., Mechawar N., Nobrega J.N. Stress, serotonin, and hippocampal neurogenesis in relation to depression and antidepressant effects // *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2014. №38. P. 173–192.
104. Maier S.F. Bi-directional immune-brain communication: Implications for understanding stress, pain, and cognition // *Brain, Behavior, and Immunity*. 2003. V. 17. P. 69–85 c.

105. Manda K., Ueno M., Anzai K. Memory impairment, oxidative damage and apoptosis induced by space radiation: Ameliorative potential of α -lipoic acid // Behavioural Brain Research. 2008.
106. Mandillo S., Signore A. Del, Paggi P., Francia N., Santucci D., Mele A., Oliverio A. Effects of acute and repeated daily exposure to hypergravity on spatial learning in mice // Neuroscience Letters. 2003. V. 3 №336. P. 147–150.
107. Manti L. Does reduced gravity alter cellular response to ionizing radiation? // Radiation and Environmental Biophysics. 2006. V. 1 №45. P. 1–8.
108. Mao X.W., Nishiyama N.C., Pecaut M.J., Campbell-Beachler M., Gifford P., Haynes K.E., Becronis C., Gridley D.S. Simulated Microgravity and Low-Dose/Low-Dose-Rate Radiation Induces Oxidative Damage in the Mouse Brain // Radiation Research. 2016. V. 6 №185. P. 647–657.
109. Marquette C., Linard C., Galonnier M., Uye A. Van, Mathieu J., Gourmelon P., Clarençon D. IL-1 β , TNF α and IL-6 induction in the rat brain after partial-body irradiation: Role of vagal afferents // International Journal of Radiation Biology. 2003.
110. Martin C., Martin S., Viret R., Denis J., Mirguet F., Diserbo M., Multon E., Lamproglou I. Low dose of the gamma acute radiation syndrome №1.5 Gy) does not significantly alter either cognitive behavior or dopaminergic and serotonergic metabolism. // Cellular and Molecular Biology. 2001. V. 3 №47. P. 459–465.
111. Mcphee J.C., Charles J.B. Human health and performance risks of space exploration missions // National Aeronautics and Space Administration №NASA 2009. P. 1–398.
112. Mink J.W. The Basal Ganglia and involuntary movements: impaired inhibition of competing motor patterns. // Archives of neurology. 2003. V. 10 №60. P. 1365–8.
113. Mitani K., Horii A., Kubo T. Impaired spatial learning after hypergravity exposure in rats. // Brain research. Cognitive brain research. 2004. V. 1 №22. P. 94–100.
114. Mizumatsu S., Monje M.L., Morhardt D.R., Rola R., Palmer T.D., Fike J.R. Extreme Sensitivity of Adult Neurogenesis to Low Doses of Extreme Sensitivity of Adult Neurogenesis to Low Doses of X-Irradiation // Cancer research. 2003. V. 14 №63. P. 4021–4027.
115. Mizumatsu S., Monje M.L., Morhardt D.R., Rola R., Palmer T.D., Fike J.R. Extreme

- sensitivity of adult neurogenesis to low doses of X-irradiation. // *Cancer research*. 2003. V. 14 №63. P. 4021–71.
116. Molodtsova G.F. Metabolism and receptor binding of serotonin in brain structures during performance of a conditioned passive avoidance response // *Neuroscience and Behavioral Physiology*. 2005.
117. Monje M., Dietrich J. Cognitive side effects of cancer therapy demonstrate a functional role for adult neurogenesis // *Behavioural Brain Research*. 2012. V. 227. V. 2. 376–379 c.
118. Monje M.L., Mizumatsu S., Fike J.R., Palmer T.D. Irradiation induces neural precursor-cell dysfunction // *Nature Medicine*. 2002. V. 9 №8. P. 955–962.
119. Monje M.L., Toda H., Palmer T.D. Inflammatory Blockade Restores Adult Hippocampal Neurogenesis // *Science*. 2003. V. 5651 №302. P. 1760–1765.
120. Moreno-Villanueva M., Wong M., Lu T., Zhang Y., Wu H. Interplay of space radiation and microgravity in DNA damage and DNA damage response // *npj Microgravity*. 2017. V. 1 №3. P. 14.
121. Mulavara A.P., Feiveson A.H., Fiedler J., Cohen H., Peters B.T., Miller C., Brady R., Bloomberg J.J. Locomotor function after long-duration space flight: effects and motor learning during recovery. // *Experimental brain research*. 2010. V. 3 №202. P. 649–59.
122. Munhoz C.D., Lepsch L.B., Kawamoto E.M., Malta M.B., Lima L. de S., Avellar M.C.W., Sapolsky R.M., Scavone P. Chronic unpredictable stress exacerbates lipopolysaccharide-induced activation of nuclear factor-kappaB in the frontal cortex and hippocampus via glucocorticoid secretion. // *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2006. V. 14 №26. P. 3813–20.
123. Narici L. Heavy ions light flashes and brain functions: Recent observations at accelerators and in spaceflight // *New Journal of Physics*. 2008. №10.
124. Naumenko V.S. [и др.]. Effect of actual long-term spaceflight on BDNF, TrkB, p75, BAX and BCL-XL genes expression in mouse brain regions // *Neuroscience*. 2015.
125. Nelson G.A., Simonsen L., Huff J.L.. Risk of Acute or Late Central Nervous System Effects from Radiation Exposure // *Exposure*. 2016. P. 191–212.
126. Norbury J.W., Slaba T.C. Space radiation accelerator experiments - The role of

- neutrons and light ions // *Life Sciences in Space Research*. 2014. V. 3. 90–94 c.
127. Obermeier B., Daneman R., Ransohoff R.M. Development, maintenance and disruption of the blood-brain barrier // *Nature Medicine*. 2013. V. 19. V. 12. 1584–1596 c.
128. Otake M., Schull W.J. Radiation-related brain damage and growth retardation among the prenatally exposed atomic bomb survivors. // *International journal of radiation biology*. 1998. V. 2 №74. P. 159–71.
129. Pang Z.P., Melicoff E., Padgett D., Liu Y., Teich A.F., Dickey B.F., Lin W., Adachi R., Südhof T.C. Synaptotagmin-2 is essential for survival and contributes to Ca²⁺ triggering of neurotransmitter release in central and neuromuscular synapses. // *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2006. V. 52 №26. P. 13493–504.
130. Parihar V.K., Limoli C.L. Cranial irradiation compromises neuronal architecture in the hippocampus // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2013. V. 31 №110. P. 12822–12827.
131. Parihar V.K., Pasha J., Tran K.K., Craver B.M., Acharya M.M., Limoli C.L. Persistent changes in neuronal structure and synaptic plasticity caused by proton irradiation // *Brain Structure and Function*. 2015. V. 2 №220. P. 1161–1171.
132. Park M.-K., Kim S., Jung U., Kim I., Kim J.K., Roh P. Effect of Acute and Fractionated Irradiation on Hippocampal Neurogenesis // *Molecules*. 2012. V. 12 №17. P. 9462–9468.
133. Parsons J.L., Townsend L.W. Interplanetary crew dose rates for the August 1972 solar particle event. // *Radiation research*. 2000. V. 6 №153. P. 729–33.
134. Pathak D., Berthet A., Bendor J.T., Yu K., Sellnow R.C., Orr A.L., Nguyen M.K., Edwards R.H., Manfredsson F.P., Nakamura K. Loss of α -Synuclein Does Not Affect Mitochondrial Bioenergetics in Rodent Neurons. // *eNeuro*. 2017. V. 2 №4.
135. Pecaut M.J., Gridley D.S., Smith A.L., Nelson G.A. Dose and dose rate effects of whole-body proton-irradiation on lymphocyte blastogenesis and hematological variables: Part II // *Immunology Letters*. 2001. V. 1 №80. P. 67–73.
136. Pecaut M.J., Haerich P., Miller C.N., Smith A.L., Zendejas E.D., Nelson G.A. The effects of low-dose, high-LET radiation exposure on three models of behavior in C57BL/6

mice // *Radiat Res.* 2004. V. 2 №162. P. 148–156.

137. Pecaut M.J., Haerich P., Zuccarelli C.N., Smith A.L., Zendejas E.D., Nelson G.A. Behavioral consequences of radiation exposure to simulated space radiation in the C57BL/6 mouse: open field, rotorod, and acoustic startle. // *Cognitive, affective & behavioral neuroscience.* 2002. V. 4 №2. P. 329–40.

138. Pevsner J., Hsu S.C., Braun J.E.A., Calakos N., Ting A.E., Bennett M.K., Scheller R.H. Specificity and regulation of a synaptic vesicle docking complex // *Neuron.* 1994.

139. Pietsch J., Bauer J., Egli M., Infanger M., Wise P., Ulbrich C., Grimm D. The Effects of Weightlessness on the Human Organism and Mammalian Cells // *Current Molecular Medicine.* 2011. V. 5 №11. P. 350–364.

140. Pinsky L.S., Osborne W.Z., Bailey J. V., Benson R.E., Thompson L.F. Light flashes observed by astronauts on Apollo 11 through Apollo 17 // *Science.* 1974. V. 4128 №183. P. 957–959.

141. Poulouse S.M., Bielinski D.F., Carrihill-Knoll K., Rabin B.M., Shukitt-Hale B. Exposure to ^{16}O -particle radiation causes aging-like decrements in rats through increased oxidative stress, inflammation and loss of autophagy // *Radiation research.* 2011. V. 6 №176. P. 761–769.

142. Raber J., Allen A.R., Sharma S., Allen B., Rosi S., Olsen R.H.J., Davis M.J., Eiwaz M., Fike J.R., Nelson G.A. Effects of Proton and Combined Proton and ^{56}Fe Radiation on the Hippocampus // *Radiation Research.* 2016. V. 1 (185). P. 20–30.

143. Raber J., Rola R., LeFevour A., Morhardt D., Curley J., Mizumatsu S., VandenBerg S.R., Fike J.R. Radiation-Induced Cognitive Impairments are Associated with Changes in Indicators of Hippocampal Neurogenesis // *Radiation Research.* 2004. V. 1 (162). P. 39–47.

144. Raber J., Villasana L., Rosenberg J., Zou Y., Huang T.T., Fike J.R. Irradiation enhances hippocampus-dependent cognition in mice deficient in extracellular superoxide dismutase // *Hippocampus.* 2011. V. 1 (21). P. 72–80.

145. Rabin B.M., Buhler L.L., Joseph J.A., Shukitt-Hale B., Jenkins D.G. Effects of exposure to ^{56}Fe particles or protons on fixed-ratio operant responding in rats // *J Radiat Res (Tokyo).* 2002.

146. Rabin B.M., Carrihill-Knoll K.L., Shukitt-Hale B. Operant responding following exposure to HZE particles and its relationship to particle energy and linear energy transfer // *Advances in Space Research*. 2011. V. 2 (48). P. 370–377.
147. Rabin B.M., Joseph J. a, Shukitt-Hale B. A longitudinal study of operant responding in rats irradiated when 2 months old. // *Radiation research*. 2005. V. 4 Pt 2
148. P. 552–5.
149. 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. V. 8 (33). P. 1330–1333.
150. Rabin B.M., Joseph J.A., Shukitt-Hale B., Carrihill-Knoll K.L. Interaction between age of irradiation and age of testing in the disruption of operant performance using a ground-based model for exposure to cosmic rays // *AGE*. 2012. V. 1 (34). P. 121–131.
151. Rabin B.M., Joseph J.A., Shukitt-Hale B., McEwen J. Effects of exposure to heavy particles on a behavior mediated by the dopaminergic system // *Advances in Space Research*. 2000. V. 10 (25). P. 2065–2074.
152. 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}O particles on cognitive performance in rats. // *Radiation research*. 2014. V. 3 (181). P. 251–7.
153. Rice O. V., Grande A. V., Dehkyar N., Bruneus M., Robinson J.K., Gatley S.J. Long-term effects of irradiation with iron-56 particles on the nigrostriatal dopamine system // *Radiation and Environmental Biophysics*. 2009. V. 2 (48). P. 215–225.
154. Rubin P., Casarett G.W. Clinical radiation pathology as applied to curative radiotherapy // *Cancer*. 1968. V. 4 (22). P. 767–778.
155. Sakakibara Y., Kasahara Y., Hall F.S., Lesch K.-P., Murphy D.L., Uhl G.R., Sora I. Developmental alterations in anxiety and cognitive behavior in serotonin transporter mutant mice // *Psychopharmacology*. 2014. V. 21 (231). P. 4119–4133.
156. Sandi C., Pinelo-Nava M.T. Stress and memory: Behavioral effects and neurobiological mechanisms // *Neural Plasticity*. 2007. (2007).
157. Sawaguchi T., Goldman-Rakic P.S. D1 dopamine receptors in prefrontal cortex: involvement in working memory. // *Science*. 1991. V. 4996 (251). P. 947–50.

158. Schiavo G., Stenbeck G., Rothman J.E., Söllner T.H. 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.
159. Schneider S., Guardiera S., Kleinert J., Steinbacher A., Abel T., Carnahan H., Strüder H.K. Centrifugal acceleration to 3Gz is related to increased release of stress hormones and decreased mood in men and women // *Stress*. 2008. V. 5 (11). P. 339–347.
160. Schultheiss T.E., Kun L.E., Ang K.K., Stephens L.C. Radiation response of the central nervous system // *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*. 1995. V. 5 (31). P. 1093–1112.
161. Shanmugarajan S., Zhang Y., Moreno-Villanueva M., Clanton R., Rohde L.H., Ramesh G.T., Sibonga J.D., Wu H. Combined effects of simulated microgravity and radiation exposure on osteoclast cell fusion // *International Journal of Molecular Sciences*. 2017. V. 11 (18). P. 1–12.
162. Shi L., Adams M.M., Long A., Carter C.C., Bennett C., Sonntag W.E., Nicolle M.M., Robbins M., D'Agostino R., Brunso-Bechtold J.K. Spatial Learning and Memory Deficits after Whole-Brain Irradiation are Associated with Changes in NMDA Receptor Subunits in the Hippocampus // *Radiation Research*. 2006. V. 6 (166). P. 892–899.
163. 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. // *Radiation research*. 2000. V. 1 (154). P. 28–33.
164. Shukitt-Hale B., Lau F.C., Cheng V., Luskin K., Carey A.N., Carrihill-Knoll K., Rabin B.M., Joseph J. a Changes in gene expression in the rat hippocampus following exposure to ⁵⁶Fe particles and protection by berry diets. // *Central nervous system agents in medicinal chemistry*. 2013. V. 1 (13). P. 36–42.
165. Shukitt-Hale B., Szprengiel A., Pluhar J., Rabin B.M., Joseph J.A. The effects of proton exposure on neurochemistry and behavior // *Advances in Space Research*. 2004. V. 8 (33). P. 1334–1339.
166. Sokolova I. V., Schneider C.J., Bezaire M., Soltesz I., Vlkolinsky R., Nelson G.A. Proton Radiation Alters Intrinsic and Synaptic Properties of CA1 Pyramidal Neurons of

- the Mouse Hippocampus // *Radiation Research*. 2015. V. 2 (183). P. 208–218.
167. Steiner J.A., Carneiro A.M.D., Blakely R.D. Going with the Flow: Trafficking-Dependent and -Independent Regulation of Serotonin Transport // *Traffic*. 2008. V. 9 (9). P. 1393–1402.
168. Strangman G.E., Sipes W., Beven G. Human cognitive performance in spaceflight and analogue environments // *Aviation Space and Environmental Medicine*. 2014. V. 10 (85). P. 1033–1048.
169. Straume T, Amundson SA, Blakely WF, Burns FJ, Chen A, Dainiak N, Franklin S L.J., Loftus DJ, Morgan WF, Pellmar TC, Stolc V, Turteltaub KW, Vaughan AT V.S., AJ W. NASA Radiation Biomarker Workshop // *Radiat Res*. 2007. V. 3 (170). P. :393-405.
170. Tobias, P. A., Anger, H. O., Lawrence J.H. Radiological use of high energy deuterons and alpha particles. // *The American journal of roentgenology, radium therapy, and nuclear medicine*. 1952. V. 1 (67). P. 1–27.
171. Todd P. The evolving microlesion concept // *Advances in Space Research*. 1986. V. 11 (6). P. 187–189.
172. Todd P. Stochastics of HZE-induced mulesions // *Advances in Space Research*. 1989. V. 10 (9). P. 31–34.
173. Tseng B.P. [и др.]. Functional Consequences of Radiation-Induced Oxidative Stress in Cultured Neural Stem Cells and the Brain Exposed to Charged Particle Irradiation // *Antioxidants & Redox Signaling*. 2014. V. 9 (20). P. 1410–1422.
174. Tseng B.P., Lan M.L., Tran K.K., Acharya M.M., Giedzinski E., Limoli C.L. Characterizing low dose and dose rate effects in rodent and human neural stem cells exposed to proton and gamma irradiation // *Redox Biology*. 2013. V. 1 (1). P. 153–162.
175. Tsybko A.S., Ilchibaeva T. V., Kulikov A. V., Kulikova E.A., Krasnov I.B., Sychev V.N., Shenkman B.S., Popova N.K., Naumenko V.S. Effect of microgravity on glial cell line-derived neurotrophic factor and cerebral dopamine neurotrophic factor gene expression in the mouse brain // *Journal of Neuroscience Research*. 2015.
176. Villasana L., Poage C., Meer P. van, Raber J. Passive avoidance learning and memory of ⁵⁶Fe sham-irradiated and irradiated human apoE transgenic mice. // *Radiatsionnaia biologiiia, radioecologiiia / Rossiiskaia akademiia nauk*. 2008. V. 2 (48). P.

167–170.

177. Villasana L.E., Benice T.S., Raber J. Long-term effects of ^{56}Fe irradiation on spatial memory of mice: role of sex and apolipoprotein E isoform // *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2011. V. 2 (80). P. 567–573.

178. Vlkolinsky R., Titova E., Krucker T., Chi B.B., Staufenbiel M., Nelson G.A., Obenaus A. Exposure to ^{56}Fe -Particle Radiation Accelerates Electrophysiological Alterations in the Hippocampus of APP23 Transgenic Mice // *Radiation Research*. 2010. V. 3 (173). P. 342–352.

179. Wang Y., Iqbal J., Liu Y., Su R., Lu S., Peng G., Zhang Y., Qing H., Deng Y. Effects of simulated microgravity on the expression of presynaptic proteins distorting the GABA/glutamate equilibrium - A proteomics approach // *Proteomics*. 2015. V. 22 (15). P. 3883–3891.

180. Wardener H.E. de, Wardener H.E. de, Wardener H.E. de, Wardener H.E. de The hypothalamus and hypertension. // *Physiological reviews*. 2001. V. 4 (81). P. 1599–658.

181. Weatherall D The use of non-human primates in research // *Critique*. 2006. V. 1 (2). P. 221–230.

182. Whimbey A.E., Denenberg V.H. Two independent behavioral dimensions in open-field performance. // *Journal of comparative and physiological psychology*. 1967. V. 3 (63). P. 500–4.

183. Xie Y., Zhao Q.Y., Li H.Y., Zhou X., Liu Y., Zhang H. Curcumin ameliorates cognitive deficits heavy ion irradiation-induced learning and memory deficits through enhancing of Nrf2 antioxidant signaling pathways // *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2014. (126). P. 181–186.

184. Yamada M., Kasagi F., Mimori Y., Miyachi T., Ohshita T., Sasaki H. Incidence of dementia among atomic-bomb survivors - Radiation Effects Research Foundation Adult Health Study // *Journal of the Neurological Sciences*. 2009. V. 1–2 (281). P. 11–14.

185. Yamada M., Sasaki H., Kasagi F., Akahoshi M., Mimori Y., Kodama K., Fujiwara S. Study of cognitive function among the Adult Health Study (AHS) population in Hiroshima and Nagasaki. // *Radiation research*. 2002. V. 2 (158). P. 236–240.

186. Yang T.C., Tobias C.A. Effects of heavy ion radiation on the brain vascular system

- and embryonic development // *Advances in Space Research*. 1984. V. 10 (4). P. 239–245.
187. Zeltzer L., Recklitis C., Buchbinder D., Zebrack B., Casillas J., JC T., Lu Q., Krull K. Psychological status in childhood cancer survivors: a report from the Childhood Cancer Survivor Study. // *Journal of Clinical Oncology*. 2009. V. 14 (27). P. 2396–2404 9p.
188. Zhu C.-B., Lindler K.M., Owens A.W., Daws L.C., Blakely R.D., Hewlett W.A. Interleukin-1 Receptor Activation by Systemic Lipopolysaccharide Induces Behavioral Despair Linked to MAPK Regulation of CNS Serotonin Transporters // *Neuropsychopharmacology*. 2010. V. 13 (35). P. 2510–2520.
189. Zlokovic B. V. Neurovascular pathways to neurodegeneration in Alzheimer's disease and other disorders // *Nature Reviews Neuroscience*. 2011. V. 12. V. 12.