

# INVESTIGATION OF NEUROPHYSIOLOGICAL MECHANISM OF IRRADIATION AS AN ENVIRONMENTAL FACTOR ON THE LEARNING PROCESSES IN THE EXPERIMENT

Goncharova A.V., Popov O.I., Semko N.G., Khodakovska V.A., Khlebosolova T.A., Blazhko T.A.

## ИССЛЕДОВАНИЕ НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ ВЛИЯНИЯ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ КАК ФАКТОРА ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ НА ПРОЦЕССЫ ОБУЧЕНИЯ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ



**ГОНЧАРОВА А.В.,  
ПОПОВ О.И., СЕМКО Н.Г.,  
ХОДАКОВСКАЯ В.А.,  
ХЛЕБОСОЛОВА Т.А.,  
БЛАЖКО Т.А.**

Харьковская медицинская академия последипломного образования,  
Деснянская райСЭС,  
г. Киев

**ДОСЛІДЖЕННЯ  
НЕЙРОФІЗІОЛОГІЧНИХ  
МЕХАНІЗМІВ ВПЛИВУ  
ІОНІЗУЮЧОГО  
ВИПРОМІНЮВАННЯ  
ЯК ФАКТОРА ДОВКІЛЛЯ  
НА ПРОЦЕСИ НАВЧАННЯ  
В ЕКСПЕРИМЕНТІ  
Гончарова А.В.,  
Попов О.І., Семко Н.Г.,  
Ходаковська В.О.,  
Хлебосолова Т.О.,  
Блажко Т.О.**

*При тотальному опроміненні дозою 0,5 Гр у щурів розвивається емоційний стрес, порушуються процеси навчання і пам'яті. При цьому уповільнюється швидкість організації умовних рефлексів, збільшується латентний період умовних рефлексів, порушується динаміка та кількість міжсигнальних реакцій порівняно з інтактними тваринами.*

Ореди показателей функционального состояния организма особое место занимают показатели психического здоровья человека, обусловленные в значительной мере, помимо генетических, факторами окружающей среды различной природы. Анализ психофизиологического статуса может служить основой оценки как благоприятного, так и неблагоприятного воздействия физических факторов и поэтому должен найти самое широкое применение в гигиене при массовых обследованиях населения, в частности, одного из наиболее ранних его контингентов — детей. Следует, однако, подчеркнуть, что использование психофизиологических тестов при оценке здоровья детей в настоящее время явно недостаточно. В значительной мере это связано с отсутствием унифицированных подходов к проведению таких исследований и единого мнения о значимости ряда психофизиологических симптомов и их роли в оценке состояния ребенка [22].

В настоящее время есть ряд указаний на возможность влияния физических факторов на функциональное состояние организма на поведенческом уровне в виде формирования неспецифического неврологического симптомокомплекса, включающего в себя утомляемость, сонливость, раздражительность, головные боли, вегетативные расстройства, ухудшения показателей процесса переработки информации [17, 24]. Физиологические исследования функционального состояния организма в различных усло-

виях воздействия физических факторов окружающей среды предусматривают, наряду с изучением функционирования различных систем, анализ реакций отделов ЦНС [24].

Изучение механизмов памяти как важнейшей интегративной функции мозга является одной из актуальных проблем нейробиологии. Интерес к этой проблеме обусловлен тем, что память как фундаментальное свойство всего живого является важнейшей адаптивной реакцией организма на факторы среды [2]. При этом скорость формирования мнестических процессов на те или иные события зависит не только от значимости события, но и от функционального состояния мозга [4], которое отражает уровень активности его коры и подкорковых образований [10] и является результатом динамического взаимодействия организма и внешней среды [7].

Обучение в широком смысле этого слова определяет процесс актуального или латентного изменения поведения и реакций нейронов, специфически связанный с действующими стимулами и состоянием организма. Память, являясь результатом обучения, представляет собой изменение нервных элементов, которое, сохраняясь, само влияет на последующее протекание реакций [21].

В процессе обучения происходит изменение структурной и иерархической пространственной организации сетей корковых нейронов [28]. Синаптический уровень характеризуют как существенный носитель переработки информации [8, 12].

Память на нейрональном уровне — это сохранение информации о сигнале в виде структурного, химического или электрографического изменения в ткани после того, как действие сигнала уже прекратилось [21]. Феномен долгосрочной потенциации (ДСП) рассматривается в качестве модели процессов обучения. Впервые он был обнаружен в гиппокампе — структуре, ответственной за обеспечение процессов обучения и памяти [26].

Изменения процессов памяти при действии радиационного облучения исследовались давно и на разных уровнях. Показано, что малые дозы ионизирующей радиации приводят к замедлению выработки условных рефлексов, затруднению их переделки, растормаживанию дифференцировок [3, 18]. Облучение животных малыми дозами радиации вызывало у них изменения условнорефлекторной деятельности в виде растормаживания дифференцировок, нарушения тормозной фазы отставленного рефлекса [9, 13, 25], удлинения латентного периода рефлексов в отставленном периоде после облучения [6], замедления выработки условных рефлексов, затруднения их переделки [1].

Показано, что малые дозы ионизирующего излучения вызывают структурные изменения в неокортексе, гиппокампе, миндалине, гипоталамусе и ретикулярной формации ствола мозга [14], а также

#### INVESTIGATION OF NEUROPHYSIOLOGICAL MECHANISM OF IRRADIATION AS AN ENVIRONMENTAL FACTOR ON THE LEARNING PROCESSES IN THE EXPERIMENT

**Goncharova A.V., Popov O.I., Semko N.G., Khodakovska V.A., Khlebosolova T.A., Blazhko T.A.**

*It was shown that exposure to whole body irradiation (0,5 Gr) resulted in an emotional stress and impairment of learning and memory processes. Performance in learning became slower. Latent period of conditional reflexes increased. Dynamics and number of intrasignal reactions was impaired compared with the intact animals.*

изменяют энергообмен в нервной ткани [19].

У лиц, подвергшихся радиационному облучению, выявлено нарушение всех видов мнестической деятельности [5], ослабление вербальной, ассоциативной и зрительной памяти, снижение скорости запоминания и переключения внимания [20], снижение устойчивости и объема внимания [11]. Среди эффектов облучения важное место занимает повышение продукции активных форм кислорода (АФК). Тотальное облучение приводило к усиленной аккумуляции АФК в гиппокампе. Оценка ДСП у тотально облученных крыс обнаруживала значимое ослабление. В гиппокампе облученных крыс показана значительная гибель клеток. Однако АФК также являются необходимыми компонентами в каскадах передачи сигнала при ДСП в норме [27, 29].

**Целью** исследования было изучение влияния облучения на нейрофизиологические механизмы процессов обучения и памяти.

#### Материалы и методы исследования.

Исследования выполнены в хроническом эксперименте на 14 белых нелинейных крысах-самцах половозрелого возраста. Эмоциональную память изучали на модели условнорефлекторной эмоциональной реакции избегания (УЭРИ), которую вырабатывали в течение 21-23 дней. В качестве условного сигнала использовали звук метронома (300 уд/мин). Безусловным подкреплением служили удары тока (пороговое напряжение 20-45 V подбирались индивидуально для каждого животного). В течение 15 секунд животному предъявляли условный сигнал, после чего в течение последующих 10 секунд подключали безусловное подкрепление. Длительность пауз между предъявлениями условного сигнала выбиралась в вероятностном режиме в пределах 2-3 минут для исключения образования у животного условного рефлекса на время. В каждый день животному давали не более 6 сочетаний

Таблица 1  
**Основные показатели выработки условнорефлекторной эмоциональной реакции избегания у крыс**

Показатель условнорефлекторной деятельности		Интактные	Облученные
Скорость выработки условнорефлекторной реакции (число сочетаний)	I стадия	19,0±4,9	26,8±5,8*
	II стадия	44,5±9,8	40,5±9,4
Латентный период условнорефлекторной реакции (с)	II стадия	6,1±0,6*	8,4±0,7
	III стадия	6,7±0,8	6,7±0,7
Число условных рефлексов (% от числа сочетаний)	Всего	52,4±6,1	43,8±7,9
	II стадия	37,2±5,9	28,3±4,1
	III стадия	77,8±7,0	77,3±2,7

Примечание: \* — различия достоверны ( $p < 0.05$ ) у крыс 1 и 2 групп.

условного сигнала с безусловным подкреплением.

Одним из критериев формирования условнорефлекторной деятельности являются межсигнальные реакции [23], которые имели неоднозначный характер. Межсигнальные реакции с выраженным ориентировочно-исследовательским характером, отмечавшиеся после реализации безусловной или условной реакции избегания, обозначались как реакции проб. Межсигнальные реакции в конце паузы, когда крысы проявляли беспокойство и резко перебежали в противоположную камеру, как при действии условного сигнала, обозначались как экстрасигнальные и, видимо, были связаны с механизмами отсчета времени. Попытки животных покинуть экспериментальную камеру регистрировались как безусловные реакции избегания.

Радиационное облучение было однократным, тотальным, в дозе 0,5 Гр. Животные опытной группы в возрасте 3 месяцев подвергались облучению. Исследование формирования эмоциональной памяти проведено в девятимесячном возрасте.

В процессе формирования условнорефлекторной эмо-

циональной реакции избегания у животных наблюдали последовательную смену стадий: I — общей двигательной реакции, которая соответствовала периоду организации первого условного рефлекса; II — неустойчивого формирования условных рефлексов, которая соответствовала периоду стабилизации условнорефлекторных ответов; III — стабильных условнорефлекторных ответов, что согласуется с описанной в литературе [15].

Результаты обрабатывали статистически с использованием программы Statistica (критерий Вилкоксона-Манна-Уитни).

**Результаты и их обсуждение.** Формирование условнорефлекторной реакции избегания у животных интактного контроля показало быструю организацию условнорефлекторных ответов. За время проведения эксперимента она была отмечена у всех животных (табл. 1). При этом характер формирования условной реакции у каждого животного был индивидуальным. 4 крысы показали высокую скорость организации условных рефлексов. Пассивно-оборонительные реакции в поведении в виде замирания, вертикальных стоек, вокализации были отмечены только у 2 животных группы.

II стадия (стабилизация условных рефлексов) прослеживалась у 6 контрольных животных. Когда условнорефлекторная реакция на раздражитель сформировывалась, поведение интактных животных становилось более спокойным. Двигательная активность в межсигнальных паузах становилась умеренной, большую часть времени

животные проводили либо неподвижно, сидя в углу клетки, либо занимаясь грумингом. К концу межсигнальной паузы животные начинали "готовиться" к условному сигналу: прекращали текущую деятельность, неподвижно замирали в ожидании раздражителя, некоторые подбегали к окну. На II стадии формирования условнорефлекторной реакции имели место экстрасигнальные реакции (табл. 2). Число реакций проб на II стадии, в сравнении с I стадией, у этой группы крыс увеличилось. Латентный период условных рефлексов был коротким на II стадии.

К концу эксперимента на III стадии (стадии стабильных условных рефлексов) количество условных рефлексов увеличивалось (табл. 1). При осуществлении условного рефлекса у животных двигательные акты были направлены на выполнение условной реакции. Количество хаотических движений, не способствующих наиболее успешному осуществлению акта избегания, снижалось. В межсигнальных паузах число реакций проб на III стадии, по сравнению со II стадией, снизилось (табл. 2).

Из 7 облученных крыс условные рефлексы удалось сформировать только у 6 животных. У них значительно удлинилась I стадия выработки УЭРИ, по сравнению с интактными животными (табл. 1). Наряду с этим у одного из шести животных I стадия была длиннее, чем у всех и составляла 56 сочетаний. В поведении этих животных преобладали пассивно-оборонительные реакции: крысы забивались в угол клетки, ориентировочно-исследователь-

Таблица 2

**Поведенческие реакции, сопутствующие выработке условнорефлекторной реакции избегания у интактных крыс**

Поведенческие реакции	I стадия	II стадия	III стадия
Реакции проб	18,3±1,0	26,3±0,8*	16,1±0,8**
Реакции избегания	17,2±1,1	7,0±0,9*	8,2±2,1
Экстрасигнальные реакции	7,0±1,5	10,1±0,6	10,1±2,1

Примечание к табл. 2 и 3: \* —  $p < 0,05$  по сравнению с I стадией;  
\*\* —  $p < 0,05$  по сравнению со II стадией.

ские реакции в новой для них обстановке не были выражены либо отсутствовали вообще. При этом ориентировочно-исследовательская активность ограничивалась лишь исследованием ближайшего к животному пространства клетки (боязнь открытого поля). При звуке метронома у многих крыс, особенно в начале выработки, отмечалась вокализация, свидетельствующая о невротических реакциях в поведении. При этом животные в другой отсек не перебегали. При безусловном подкреплении эти животные не всегда избегали электрокожного раздражения, некоторые просто стояли "в стойке ожидания", поочередно приподнимая лапы, отмечалась вокализация.

Позднее условная эмоциональная реакция избегания у облученных крыс все же сформировывалась, и длительность стадии стабилизации условных рефлексов даже не отличалась от этого показателя интактных животных (табл. 1). Однако у двух животных эта стадия была увеличенной (у крысы № 4 она продолжалась до конца эксперимента и составила 92 сочетания, у крысы № 5 равнялась 79 сочетаниям). У крысы № 4 за все время проведения эксперимента (21 день) была отмечена только одна полноценная условнорефлекторная реакция. Латентный период условных рефлексов в группе облученных животных на II стадии был короче, чем в интактном контроле ( $p < 0,05$ ). Уровень безусловнорефлекторных реакций избегания превышал этот показатель у интактного контроля ( $p < 0,05$ ) как на I, так и на II стадии. Количество реакций проб в группе облученных животных на II стадии, по сравнению с I

стадией, увеличилось и было на II стадии ниже, чем в группе интактных крыс. На I стадии экстрасигнальные реакции не отмечались. Экстрасигнальных реакций на II стадии было меньше, чем у интактных крыс (табл. 3).

На III стадии (стадии стабильных условных рефлексов) в группе облученных крыс было отмечено такое же количество условных реакций, как и в группе интактных животных. Латентный период условных рефлексов снизился. Количество безусловных реакций избегания в межсигнальных паузах у облученных животных было повышенным ( $p < 0,05$ ), в сравнении с интактными. Количество реакций проб у облученных крыс на III стадии увеличилось, в сравнении со II стадией, этих животных и оказалось большим, чем на III стадии у контрольных крыс ( $p < 0,05$ ). Экстрасигнальных реакций было меньше, чем в интактном контроле ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, у облученных животных удлиняется I стадия выработки условных рефлексов, увеличивается латентный период условных рефлексов на II стадии, нарушается динамика и количество межсигнальных реакций: увеличивается число безусловных реакций избегания и реакций проб на III стадии, снижается число экстрасигнальных реакций, по сравнению с интактными животными. При этом можно говорить о развитии эмоционального стресса, наступившего у этих животных вследствие радиационного облучения, и о нарушении в механизмах, обеспечивающих организацию процессов обучения и памяти.

Описанное в литературе повышение количества АФК в гиппокампе вследствие облу-

чения и связанное с этим нарушение долгосрочной потенциации, являющейся моделью процессов обучения и памяти, согласуется с данными наших исследований и вскрывает внутренние механизмы данных явлений. Облучение является причиной возникновения в мозгу оксидативного стресса. Разнонаправленные изменения условнорефлекторной деятельности при различных параметрах воздействия облучения (величине дозы, длительности и т.д.), видимо, связаны с комплексным разноуровневым характером воздействия радиации на мозг и на весь организм. Нарушается баланс процессов возбуждения и торможения в мозге за счет изменения соотношения возбуждающих (глутамат) и тормозных (ГАМК) медиаторов, что, в свою очередь, обусловлено изменениями, происходящими в клеточных и внутриклеточных мембранах вследствие активации перекисного окисления липидов [16]. То есть избыточное накопление АФК вследствие облучения, несмотря на их физиологическую роль, нарушает тонкую организацию процессов, обеспечивающих функцию памяти и обучения.

#### Вывод

Ионизирующее излучение является фактором окружающей среды, запускающим

Таблица 3

**Поведенческие реакции, сопутствующие выработке условнорефлекторной реакции избегания у облученных крыс**

Поведенческие реакции	I стадия	II стадия	III стадия
Реакции проб	14,2±1,0	17,6±1,2*	23,6±0,4**
Реакции избегания	21,7±1,2	24,7±4,8	25,6±9,1
Экстрасигнальные реакции	0,0	3,1±0,9*	3,6±1,0

сложный каскад процессов в мозге, который завершается срывом адаптационных механизмов организма.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеева М.С., Федоров В.К. Высшая нервная деятельность потомства крыс, облучавшихся малыми дозами  $Co^{60}$  // Вопросы действия малых доз ионизирующей радиации на физиологические функции. — М.: Изд-во АН СССР, 1961. — С. 15-17.
2. Анохин П.К. Биология и нейрофизиология условного рефлекса. — М.: Медицина, 1968. — 578 с.
3. Бакай Т.С., Горбач Т.В., Митряева Н.А. Вплив низьких доз іонізуючої радіації і максимального фізичного навантаження на системи біогенних моноамінів (головного мозку щурів) // Укр. радіологічн. журн. — 1998. — Т. 6, вип. 4. — С. 453-457.
4. Бехтерева Н.П. Здоровый и больной мозг человека. — Л.: Наука, 1980. — 206 с.
5. Бондар О.К. Психофізіологічний стан дітей, які мешкають на радіаційнозабрудненій території // Укр. вісник психоневрології. — 1998. — Т. 6, вип. 1 (16). — С. 19-22.
6. Быстров Е.Д. К вопросу о ранних реакциях нервной системы на малые количества  $Sr^{90}$  // Вопросы действия малых доз ионизирующей радиации на физиологические функции. — М.: Изд-во АН СССР, 1961. — С. 23-24.
7. Василевский Н.Н., Сидоров Ю.А., Киселев И.М. Биоправление с обратной связью системным артериальным давлением // Физиол. журн. СССР им. И.М. Сеченова. — 1990. — Т. 76, № 12. — С. 1701-1707.
8. Воронин Л.Л. Исследование элементарных нейрофизиологических механизмов обучения // Успехи физиол. наук. — 1987. — Т. 18. — 76 с.
9. Григорьев Ю.Г. Космическая радиобиология. — М.: Энергоатомиздат, 1982. — 186 с.
10. Данилова Н.Н. Функциональные состояния: механизмы и диагностика. — М.: Изд-во МГУ, 1985. — 300 с.
11. Дупленко П.Ю. Порухнення мнестичного функціонування у потерпілих внаслідок аварії на Чорнобильській АЕС // Доповіді НАН України. — 1994. — № 1. — С. 102-104.
12. Качмарек Л. Экспрессия гена в процессах обучения / Мозг и поведение. — М.: Наука, 1990. — С. 210-219.
13. Котляревский Л.И., Горшелева Л.С., Хозак Л.Е. Влияние лучей Рентгена на высшую нервную деятельность животных (белых крыс) // Мед. радиология. — 1956. — Т. 1, № 3. — С. 11-19.
14. Ливанов М.Н. Некоторые проблемы действия ионизирующей радиации на нервную систему. — М.: Медгиз, 1962. — 195 с.
15. Никитина Г.М. Формирование целостной деятельности организма в онтогенезе. — М.: Медицина, 1971.
16. Носов А.Т., Сутковой Д.А., Барабой В.А., Шамаев М.И. Влияние малых доз длительного внутреннего радиационного воздействия на ультраструктуру и интенсивность перекисного окисления липидов в головном мозге и крови крыс // Радиацион. биология. Радиозеология. — 1994. — № 34 (4-5). — С. 631-638.
17. Олешкевич Л.А., Сидоренко Ж.Г. Влияние шума на процессы переработки информации в связи с особенностями нейродинамики // Гиг. и сан. — 1984. — № 2. — С. 16-19.
18. Розанов В.А., Рейтарова Т.Е., Черников Г.Б. та ін. Оцінка біологічного статусу експериментальних тварин при малих дозах іонізуючого випромінення. Повідомлення 1 // Укр. радіологічн. журн. — 1997. — Т. 5, вип. 1. — С. 50-52.
19. Розанов В.А., Рейтарова Т.Е., Черников Г.Б. та ін. Оцінка біологічного статусу експериментальних тварин при малих дозах іонізуючого випромінення. Повідомлення 2 // Укр. радіологічн. журн. — 1997. — Т. 5, вип. 2. — С. 170-173.
20. Синицкий В.Н., Ковтун Т.В., Харченко Н.К. и др. Патологические механизмы дезадаптации центральной нервной системы у людей, подвергшихся воздействию радиации // Физиологічн. журн. — 1995. — Т. 41, № 3-4. — С. 55-66.
21. Соколов Е.Н. Нейронные механизмы памяти и обучения. — М.: Наука, 1981.
22. Стоян Е.Ф. Психофизиологические аспекты оценки влияния физических факторов окружающей среды на здоровье населения // Гиг. и сан. — 1990. — № 2. — С. 12-14.
23. Чайченко Г.М. Зависимость обучения крыс от их общей возбудимости // Ж. высш. нерв. деят. — 1982. — Т. 32, вип. 5. — С. 980-985.
24. Шандала М.Г. Физические факторы окружающей среды как гигиеническая проблема // Вестник АМН СССР. — 1981. — № 1. — С. 9-15.
25. Штемберг А.С. Радиационная устойчивость двигательных оборонительных условных рефлексов у крыс на разных стадиях формирования и закрепления временной связи // Ж. высш. нервн. деят. — 1987. — Т. 37, вип. 6. — С. 1090-1095.
26. Bliss T., Lomo T. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path // J. Physiol. — 1973. — Vol. 232. — P. 331-356.
27. Lynch M. Long-Term Potentiation and Memory // Physiol. Rev. — 2004. — Vol. 84. — P. 87-136.
28. Milner B., Squire L., Kandel E. Cognitive neuroscience and the study of memory // Neuron. — 1998. — Vol. 20. — P. 445-468.
29. Tejada-Simon M., Serano F., Villasana L. et al. Synaptic localization of a functional NADPH oxidase in the mouse hippocampus // Mol. Cell. Neurosci. — 2005. — № 29 (1). — P. 97-106.