

辐射与模拟失重对大鼠脑电信号的影响规律及损伤机制*

丰俊东 田刘欣 李 骞
赵锡达 杨颖清 王维泰

(南京航空航天大学核科学与技术系 南京 210000)

摘要 通过生物电信号评估辐射与失重对脑的影响,并揭示其影响规律与损伤机制,为空间环境风险评估与防护技术研究提供参考。以 SD 大鼠为对象,设立不同实验组。采集并分析大鼠脑电信号频谱变化,利用神经网络模型识别脑电信号异常。同时检测大鼠脑部特定区域的蛋白质表达量变化,以探讨损伤机制。辐射组与失重辐射复合组大鼠脑电信号出现慢波化,复合作用影响显著,神经网络模型能有效识别异常信号。辐射与失重导致大鼠脑部髓鞘受损,相关蛋白表达量出现变化,提示胶质细胞激活。辐射与失重对大鼠脑电信号有明显影响,复合作用效果更为显著,这可能与髓鞘受损及胶质细胞激活有关。本研究为空间环境下的风险评估与防护技术提供了重要参考。

关键词 γ -射线, 失重, 脑电信号 (EEG), 神经网络, 蛋白质

中图分类号 Q691.5

Effects of Radiation and Simulated Weightlessness on Rat EEG and Its Mechanism

FENG Jundong TIAN Liuxin LI Qian
ZHAO Xida YANG Yingqing WANG Weitai

(Department of Nuclear Science and Technology, Nanjing University of Aeronautics and Astronautics, Nanjing 210000)

Abstract This article aims to assess the impact of radiation and weightlessness on the brain, specifically through the analysis of bioelectrical signals. Our goal is to elucidate the patterns and mechanisms underlying the effects of radiation, weightlessness, and their combined influence on Electroencephalogram (EEG) signals. This understanding will serve as a crucial reference for risk assessment and protective technology research in space environments. A comprehensive study was conducted utilizing SD rats as the experimental subjects. The eight different experimental groups were established to analyze EEG

* 载人航天工程航天医学实验领域研究项目 (HYZHXM02004) 和南京航空航天大学科学研究与实践创新项目 (xcxjh20230610) 共同资助

2023-12-19 收到原稿, 2024-02-17 收到修定稿

©The Author(s) 2025. This is an open access article under the CC-BY 4.0 License
(<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

signals and automatically detect abnormal brain signals caused by radiation or weightlessness exposure. To delve deeper into the underlying biological mechanisms, the expression levels of Myelin Basic Protein (MBP), Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP), and ionized calcium-binding adapter molecule 1 (IBA1) were examined in specific brain regions, such as the frontal lobe, temporal lobe, and hippocampus. The study found that rats exposed to radiation alone or in combination with weightlessness showed a marked slow-wave EEG pattern, with the combined effect being more significant, indicating an enhanced effect. The neural network model accurately distinguished normal from abnormal EEG signals. The decrease of MBP and increase of GFAP and IBA1 were observed in the combined radiation-weightlessness groups, suggesting myelin damage and activation of astrocytes and microglia. The study reveals the effects of radiation and weightlessness on brain signals, showing that radiation alone induces slow-wave EEG patterns, and the combination with weightlessness exacerbates these patterns. The mechanism involves myelin sheath damage and glial cell activation. This understanding is crucial for assessing risks and developing protective measures in space, laying the groundwork for future research to improve astronaut safety and well-being.

Key words Gamma ray, Weightlessness, Electroencephalogram (EEG), Neural network, Proteins

0 引言

随着航天事业的发展, 航天员在轨执行任务时的健康问题逐渐受到广泛关注. 美国国家航空航天局 (NASA) 将航天员在空间环境中会受到的损伤概括为致癌、中枢神经系统损伤、退行性病变和辐射综合症四类, 这些损伤会严重影响航天员的身体健康, 从而影响航天员在轨执行任务的能力^[1]. 目前已有文献报道航天员在执行空间飞行任务后出现认知能力下降的现象^[2], 长期的空间飞行可能导致航天员出现脑供血不足、脑垂体变形等变化^[3].

Algeda 等^[4]对大鼠进行了 3, 6, 9 Gy 的 γ 射线照射, 通过对其脑电进行测量后发现, 辐照后大鼠脑部枕叶和顶叶区域出现了慢波化变化, 即低频脑电节律增加. Zhang 等^[5]研究了 16 名健康男性在 -6° 头低位卧床休息状态下的脑电信号, 发现被试者的脑电信号功率谱慢波增加、快波减少, 复杂度降低. 研究认为这种脑电信号异常变化可能与大脑皮层活跃程度受到抑制有关, 并且被试者也出现了认知能力下降的现象. 脑电信号来自于大脑神经元电信号传导时的电活动, 包含了非常多的生理信息. 与传统检测方式相比, 检测脑电信号具有无损、便捷、能够早发现异常等优势. 脑电检测设备通常由电极、放大器、模数转换器和数据记录仪器组成, 体积小、重量轻, 适于在空间站环境下使用. 本研究拟采用脑电信号分析技术研究辐射对脑的影响.

空间特因环境对人类健康影响最大的两个因素为辐射和失重^[6], 当前辐射、失重、辐射与失重复合环境对大脑生物电信号的影响规律及机制尚未明确. 因此建立辐射、模拟失重、辐射与失重复合环境下的动物模型, 以研究辐射、模拟失重、辐射失重复合环境对脑电信号的影响规律, 并构建神经网络模型, 以期自动区分辐射或失重以及两者复合效应导致的脑电信号异常.

髓鞘是脑白质的重要组成成分之一, 在学习记忆的过程中发挥着关键的作用, 其主要功能是负责动作电位在轴突上的跳跃式快速传导、支撑保护轴突结构的完整性和在不同轴突之间起到绝缘的作用以避免相互干扰. 星形胶质细胞是脑神经胶质细胞中数量最多的胶质细胞, 主要起着支撑和分隔神经细胞的作用, 并且参与血脑屏障的形成、调解突触功能^[7]、维持突触间质内的离子和递质的稳态等^[8]. 小胶质细胞是大脑中一种十分重要的胶质细胞, 占有神经系统胶质细胞的 10%~15%, 主要负责免疫防御、维持大脑内环境的稳态, 是大脑中主要的免疫细胞, 并且参与了很多神经退行性疾病的发病与修复过程. 检测大鼠额叶、颞叶和海马部位的髓鞘碱性蛋白 (MBP)、胶质酸性纤维蛋白 (GFAP) 和小胶质细胞离子钙接头蛋白 (IBA1) 的表达量变化, 通过蛋白表量变化反映髓鞘、星形胶质细胞、小胶质细胞状态变化, 探索模拟空间环境对脑影响的机制, 为空间环境下风险评估及防护技术研究提供参考.

1 材料与方法

1.1 实验材料

主要试剂. 0.05 mg · mL⁻¹ 肾上腺素注射液 (山东德信堂医药连锁有限公司), 2.5 IU · mL⁻¹ 肝素钠注射液, 生理盐水, 3% 过氧化氢 (上海阿拉丁生化科技股份有限公司), 无水乙醇 (国药集团化学试剂有限公司), 二甲苯 (上海凌峰化学试剂有限公司), 抗原修复液, 牛血清蛋白, 一抗, 荧光二抗, DAPI 等 (Service-bio).

主要仪器. 32 导动物多通道电生理信号采集系统 (江苏博恩医疗科技有限公司), 大鼠脑立体定位仪, 异氟烷气体麻醉仪, 开颅手术器械, 电极丝, 颅钉 (上海玉研科学仪器有限公司), HAKD936 恒温电焊台 (鼎丰仪器工具), 牙科水泥 (杭州博驰医疗器械有限公司).

1.2 动物模型构建

选用 SPF 级 SD 雄性大鼠作为实验对象, 实验大鼠体重为 180~250 g, 周龄为 10~12 周, 购于南京市江宁区青龙山动物饲养基地, 生产许可证号为 SCXK (浙) 2019-0002. 购入动物后将每只大鼠单独预饲养一段时间, 为其保证正常的明暗周期, 并提供充足的水和食物, 补充温湿度、清洁环境, 减轻大鼠进入新环境后的应激反应. 动物饲养及实验的操作过程符合动物实验伦理学要求, 尽可能减少了动物的痛苦. 将大鼠随机分为 8 组: 对照组、低剂量辐照组、中剂量辐照组、高剂量辐照组、模拟失重组、模拟失重与低剂量辐照组、模拟失重与中剂量辐照组、模拟失重与高剂量辐照组, 每组 10 只大鼠.

根据俄罗斯空间站的研究结果, 在太阳活动较强时, 对不同 LET 射线进行统计, 空间站舱内剂量率可达到 265~732 mGy · d⁻¹[9]. 同时根据国际辐射防护委员会 (ICRP) 60 和 103 号出版物的推荐, 光子辐射权重因子为 1, 航天员在空间站执行任务往往持续数周乃至数月, 本实验射线剂量梯度设置为低剂量辐照组 (2.5 Gy)、中剂量辐照组 (5 Gy)、高剂量辐照组 (10 Gy). 实验用 γ 射线源来自南京航空航天大学辐照中心 ⁶⁰Co 放射源, ⁶⁰Co 源放射性活度为 4.8951 × 10¹⁵ Bq, 剂量场采用重铬酸银剂量计 (量程 0.5~5 kGy) 测量, 剂量率为 1.06 Gy · min⁻¹. 模拟航天员在空间环境下受照方式, 对大鼠采用全身辐照的方式.

对模拟失重组, 根据参考文献 [10] 对大鼠进行尾吊 30° 头低位处理, 从实验开始至实验结束一直保持尾吊状态. 每只大鼠单笼饲养, 且在刺激前 1 天、刺激后第 1, 3, 5, 7, 9 天进行脑电信号的测量.

1.3 开颅手术及电极植入

手术前 24 h 动物禁食. 采用异氟烷气体诱导大鼠麻醉, 将大鼠固定于脑立体定位仪. 开颅后将颅外的硬脑膜刮净, 将大鼠颅骨完全暴露, 找到大鼠的前囟 (Bregma 点) 和后囟 (Lambda 点). 以前囟为原点, 在前囟后 1.5 mm、中线旁左右 2.0 mm 插入额叶电极, 前囟后 3.0 mm、中线旁左右 3.5 mm 插入颞叶电极, 将接地电极和参考电极均植入大鼠小脑位置. 脑电极位置如图 1 所示.

实验中共有 4 个记录电极, 1 号和 2 号电极记录大鼠额叶部位脑电信号, 3 号和 4 号电极记录大鼠颞叶部位脑电信号, 其中奇数对应左侧脑区, 偶数对应右侧脑区. 脑电信号电极植入手术完成后对大鼠头皮进行缝合, 涂抹牙科水泥以固定电极, 如图 2 所示. 手术中注意保持大鼠体温, 大鼠单独饲养.

1.4 脑电信号测量

对所有大鼠在实验刺激 (辐射、失重) 给予前 1 天测量脑电信号, 作为自身对照. 实验刺激给予后的第 1, 3, 5, 7, 9 天测量脑电信号. 通过自身对照和组间对照分析辐射和失重对脑电信号的影响. 使用脑电仪 (Jiangsu Brain Medical Technology Co. Ltd) 测量脑电信号时, 利用仪器自带的陷波器去除 50 Hz 工频干扰, 同时设置采样频率为 1000 Hz. 采用 AR 法对各通道进行频谱分析, 计算各通道不同波段的占比变化[11].

1.5 构建神经网络模型

为实现对照组、辐射组、失重组脑电信号的自动识别, 搭建神经网络模型, 以期自动区分由辐射或失

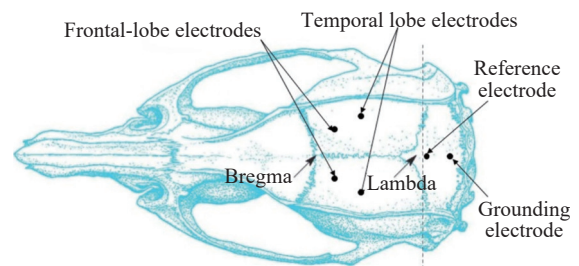


图 1 大鼠电极植入位置

Fig. 1 Electrode implantation site in rats



图 2 大鼠开颅手术电极植入

Fig. 2 Electrode implantation in rats after craniotomy surgery

重导致的脑电信号异常. 神经网络模型主要由输入层、全连接层、一维卷积层、LSTM 层、最大池化层和输出层构成. 将照射前和照射后一天的大鼠脑电信号作为数据集进行分类. 神经网络结构模型如图 3 所示.

输出层采用 softmax 模型, softmax 的具体运算函数为

$$z_i = \mathbf{w}^i \mathbf{x} + b^i, \quad i = 1, 2; \quad (1)$$

$$y_i = e^{z_i} / \sum_{j=1}^2 e^{z_j}. \quad (2)$$

其中, $\mathbf{x}$ 表示特征值向量, $\mathbf{w}$ 表示权重值向量, b 为偏置值, y 为输出值. Softmax 模型的输出为样本属于某一类的概率, 即最大值所在的类别即为输入的数据被模型识别到的类别. 模型中使用的损失函数选择为交叉熵 (Cross Entropy, CE), 其计算公式为

$$H(p, q) = -\sum_x p(x) \ln(q(x)). \quad (3)$$

其中, $p(x)$ 和 $q(x)$ 分别表示计算所得的原始类别的概率分布.

模型采用梯度下降算法对权重项和偏置值进行更新, 优化器选择 Adam. 同时, 为了防止模型出现过拟合现象, 本模型中添加了多个 Dropout 层, Dropout 层的主要功能是在训练神经网络时按照一定比例随机丢弃掉一些神经元, Dropout 层参数设置为 0.5. 此外, 采用 L2 正则化手段防止模型过拟合, L2 正则化

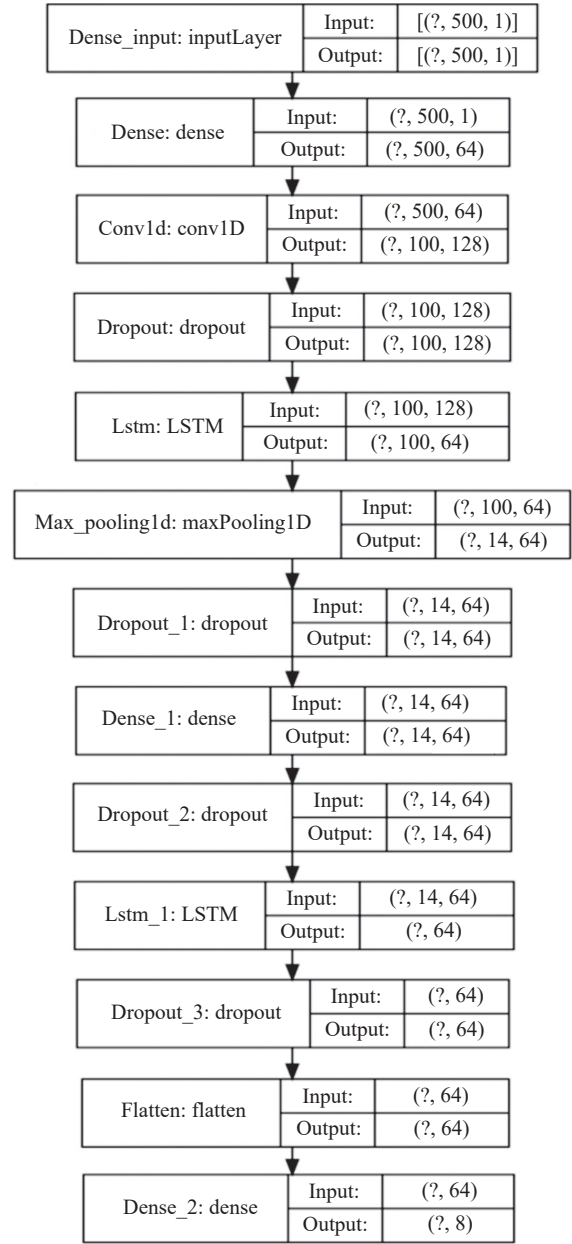


图 3 神经网络模型

Fig. 3 Constructed neural network model

是指权重值向量 $\mathbf{w}$ 中各元素的平方和然后再求平方根

$$\|\mathbf{x}\|_2 = \sqrt{\sum_i x_i^2}. \quad (4)$$

L2 的取值越大, 正则化作用越明显.

1.6 神经网络模型训练及评估

将大鼠脑电数据集按照 70%, 15%, 15% 的比例划分为训练集、验证集和测试集. 其中, 训练集用于调试神经网络, 验证检验模型的训练效果; 测试集用

于测试经调试完成后的模型的实际学习能力。

采用 K 折交叉验证法, 对模型进行 10 折交叉验证后取平均值来评估模型的最终效果. 对于回归模型, 采用均方误差 (Mean Square Error, MSE) 作为损失函数, 使用平均绝对误差 (Mean Absolute Error, MAE) 评估其预测准确率. 两者计算公式如下:

$$E_{\text{MSE}} = \frac{\sum_{i=1}^n (f(x) - y)^2}{n}, \quad (5)$$

$$E_{\text{MAE}} = \frac{\sum_{i=1}^n |f(x) - y|}{n}. \quad (6)$$

其中, $f(x)$ 为预测值, y 为真实值, n 为样本数量, 两个指标均越小越好.

1.7 脑组织取材

Algeda 等^[4] 研究发现, 在辐照后第 10 天大鼠脑部认知相关蛋白出现了较为明显的变化. 同时考虑到空间辐射的时间随机性及其累积效应, 失重、辐射失重复合效应的出现也需要时间累积, 因此本实验选择在实验刺激后第 10 天进行脑组织取材. 麻醉大鼠, 从心尖搏动点插入灌注针并剪开右心耳, 快速灌注生理盐水 500 mL, 调慢流速继续灌注 500 mL, 而后灌注 4% 多聚甲醛溶液 500 mL. 灌注结束取整个大脑, 置于 4% 多聚甲醛中 4℃ 过夜.

1.8 免疫荧光检测

制备石蜡切片, 进行抗原修复和血清封闭, 加入一抗和二抗. 用 DAPI 复染细胞核, 将玻片置于 PBS 缓冲液 (PH 7.4) 中, 加入自发光猝灭剂 5 min. 封片, 于荧光显微镜下观察切片并采集图像. 选择 4 个不同视野进行拍照 (200 倍). 采用 Image J 1.53 软件对免疫荧光结果进行半定量分析, 平均荧光强度等于该片的荧光强度总和除以该片视野中的组织总面积.

1.9 统计分析

使用 SPSS 对脑电信号特征频谱数据和免疫荧光检测结果数据进行统计分析, 结果表示为平均值 ± 标准差 (SD) 值. 分别通过 Shapiro-Wilk 检验和 Levene 检验对数据进行正态性检验和方差齐性检验, 对测定值进行独立样本 t 检验, 并进行差异性分析, $P < 0.05$ 视为统计学上有显著性差异. 基于统计学结果, 分析辐射与失重两种作用之间是否存在拮抗效应、叠加效应或协同效应等^[12].

2 结果

2.1 辐射对大鼠脑电信号的影响

采用 AR 法计算了大鼠各通道 ECoG 的频谱占比, 结果如图 4~7 所示. 其中各图中 (a)~(c) 分别表示在辐射效应影响下大鼠脑电信号 δ , θ 和 γ 频谱随时间的变化, (d)~(f) 分别表示在辐照、失重以及辐照和失重联合作用下大鼠脑电信号 δ , θ 和 γ 频谱随时间的变化. 结果显示 α , β 波段在辐照、失重、失重与辐照复合作用下均未出现显著性差异. 在高剂量辐照组中, θ 波段在 1~3 通道出现了显著上升 ($P < 0.05$), δ 波段在 3 通道出现了显著上升 ($P < 0.05$), γ 波段在 1~4 通道均出现了显著下降的现象 ($P < 0.05$). 在失重与中剂量组中, δ 波段在 1 和 3 通道中出现了显著性上升 ($P < 0.05$), θ 波段在 3 通道中出现了显著性上升 ($P < 0.05$), γ 波段在 1 通道中出现了显著性下降 ($P < 0.05$). 在失重与高剂量组中, δ 波段在 1~4 通道中均出现了显著性上升 ($P < 0.05$), θ 波段在 1 和 3 通道出现了显著性上升 ($P < 0.05$), γ 波段在 1~4 通道均出现了显著性下降 ($P < 0.05$).

辐照和失重与辐照复合作用导致大鼠额叶和颞叶部位的 ECoG 出现慢波化现象. Andrews 等^[13] 在 1953 年就发现使用 X 射线照射后豚鼠的脑电波会出现慢波化的现象. Mcfarland 等^[14] 对猴子进行全身中子辐照后也发现其脑电波出现慢波化现象. Loganovsky 等^[15] 在对切尔诺贝利事故后患有急性放射病的患者和急救人员的脑电波研究中发现了慢波化的现象, 这与本实验结果一致. 本研究提示大鼠左侧大脑可能更加敏感, 失重与辐照复合作用导致的 ECoG 异常持续时间要久于单纯辐照或单纯失重带来的异常持续时间. 其中失重与高剂量组 δ 频段 3 通道, θ 频段 1 和 3 通道以及 γ 频段的 1~4 通道均出现了双因素作用效果高于其各自单因素效果, 未出现拮抗效应叠加效应, 提示失重与高剂量辐射会对大鼠在特定脑区及特定频段出现增强作用.

Zhang 等^[5] 研究了 16 名健康男性在 -6° 头低位卧床休息状态下的脑电信号, 发现被试者的脑电信号功率谱慢波增加、快波减少, 且复杂度降低, 这种脑电信号异常变化可能与大脑皮层活跃程度受到抑制有关. Spironelli 等^[16] 研究了 32 名女性坐位与卧床休息位的睁眼静息状态脑电信号, 同样发现卧床休息组脑

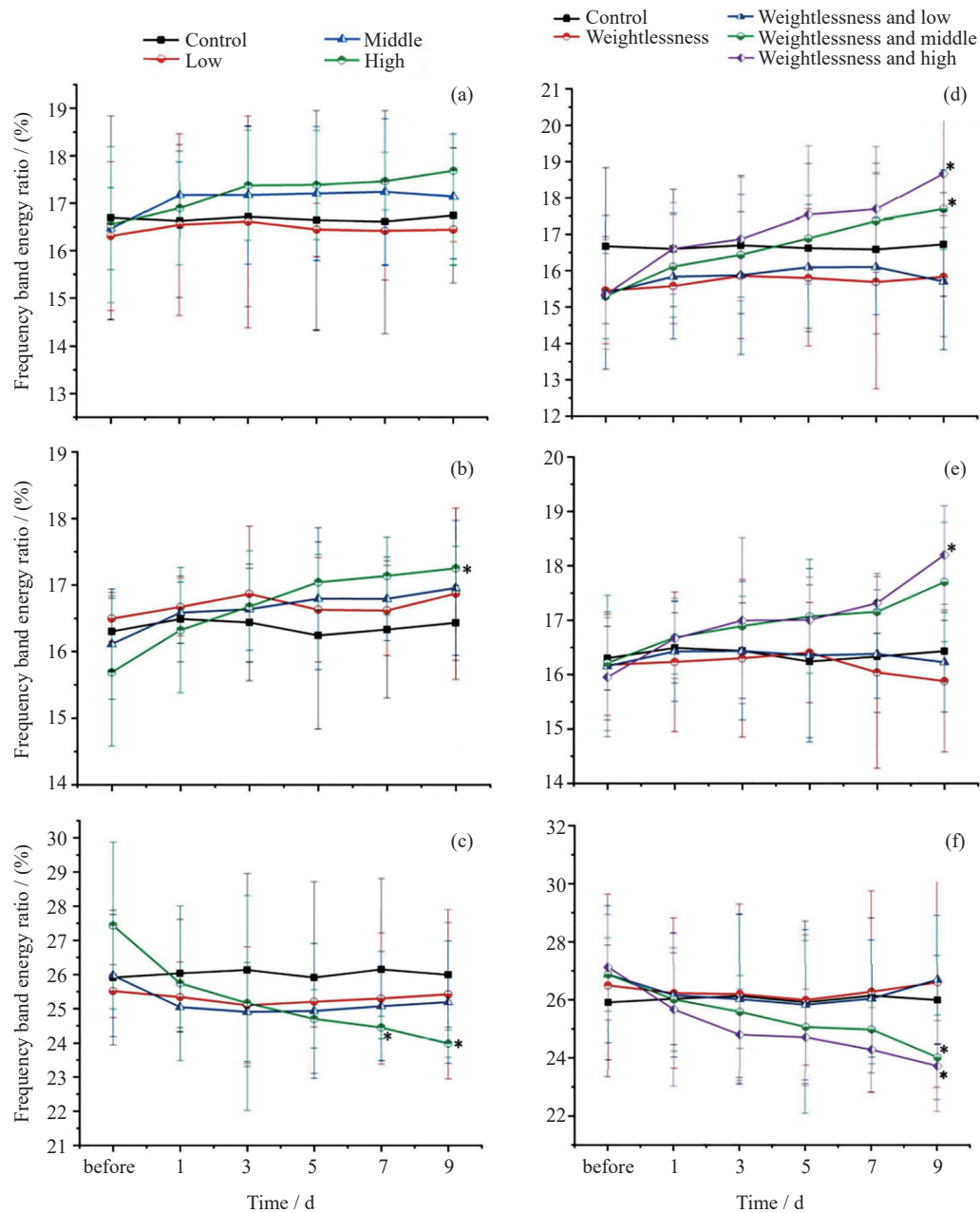


图4 通道1 EEG 信号各波段占比变化趋势

Fig. 4 Ratio trend of EEG signals of each band in Channel 1

电信号的 δ 波振幅显著增加。 δ 波一般被认为与生物的睡眠密切相关^[17], δ 波的增强多在放松、嗜睡或疲劳状态中出现^[18]。 θ 波也会在疲劳状态或困倦状态下增强^[19],而其中额叶部位 θ 波的增强更是与精神疲劳密切相关。此外,有研究发现 θ 波的升高可能与帕金森病症或由帕金森导致的认知功能障碍密切相关。Caviness等^[20]的研究中发现 δ 波的升高可能与皮质间联系受损相关,并且 θ 波的升高也与原发性帕金森

病或帕金森轻度认知功能障碍有关。所以 δ 波和 θ 波的增强可能是一种能够在早期预测认知功能损伤的关键指标^[21]。 γ 波目前主要被认为与大脑信号传导和知觉处理密切相关,在认知功能受损的情况下往往伴随着 γ 波的降低。研究中辐照、失重与辐照复合作用导致 θ 波段和 δ 波段上升, γ 波段下降,提示在辐照和失重刺激下大鼠可能出现了精神疲劳、嗜睡等状态,这可能是由于辐射对大脑神经元细胞的活跃程度产

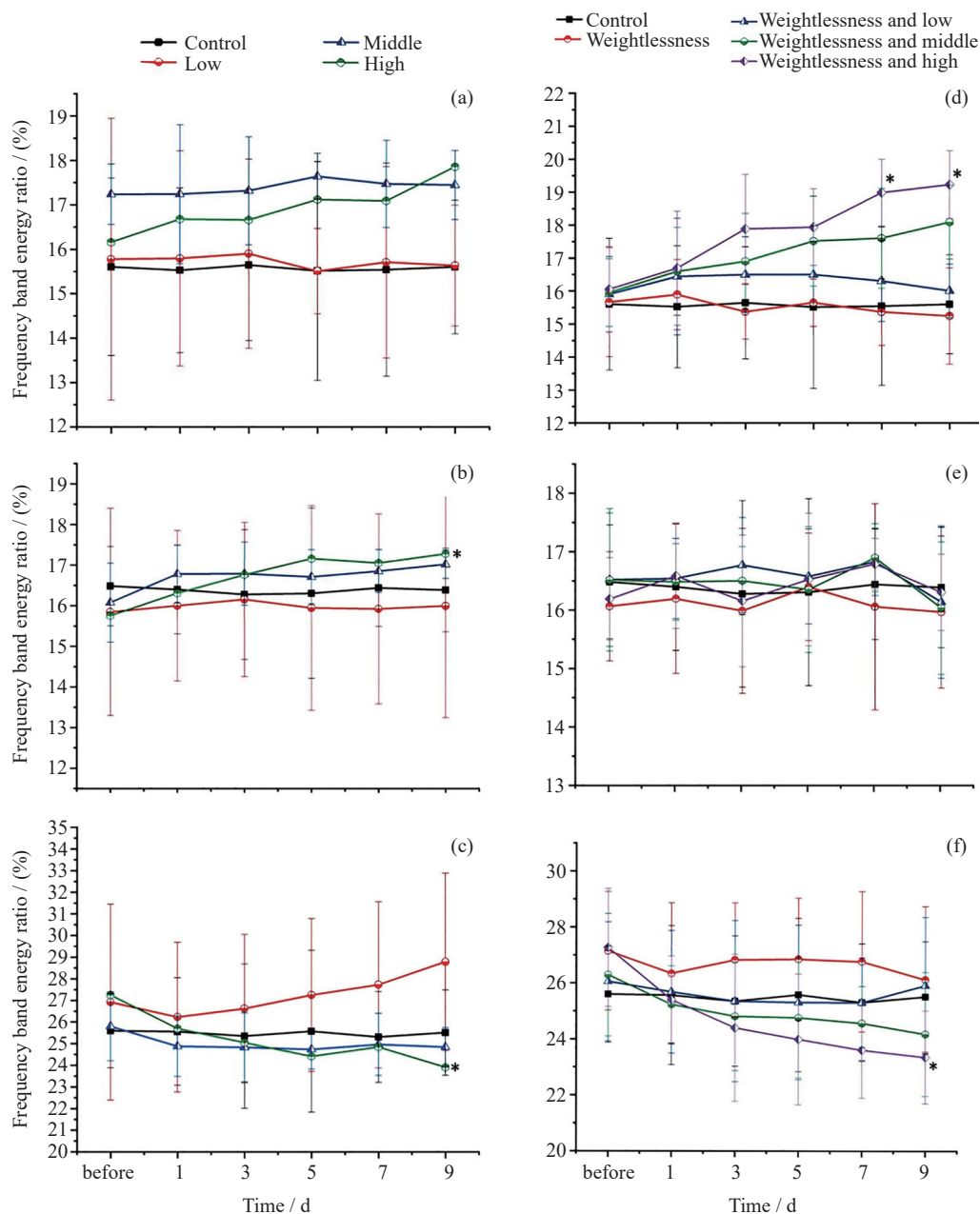


图5 通道2 EEG 信号各波段占比变化趋势

Fig. 5 Ratio trend of EEG signals of each band in Channel 2

生了一定的抑制作用所导致。

此外, 脑电信号的慢波化被认为是学习记忆能力受损的表现, 例如其在阿尔茨海默病 (Alzheimer's Disease, AD) 和轻度认知障碍 (Mild Cognitive Impairment, MCI) 等疾病中出现^[22], 动物实验中脑电信号低频波增加、高频波降低也与动物的学习记忆能力衰减相关. 本研究显示受试大鼠 ECoG 出现慢波化现象, 提示辐照、失重与辐照复合作用可能导致大鼠的

学习记忆能力损伤, 这可能与脑皮质功能受损相关。

2.2 脑电信号神经网络自动识别

将大鼠对照组及其他组别数据共同作为输入数据对模型进行训练, 该模型与其他机器学习模型的识别准确度结果列于表1。

观察表1可知, 研究所搭建的神经网络模型对于不同的实验组别的大鼠脑电信号的识别准确度高于其他机器学习模型。

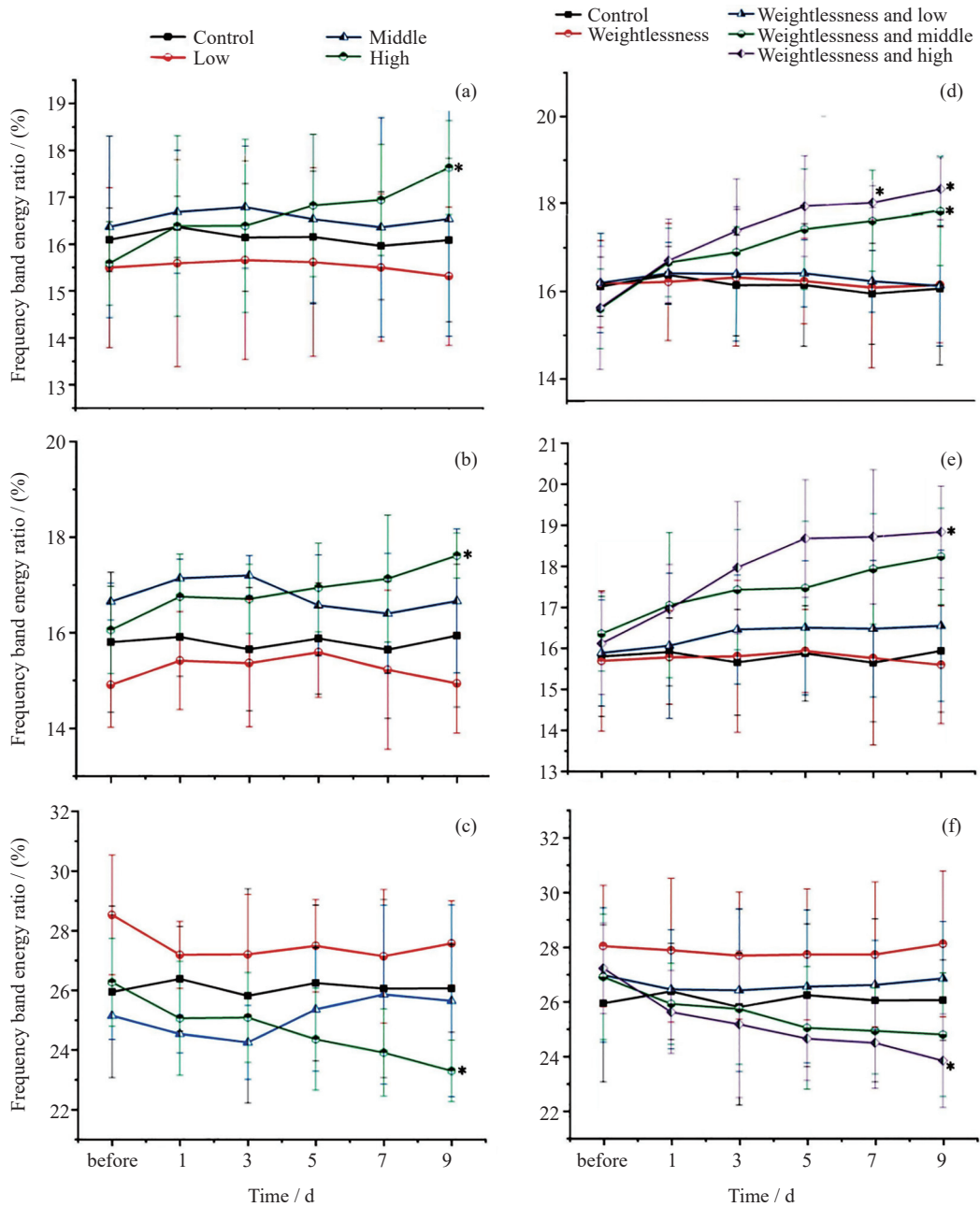


图6 通道3 EEG 信号各波段占比变化趋势

Fig. 6 Ratio trend of EEG signals of each band in Channel 3

随机选取了来自不同实验组别的8只大鼠进行了特征值预测,发现该神经网络模型在进行训练时其MSE和MAE值均呈现持续下降的现象,并且最终MAE均稳定在了0.05以内,MSE均稳定在了0.002以内,其输出结果与使用Matlab进行特征提取的结果接近,说明该网络具有较好的回归性能与良好的自动提取特征效果.神经网络回归预测脑电信号特征值的学习曲线结果如图8所示.

2.3 大鼠脑内髓鞘碱性蛋白表达变化

大鼠脑内髓鞘碱性蛋白表达量变化免疫荧光检测结果如图9~12所示.额叶:单纯辐照组大鼠的MBP表达量有下降趋势,但与对照组相比无显著性差异;失重组和失重与辐照复合组MBP表达量显著下降($P<0.05$),随着照射剂量增加呈现一定的剂量依赖性;失重与辐照复合组的MBP表达量均显著低于对应的单纯辐照组($P<0.05$).颞叶:失重与中剂量组

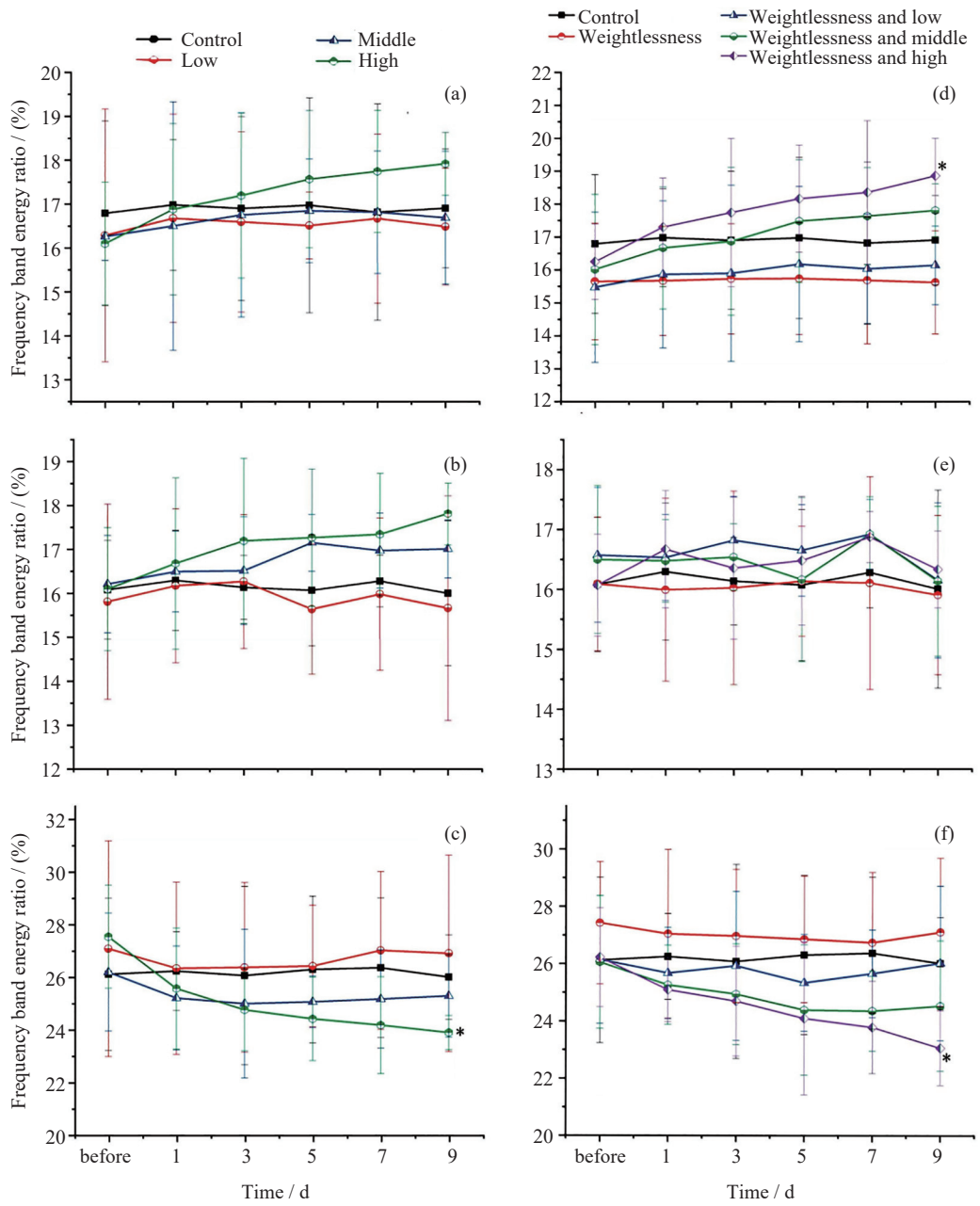


图 7 通道 4 EEG 信号各波段占比变化趋势

Fig. 7 Ratio trend of EEG signals of each band in Channel 4

表 1 不同模型对大鼠脑电自动识别的准确度
Table 1 Accuracy of automatic recognition of rat EEG with different models

Machine learning model	Recognition accuracy
K-nearest neighbors	0.6166
Logistic regression	0.2195
Random forest	0.8502
Neural networks	0.9029

和失重与高剂量组 MBP 表达量出现显著下降 ($P<0.05$), 其他组别无显著性差异. 海马: 失重组和失重与辐照复合组的 MBP 表达量显著低于对照组 ($P<0.05$).

髓鞘碱性蛋白 (Myelin Basic Protein, MBP) 是髓鞘的重要组成部分, 占髓鞘总蛋白的 30%, MBP 为检测髓鞘活性的重要标志物^[23]. 相关研究显示辐射导致脑内髓鞘异常^[24], 主要表现为脑白质脱髓鞘, 该现

象常见于放疗导致的放射性脑损伤. Chen 等^[25]的研究中发现出现脱髓鞘症状患者的脑电信号出现明显的额颞部位的 δ 和 θ 波增加. 本研究脑电结果显示, 在失重与中剂量组中, δ 波段在 1 和 3 通道中出现了显著性上升 ($P<0.05$), θ 波段在 3 通道中出现了显著性上升 ($P<0.05$). 在失重与高剂量组中, δ 波段在 1~4 通道中均出现了显著性上升 ($P<0.05$), θ 波段在 1 和 3 通道出现了显著性上升 ($P<0.05$). 结合

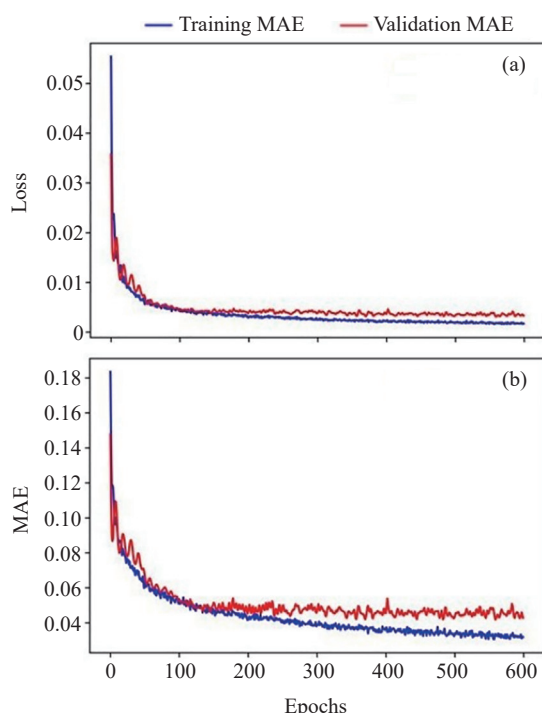


图 8 神经网络回归预测脑电信号特征值的学习曲线
Fig. 8 Learning curves of neural network regression to predict EEG eigenvalues

MBP 免疫荧光检测结果分析, 大鼠 ECoG 慢波化现象, 可能与大鼠额叶、颞叶、海马组织髓鞘结构的完整性受损有关^[26].

射线穿过大脑后脑内的 MBP 表达量的下降通常伴随着病理形态的改变. Akiyama 等^[27]发现对大鼠进行全脑照射后, 其脑内出现的主要损伤为脱髓鞘或脑组织坏死, 而在没有坏死的脑部其他区域中 MBP 的表达量也出现显著降低, 并且这种病变与 AD 等临床常见的大脑衰老疾病相似. Piao 等^[28]的研究中发现, 全脑照射会导致大鼠的认知能力和记忆力降低, 情绪障碍和运动协调能力降低, 大鼠脑内的 MBP 表达量减少并伴随着白质脱髓鞘病变. 此外, 在很多关于放疗后患者脑部影像学的研究中也发现放疗可能会导致患者脑部出现脱髓鞘的病理特征^[29]. 结合本实验结果分析, 辐射、辐照与失重复合刺激可能导致大鼠大脑额叶和颞叶部位的髓鞘出现损伤. 本部分实验中辐射、失重对 MBP 表达产生一定影响, 尤其失重与辐照复合刺激对 MBP 表达影响更明显. 例如在单纯辐射或单纯失重刺激下, 颞叶 MBP 表达未出现显著变化, 但在中高剂量辐照与失重复合刺激诱导下颞叶 MBP 表达量显著下降. 脑电信号的研究结果也出现辐照与失重复合刺激作用更明显的现象, 提示辐射与失重两种刺激未产生拮抗作用、未达到叠加效应和协同效应, 而是趋于增强效应.

结合前述的关于脑电信号的研究结果, 提示大鼠 ECoG 出现慢波化现象, 可能与髓鞘损伤、神经纤维的正常功能受损有关. 一方面轴突的电信号传导速度受到影响; 另一方面, 神经元之间的联系程度减弱, 进

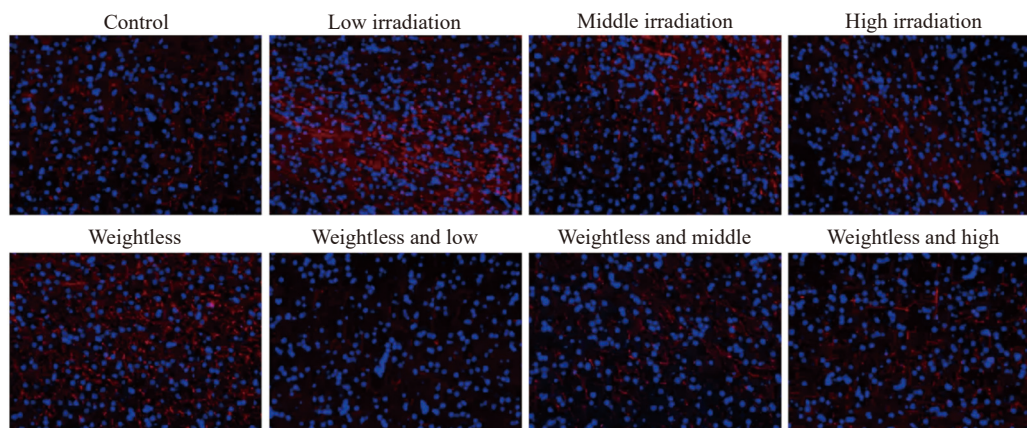


图 9 大鼠额叶髓鞘碱性蛋白免疫荧光检测结果

Fig. 9 Immunofluorescence analysis of myelin basic protein in rat frontal cortex

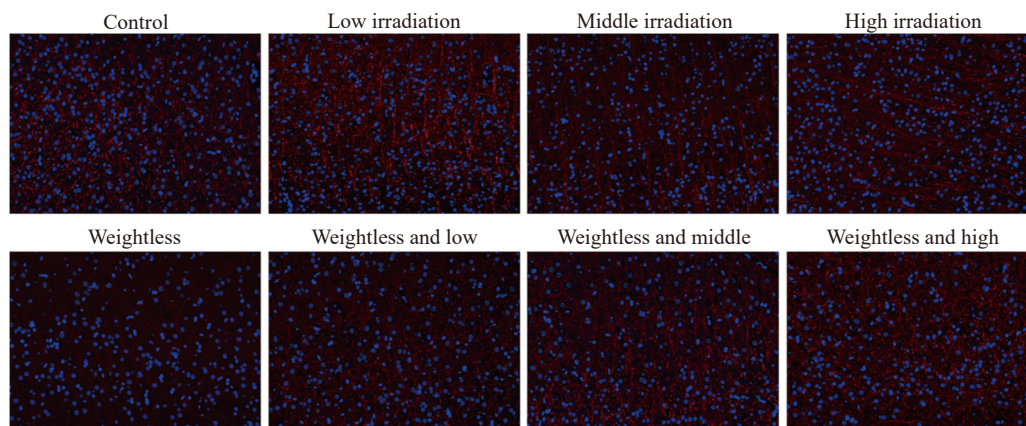


图 10 大鼠颞叶髓鞘碱性蛋白免疫荧光检测结果

Fig. 10 Immunofluorescence analysis of myelin basic protein in rat temporal lobe

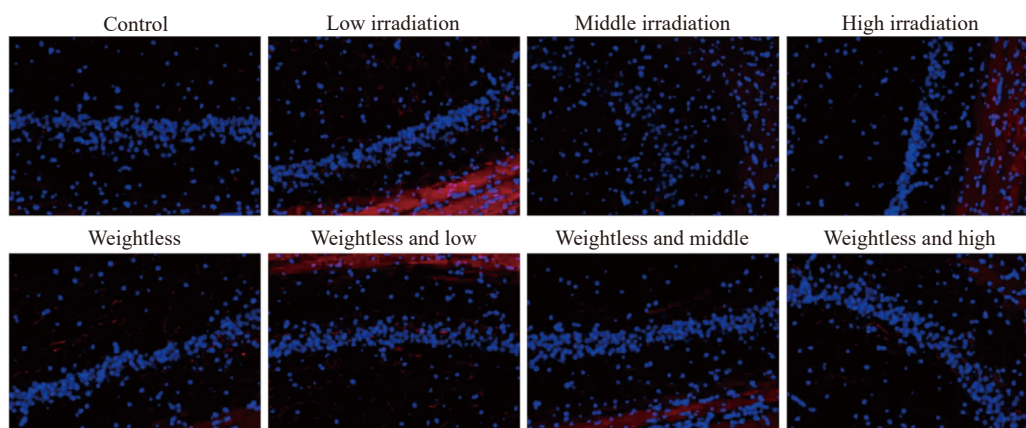


图 11 大鼠海马髓鞘碱性蛋白免疫荧光检测结果

Fig. 11 Immunofluorescence analysis of myelin basic protein in rat hippocampus

而导致神经元之间的信息交互能力受损,从而表现为 ECoG 的慢波化.

2.4 大鼠脑内胶质纤维酸性蛋白表达变化

大鼠脑内胶质纤维酸性蛋白 (GFAP) 表达量变化免疫荧光检测结果如图 13~16 所示. 模拟失重与中剂量组和模拟失重与高剂量组大鼠额叶胶质纤维酸性蛋白表达量显著增加, 高于对应的辐照组 ($P < 0.05$). 模拟失重与中剂量和模拟失重与高剂量组大鼠颞叶的 GFAP 表达量显著高于对照组和单纯失重组 ($P < 0.05$). 模拟失重组和模拟失重与辐照复合组大鼠海马部位的 GFAP 表达量显著高于对照组, 模拟失重与辐照复合作用组 GFAP 表达量显著高于对应的单纯辐照组 ($P < 0.05$).

GFAP 是目前最常使用的星形胶质细胞标记物^[30], 星形胶质细胞对电离辐射较为敏感, 其受辐射

后表现为细胞肿大、胞体增生、GFAP 表达量增加等, 且常常伴随着认知功能障碍^[31]. 星形胶质细胞的激活一度被认为是一种损伤修复作用^[32]. 但是随着研究的深入, 发现星形胶质细胞的激活反而会加剧神经元的损伤^[33]. 一方面, 星形胶质细胞的激活会使白细胞介素-1 β (IL-1 β) 和肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 等细胞因子的释放增多, 这些细胞因子会损害血脑屏障的完整性, 并进一步导致神经元和胶质细胞的正常功能受损^[34]. 另一方面, 星形胶质细胞激活后释放的细胞因子又会进一步促进自身的增生, 如细胞因子 S100 β 可促进星形胶质细胞的增生、使 GFAP 表达量增加, 从而进一步加剧神经损伤^[33]. 本实验中给予辐照和失重刺激后, 大鼠额叶、颞叶和海马组织 GFAP 表达量出现上升趋势, 失重与中高剂量组表达量出现显著上升. 例如在单独辐射或单独失重刺激下, 颞叶 GFAP

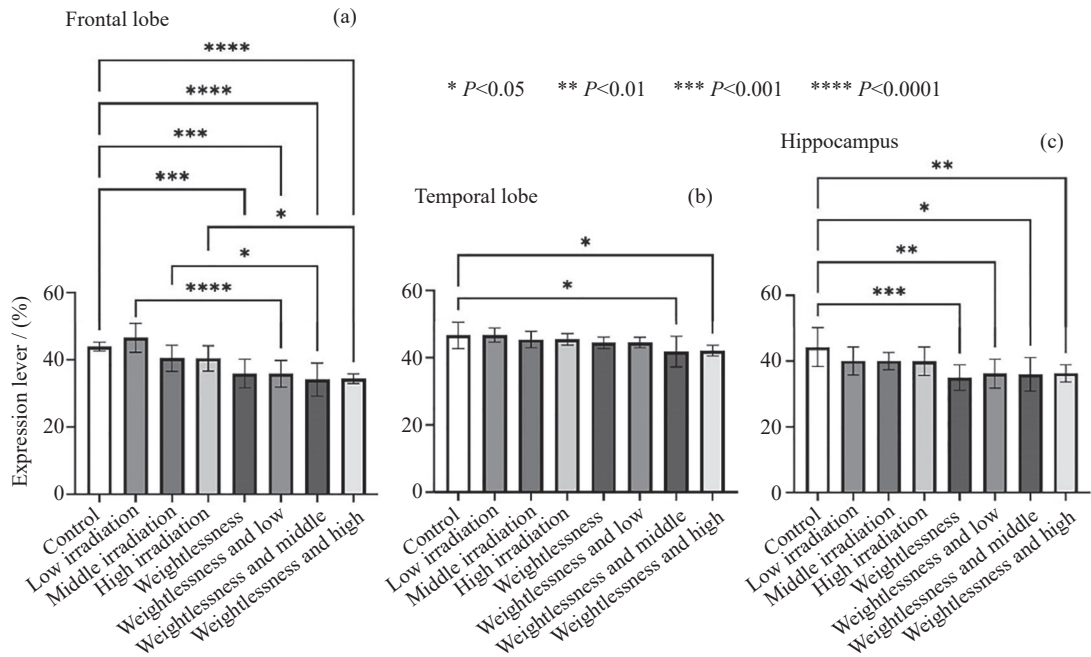


图 12 大鼠脑内 MBP 表达量变化

Fig. 12 Changes in MBP expression in rat brain

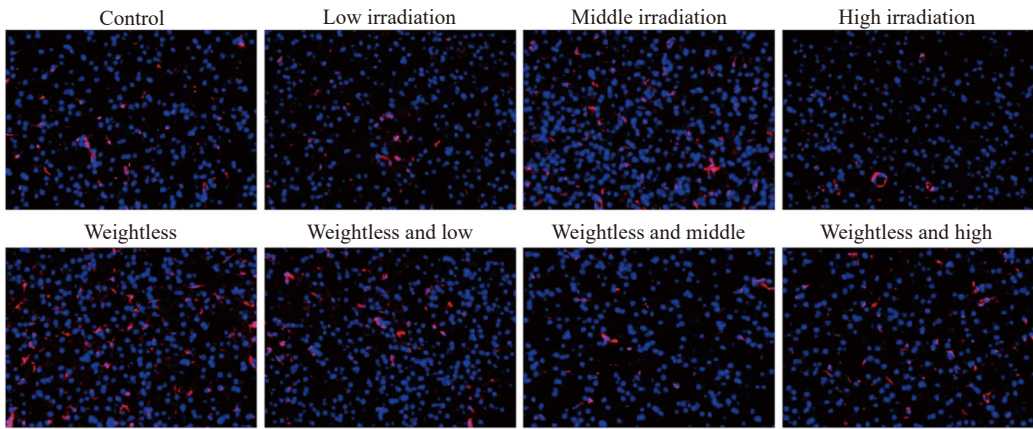


图 13 大鼠额叶胶质纤维酸性蛋白免疫荧光检测结果

Fig. 13 Immunofluorescence analysis of glial fibrillary acidic protein in rat frontal cortex

表达未出现显著变化,但中高剂量辐照与失重复合刺激诱导额叶 GFAP 表达量显著上升.提示辐射与失重这两种刺激未产生拮抗作用、未达到叠加效应和协同效应,而是趋于增强效应.

Foley 等^[35]发现星形胶质细胞 Ca^{2+} 信号通路受损时,小鼠脑电信号 θ 波显著增强. Lee 等^[36]研究了星形胶质细胞与脑电 γ 波之间的关系,发现当星形胶质细胞释放神经递质(例如谷氨酸)的过程被阻碍后,小鼠大脑的 γ 波减弱.本研究结果显示,在失重与高

剂量组中, θ 波段在 1 和 3 通道出现显著性上升 ($P<0.05$), γ 波段在 1~4 通道均出现显著性下降 ($P<0.05$),提示失重和辐射可能会导致星形胶质细胞被激活,并促进炎症因子的释放,从而阻碍星形胶质细胞中神经递质的正常释放,这可能是导致大鼠大脑 γ 波减弱的机制.大鼠脑电信号慢波化可能与星形胶质细胞被激活有关.

2.5 大鼠大脑小胶质细胞 IBA-1 表达量变化

大鼠脑内小胶质细胞 IBA-1 表达量变化免疫荧

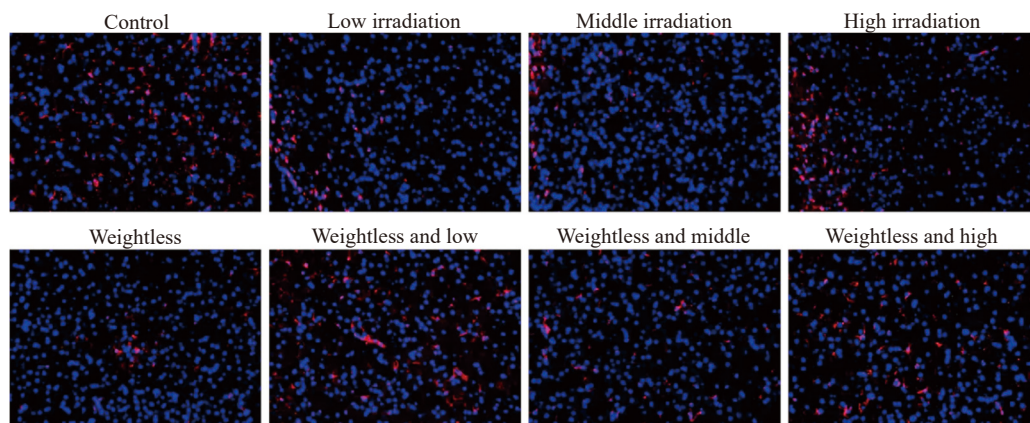


图 14 大鼠颞叶胶质纤维酸性蛋白免疫荧光检测结果

Fig. 14 Immunofluorescence analysis of glial fibrillary acidic protein in rat temporal lobe

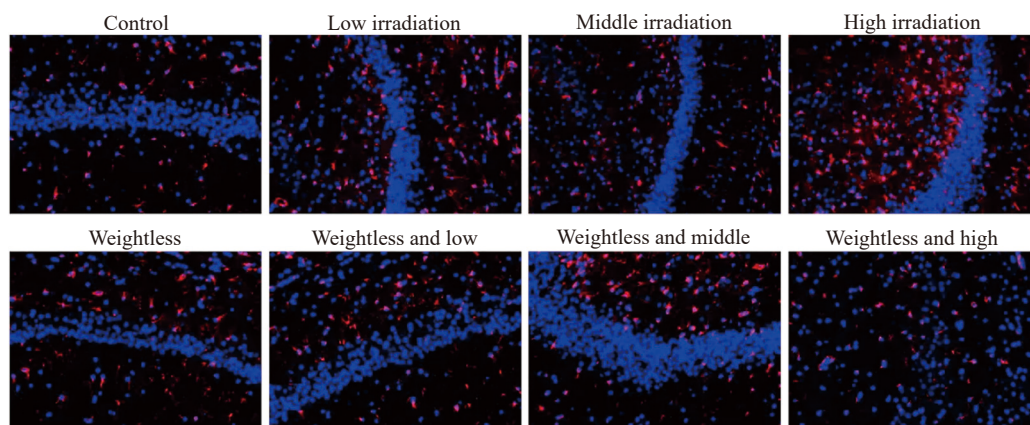


图 15 大鼠海马胶质纤维酸性蛋白免疫荧光检测结果

Fig. 15 Immunofluorescence analysis of glial fibrillary acidic protein in rat hippocampus

光检测结果如图 17~20 所示. 模拟失重与中剂量组和模拟失重与高剂量组大鼠颞叶的 IBA-1 表达量出现显著增加 ($P<0.05$). 模拟失重与高剂量组海马 IBA-1 表达量高于对照组和单纯失重组 ($P<0.05$).

IBA-1 是常用的小胶质细胞标记物, 当小胶质细胞被激活时, IBA-1 的表达量上调^[37]. 本研究结果提示, 在辐射失重复合因素刺激下, 大鼠脑内小胶质细胞被激活. 小胶质细胞被激活后通常会极化为 M1 和 M2 两种不同的类型^[38]. 其中 M1 型的小胶质细胞会释放多种促炎因子和趋化因子, 当大量释放时会加重神经元损伤, 产生神经毒性^[39]. M2 型小胶质细胞则会分泌如转化生长因子 β (Transforming Growth Factor- β , TGF- β) 和血管内皮生长因子 (Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF) 等抗炎因子, 起到减轻神经炎症的发展并促进组织修复的作用^[40]. 在

辐照和失重刺激下, 大鼠颞叶和海马组织 IBA-1 表达量出现上升趋势, 失重与高剂量辐照组表达量出现显著升高, 提示高剂量辐照和失重双因素作用具有增强效应. 结合本研究前述研究结果, 提示在一定范围内, 辐射和失重对脑组织的作用可能存在共同的分子通路, 其机制有待进一步研究.

Gavilanes 等^[41]发现脑电信号向低频转移程度与小胶质细胞的活化程度呈正相关. 本研究显示, 在辐射失重复合作用刺激下, 大鼠脑电出现慢波化现象. 研究结果与 Gavilanes 等^[41]的研究结果相似, 提示大鼠大脑中小胶质细胞的活化可能与大鼠脑电信号的慢波化密切相关.

此外, 有关小胶质细胞与癫痫发作导致的脑电信号异常之间的关系研究不断深入. Grigorovsky 等^[42]的研究发现小胶质细胞与癫痫发作后全面脑电抑制现

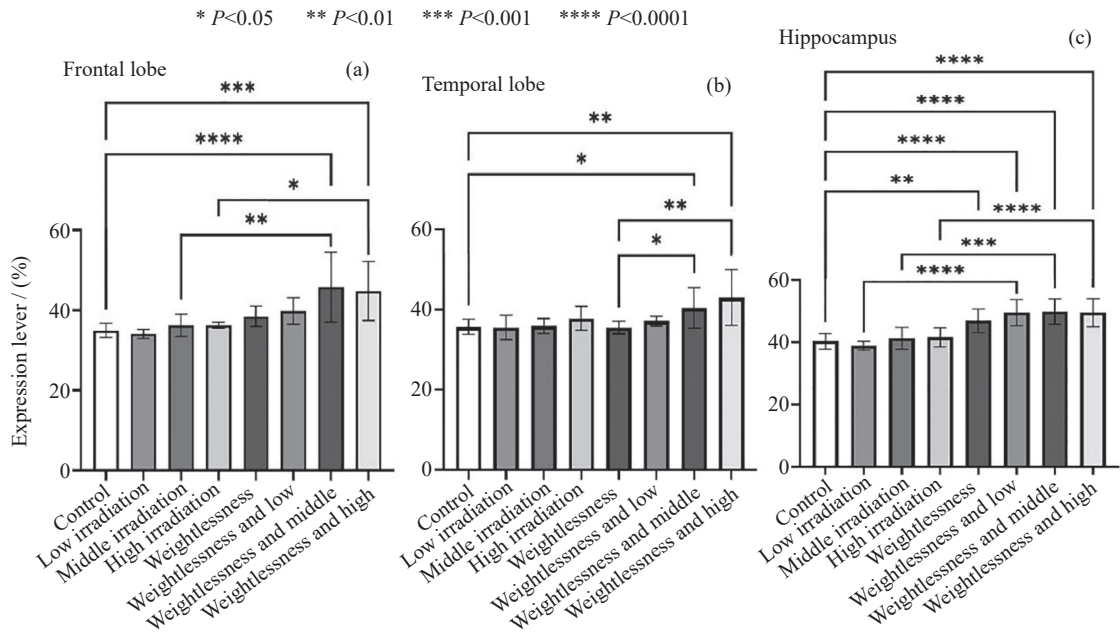


图 16 大鼠脑内 GFAP 表达量变化

Fig. 16 Changes of GFAP expression in rat brain

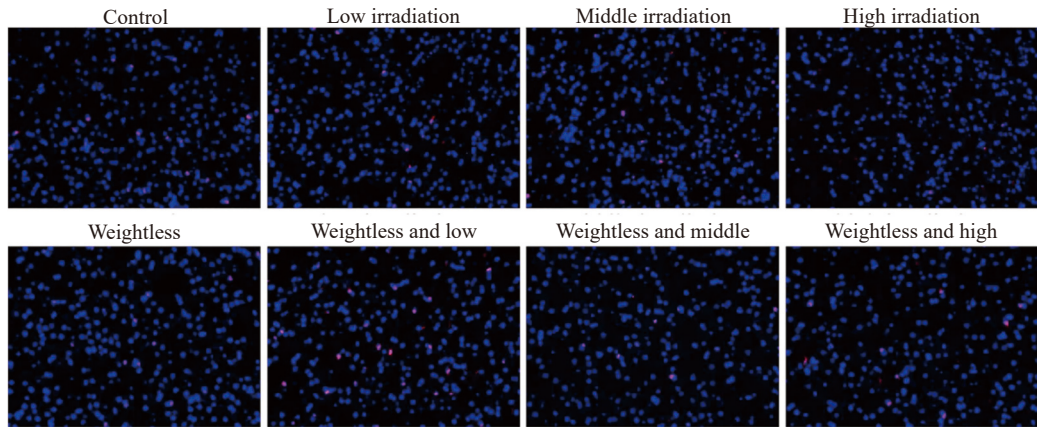


图 17 大鼠额叶小胶质细胞 IBA-1 免疫荧光检测结果

Fig. 17 Immunofluorescence analysis of IBA-1 in rat frontal cortex

象密切相关. 结合本研究的相关结果, 进一步提示大鼠大脑中小胶质细胞的活化可能与大鼠脑电信号的慢波化密切相关, 但是其具体机制有待进一步研究.

3 结论

辐射和失重导致大鼠 ECoG 出现慢波化现象, 辐射失重复合作用影响更明显. 大鼠左半脑可能更加敏感. 神经网络模型能够较好识别辐射和失重导致的脑电信号异常. 辐射失重复合刺激导致髓鞘受损, 星形胶质细胞、小胶质细胞处于激活状态, 这可能与大鼠

ECoG 慢波化有关.

本研究采用脑电技术较为系统地分析了辐射、失重、辐射失重复合作用对中枢神经系统的影响, 并与蛋白层面的研究结果相结合, 阐释辐射、失重以及辐射失重复合作用对中枢神经系统的影响规律及机制. 本研究有望为载人航天飞行中的辐射损伤预警与防护技术研究提供参考. 目前主要针对脑电频谱开展了研究, 未来可进一步寻找其他脑电信号特征指标, 并为区分辐射和失重作用奠定基础. 此外, 进一步探究空间环境导致大脑损伤的机制, 着眼于脑内特定细胞, 例如星形胶质细胞等, 深入开展研究.

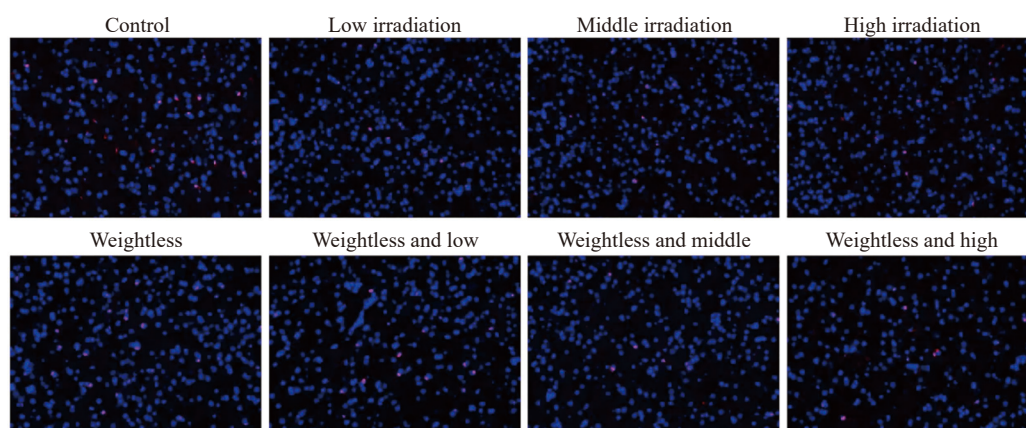


图 18 大鼠颞叶小胶质细胞 IBA-1 免疫荧光检测结果

Fig. 18 Immunofluorescence analysis of IBA-1 in rat hippocampus

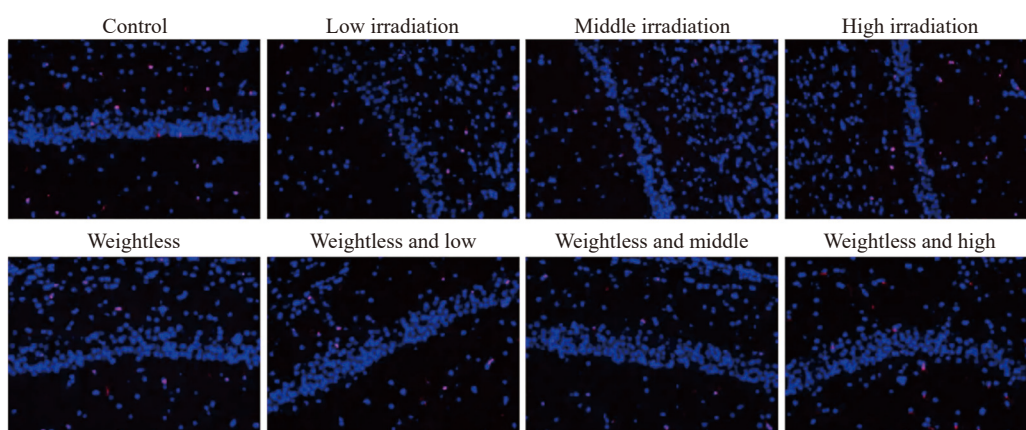


图 19 大鼠海马小胶质细胞 IBA-1 免疫荧光检测结果

Fig. 19 Immunofluorescence analysis of IBA-1 in rat hippocampus

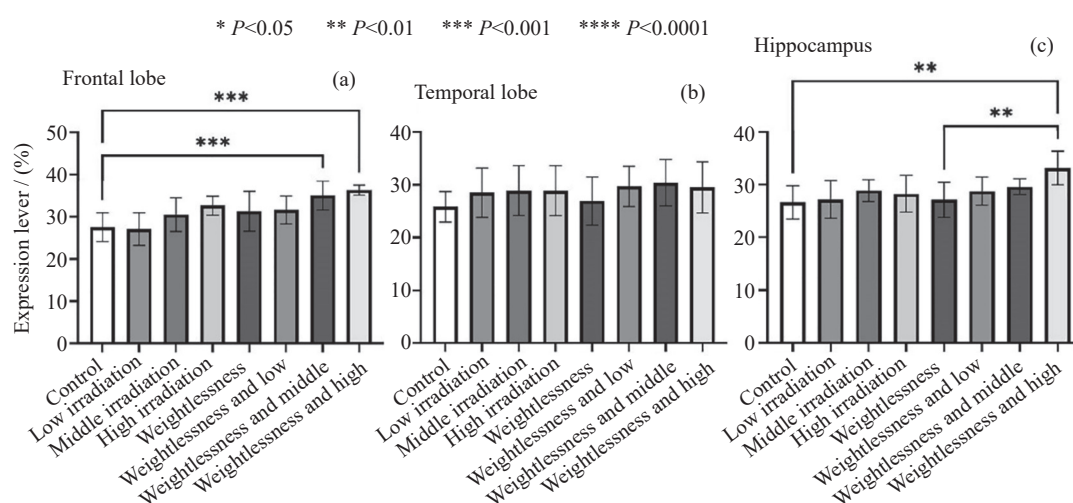


图 20 大鼠脑内 IBA-1 表达量变化

Fig. 20 Changes of IBA-1 impression in rat brain

医学伦理 研究通过南京韩锐-赞科中德肿瘤研究所实验动物伦理委员会审查并符合 1964 年《赫尔辛基宣言》及之后的修订版或类似的伦理标准. 审查编号: SYXK(SU)2021-0086.

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突.

参考文献

- [1] GARRETT-BAKELMAN F E, DARSHI M, GREEN S J, *et al.* The NASA twins study: a multidimensional analysis of a year-long human spaceflight[J]. *Science*, 2019, **364**(6436): eaau8650
- [2] TU D N, BASNER M, SMITH M G, *et al.* Dynamic ensemble prediction of cognitive performance in spaceflight[J]. *Scientific Reports*, 2022, **12**(1): 11032
- [3] DEMERTZI A, VAN OMBERGEN A, TOMILOVSKAYA E, *et al.* Cortical reorganization in an astronaut's brain after long-duration spaceflight[J]. *Brain Structure and Function*, 2015, **221**(5): 2873-2876
- [4] ALGEDA F R, ELTAHAWY N A, SHEDID S M, *et al.* The impact of gamma-radiation on the cerebral- and cerebellar- cortex of male rats' brain[J]. *Brain Research Bulletin*, 2022, **186**: 136-142
- [5] ZHANG J Y, HU B, CHEN W J, *et al.* Quantitative EEG and its correlation with cardiovascular, cognition and mood state: an integrated study in simulated microgravity[J]. *Microgravity Science and Technology*, 2014, **26**(6): 401-418
- [6] CUCINOTTA F A. Review of NASA approach to space radiation risk assessments for mars exploration[J]. *Health Physics*, 2015, **108**(2): 131-142
- [7] LIU L R, LIU J C, BAO J S, *et al.* Interaction of microglia and astrocytes in the neurovascular unit[J]. *Frontiers in Immunology*, 2020, **11**: 1024
- [8] LISJAK M, POTOKAR M, ZOREC R, *et al.* Indirect role of AQP4b and AQP4d isoforms in dynamics of astrocyte volume and orthogonal arrays of particles[J]. *Cells*, 2020, **9**(3): 735
- [9] STRÁDI A, SZABÓ J, INOZEMTSEV K O, *et al.* Comparative radiation measurements in the Russian segment of the International Space Station by applying passive dosimeters[J]. *Radiation Measurements*, 2017, **106**: 267-272
- [10] LI S Q, SONG Q Y, WU B, *et al.* Structural damage to the rat eye following long-term simulated weightlessness[J]. *Experimental Eye Research*, 2022, **223**: 109200
- [11] ZHANG M Y, LIU D, WANG Q S, *et al.* Detection of alertness-related EEG signals based on decision fused BP neural network[J]. *Biomedical Signal Processing and Control*, 2022, **74**: 103479
- [12] HUANG Di. The Role and Mechanism of Pyroptosis in X-ray Andanlotinib Therapy for Esophageal Squamous Cell Carcinoma[D]. Ji'nan: Shandong University, 2023 (黄迪. 细胞焦亡介导 X 射线和安罗替尼协同治疗食管鳞状细胞癌的作用机制研究 [D]. 济南: 山东大学, 2023)
- [13] ANDREWS H L, BRACE K C. Terminal phenomena associated with massive doses of X-rays[J]. *American Journal of Physiology-Legacy Content*, 1953, **175**(1): 138-140
- [14] MCFARLAND W L, LEVIN S G. Electroencephalographic responses to 2500 Rads of whole-body gamma-neutron radiation in the monkey *Macaca mulatta*[J]. *Radiation Research*, 1974, **58**: 60-73
- [15] LOGANOVSKY K N, YURYEV K L. EEG patterns in persons exposed to ionizing radiation as a result of the Chernobyl accident: part 1: conventional EEG analysis[J]. *The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences*, 2001, **13**(4): 441-458
- [16] SPIRONELLI C, BUSENELLO J, ANGRILLI A. Supine posture inhibits cortical activity: evidence from Delta and Alpha EEG bands[J]. *Neuropsychologia*, 2016, **89**: 125-131
- [17] CHOI J W, JEONG M H, HER S J, *et al.* Abnormal sleep delta rhythm and interregional phase synchrony in patients with restless legs syndrome and their reversal by dopamine agonist treatment[J]. *Journal of Clinical Neurology*, 2017, **13**(4): 340-350
- [18] LIN C T, KING J T, CHUANG C H, *et al.* Exploring the brain responses to driving fatigue through simultaneous EEG and fNIRS measurements[J]. *International Journal of Neural Systems*, 2020, **30**(1): 1950018
- [19] WASCHER E, RASCH B, SÄNGER J, *et al.* Frontal theta activity reflects distinct aspects of mental fatigue[J]. *Biological Psychology*, 2014, **96**: 57-65
- [20] CAVINESS J N, UTIANSKI R L, HENTZ J G, *et al.* Differential spectral quantitative electroencephalography patterns between control and Parkinson's disease cohorts[J]. *European Journal of Neurology*, 2016, **23**(2): 387-392
- [21] GERAEDTS V J, BOON L I, MARINUS J, *et al.* Clinical correlates of quantitative EEG in Parkinson disease: a systematic review[J]. *Neurology*, 2018, **91**(19): 871-883
- [22] D'ATRI A, SCARPELLI S, GORGONI M, *et al.* EEG alterations during wake and sleep in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease[J]. *iScience*, 2021, **24**(4): 102386
- [23] SARMAH R J, KUNDU S. Stable layers of pure myelin basic protein (MBP): structure, morphology and hysteresis behaviors[J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2023, **662**: 130973
- [24] GOYAL H, SINGH N, GURJAR O P, *et al.* Radiation induced demyelination in cervical spinal cord of the head and neck cancer patients after receiving radiotherapy[J]. *Journal of Biomedical Physics and Engineering*, 2019, **10**(1): 1-6
- [25] CHEN Q H, YUAN F F, DU L L *et al.* The clinical analysis of 26 patients with acute demyelinating encephalopathy[J]. *Journal of Brain and Nervous Diseases*, 2013, **21**(1): 4-6
- [26] DEANTONI M, BAILLET M, HAMMAD G, *et al.* Association between sleep slow-wave activity and in-vivo estim-

- ates of myelin in healthy young men[J]. *NeuroImage*, 2023, **272**: 120045
- [27] AKIYAMA K, TANAKA R, SATO M, *et al.* Cognitive dysfunction and histological findings in adult rats one year after whole brain irradiation[J]. *Neurologia Medico-Chirurgica*, 2001, **41**(12): 590-598
- [28] PIAO J, MAJOR T, AUYEUNG G, *et al.* Human embryonic stem cell-derived oligodendrocyte progenitors remyelinate the brain and rescue behavioral deficits following radiation[J]. *Cell Stem Cell*, 2015, **16**(2): 198-210
- [29] XIONG W F, QIU S J, WANG H Z, *et al.* ¹H-MR spectroscopy and diffusion tensor imaging of normal-appearing temporal white matter in patients with nasopharyngeal carcinoma after irradiation: Initial experience[J]. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 2013, **37**(1): 101-108
- [30] LOWE M C, MONEY K M, MATTHEWS E, *et al.* Case of autoimmune GFAP astrocytopathy with eosinophils in the cerebrospinal fluid[J]. *Journal of Neuroimmunology*, 2023, **385**: 578249
- [31] COLANGELO A M, CIRILLO G, LAVITRANO M L, *et al.* Targeting reactive astrogliosis by novel biotechnological strategies[J]. *Biotechnology Advances*, 2012, **30**(1): 261-271
- [32] NAGHIEH P, DELAVAR A, AMIRI M, *et al.* Astrocyte's self-repairing characteristics improve working memory in spiking neuronal networks[J]. *Iscience*, 2023, **26**(12): 108241
- [33] MURGAS P, GODOY B, VON BERNHARDI R. A β potentiates inflammatory activation of glial cells induced by scavenger receptor ligands and inflammatory mediators in culture[J]. *Neurotoxicity Research*, 2012, **22**(1): 69-78
- [34] GARBER C, VASEK M J, VOLLMER L L, *et al.* Astrocytes decrease adult neurogenesis during virus-induced memory dysfunction via IL-1[J]. *Nature Immunology*, 2018, **19**(2): 151-161
- [35] FOLEY J, BLUTSTEIN T, LEE S, *et al.* Astrocytic IP₃/Ca²⁺ signaling modulates theta rhythm and REM sleep[J]. *Frontiers in Neural Circuits*, 2017, **11**: 3
- [36] LEE H S, GHETTI A, PINTO-DUARTE A, *et al.* Astrocytes contribute to gamma oscillations and recognition memory[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, **111**(32): E3343-E3352
- [37] KENKHUIS B, SOMARAKIS A, KLEINDOUWEL L R T, *et al.* Co-expression patterns of microglia markers Iba1, TMEM119 and P2RY12 in Alzheimer's disease[J]. *Neurobiology of Disease*, 2022, **167**: 105684
- [38] GUO S R, WANG H, YIN Y F. Microglia polarization from M1 to M2 in neurodegenerative diseases[J]. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 2022, **14**: 815347
- [39] WANG H X, LIU C, HAN M, *et al.* TRAM1 promotes microglia M1 polarization[J]. *Journal of Molecular Neuroscience*, 2016, **58**(2): 287-296
- [40] WU J, DING D H, LI Q Q, *et al.* Lipoxin A4 regulates lipopolysaccharide-induced BV2 microglial activation and differentiation via the notch signaling pathway[J]. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 2019, **13**: 19
- [41] GAVILANES A W D, GANTERT M, STRACKX E, *et al.* Increased EEG delta frequency corresponds to chorioamnionitis-related brain injury[J]. *Frontiers in Bioscience (Scholar Edition)*, 2010, **2**(2): 432-438
- [42] GRIGOROVSKY V, BARDAKJIAN B L. Neuro-glial network model of postictal generalized EEG suppression (PGES)[C]//2018 40th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC). Honolulu, HI, USA: IEEE, 2018: 2044-2047

作者简介



丰俊东 女, 1978年12月出生于黑龙江省哈尔滨市, 现为南京航空航天大学核科学与技术系副教授, 硕士生导师, 主要研究方向为辐射风险评估与防护技术研究等。

E-mail: jundongfeng@nuaa.edu.cn