

На правах рукописи

Гиль Елизавета Викторовна

ПОВЕДЕНИЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЦНС КРЫС
ПОСЛЕ ПРЕБЫВАНИЯ
В МОДЕЛИРУЕМЫХ ГИПОГЕОМАГНИТНЫХ УСЛОВИЯХ

03.03.01 – Физиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Томск – 2014

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет», на кафедре физиологии человека и животных института биологии, экологии, почвоведения, сельского и лесного хозяйства (биологический институт) и в отделе физиологии Научно-исследовательского института биологии и биофизики.

Научный руководитель: доктор биологических наук, доцент
Ходанович Марина Юрьевна

Официальные оппоненты:

Ласукова Татьяна Викторовна, доктор биологических наук, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Томский государственный педагогический университет», кафедра медико-биологических дисциплин, профессор

Герлинская Людмила Алексеевна, доктор биологических наук, федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, лаборатория молекулярных биотехнологий, ведущий научный сотрудник

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук, г. Москва

Защита состоится 29 декабря в 10:00 часов 2014 г. на заседании диссертационного совета Д 212.267.10, созданного на базе федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет», по адресу: 634050, г. Томск, пр. Ленина, 36 (корпус НИИ ББ).

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке и на официальном сайте федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет» www.tsu.ru.

Автореферат разослан «___» сентября 2014 года.

Материалы по защите диссертации размещены на официальном сайте ТГУ: http://www.tsu.ru/content/news/announcement_of_the_dissertation_in_the_tsu.php

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук



Е.Ю. Просекина

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ

МП	–	Магнитное поле
ГГМУ	–	Гипогеомагнитные условия
ГМП	–	Геомагнитное поле
Гц	–	Герц
Тл	–	Тесла
ЭЭГ	–	Электроэнцефалограмма
ЦНС	–	Центральная нервная система
УРПИ	–	Условный рефлекс пассивного избегания

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы.

Многочисленные исследования дают основания считать, что естественный электромагнитный фон окружающей среды обитания является необходимым эволюционно сложившимся условием для нормальной жизнедеятельности биологических систем (Быстрова Е.Ю., 2009; Григорьев Ю.Г., 1995; Дубров А.П., 1974; Колесник А.Г., 2009; Копанев В.И., 1979). Основываясь на этом, можно предположить, что длительное систематическое пребывание в условиях изоляции от магнитного поля Земли может оказать негативное воздействие на человека.

В современном мире огромное количество людей вынуждено длительное время находиться в среде ослабленного магнитного поля Земли (от 8 часов в сутки и больше). Выявлены жилые, офисные, общественные помещения, экранированные сооружения, в радиотехнической, радиоэлектронной промышленности, в которых наблюдается гипогеомагнитные условия (Розов В.Ю., 2013; Походзей Л.В., 2007).

Исследования состояния организма в условиях гипомагнитной среды особенно актуальны в связи с планируемыми полётами на Марс и Луну.

Литературные данные свидетельствуют о негативном влиянии гипогеомагнитных условий (ГГМУ) на организм животных (Холодов Ю.А., 1992; Nepomnyashchiida L.M., 1997; Trofimov V., 2008).

Системные исследования по изучению эффектов длительного (в течение нескольких суток) непрерывного нахождения экспериментальных животных в ГГМУ, а также исследования механизмов воздействия этого фактора представлены единичными работами. В то же время такие исследования необходимы для разработки мер по адаптации организма к ГГМУ, а также для нормирования среды жизнедеятельности человека. В настоящей работе исследовано воздействие гипогеомагнитной среды на центральную нервную систему как одну из наиболее важных систем в функционировании организма, а также на поведение как интегральный показатель его состояния.

Цель работы: изучить влияние пребывания в моделируемых гипогеомагнитных условиях в течение периодов времени 5, 10 и 21 сутки на поведение и функциональное состояние ЦНС крыс.

Задачи:

1. Изучить влияние среды ослабленного геомагнитного поля на общую двигательную активность, поведение в тесте «открытое поле» и агрессивность крыс.
2. Изучить воздействие гипогеомагнитных условий на память и обучение крыс с помощью метода формирования условного рефлекса пассивного избегания.
3. Изучить влияние среды ослабленного геомагнитного поля на биоэлектрическую активность мозга крыс, общую нейрональную активацию структур мозга и активацию опиоидергической системы.
4. Проанализировать зависимость изменений поведения и функционального состояния ЦНС у лабораторных крыс от длительности воздействия гипогеомагнитных условий.

Гипотеза исследования:

Нахождение организма в среде ослабленного магнитного поля Земли приводит к различным биологическим эффектам на молекулярном и клеточном уровнях, в том числе и повышению порога потенциала действия. Мы предположили, что повышение порога потенциала действия приводит к снижению частоты импульсации и общего тонуса ЦНС, а также к уменьшению активности на поведенческом уровне. При длительном ослаблении геомагнитного поля урежение импульсации по механизму положительной обратной связи должно вызывать снижение количества воспринимающих рецепторов, следовательно, степень отрицательного воздействия должна усилиться.

Научная новизна исследования:

Впервые показано, что длительное пребывание в условиях ослабленного магнитного поля Земли оказывает угнетающее действие на ЦНС, что выражается в снижении абсолютных мощностей ритмов ЭЭГ, снижении экспрессии белков раннего ответа *c-fos* во фронтальной коре, околопроводном сером веществе, таламусе, верхних буграх четверохолмия, а так же в уменьшении общей двигательной активности крыс.

Впервые показано, что под действием условий ослабленного геомагнитного поля происходит снижение доли активных клеток, содержащих μ -опиоидные рецепторы, во фронтальной коре, в таламусе, в околопроводном сером веществе и в верхних буграх четверохолмия. Выявлено повышение агрессивности при многосуточной экспозиции в гипогеомагнитных условиях. Впервые показано, что при увеличении времени непрерывного нахождения в гипогеомагнитных условиях происходит нарастание негативных изменений поведения и ЦНС.

Научно-практическое значение работы:

Выявлены новые аспекты воздействия среды ослабленного геомагнитного поля на поведение и функциональное состояние ЦНС млекопитающих (уменьшение общей двигательной активности крыс, снижение активности нейронов, снижение абсолютных мощностей основных ритмов ЭЭГ, снижение доли активных клеток, содержащих μ -опиоидные рецепторы).

Результаты работы вносят вклад в понимание механизмов влияния многосуточного нахождения в условиях ослабленного магнитного поля Земли на поведение и функциональное состояние ЦНС млекопитающих.

Полученные результаты будут полезны при нормировании среды жизнедеятельности человека, а также при планировании длительных полётов в космическом пространстве, на Марс и Луну.

Положения, выносимые на защиту:

Многосуточное (5-21 сутки) нахождение в среде магнитного поля с напряженностью в 1000 раз меньше напряженности естественного геомагнитного поля оказывает угнетающее действие на тонус ЦНС, что выражается в снижении двигательной активности, абсолютных мощностей ритмов ЭЭГ и уровня нейрональной активации, а также приводит к снижению антиноцицептивного ответа и повышению агрессивности. С увеличением времени пребывания в условиях ослабленного геомагнитного поля эффекты угнетающего воздействия гипогеомагнитных условиях усиливаются.

Апробация работы:

Материалы диссертации были доложены и обсуждены на ряде научных конференций:

Научная студенческая конференция Биологического института «Старт в науку». г. Томск, 2008 г. «Влияние гипомагнитного поля на поведение млекопитающих»; 2009 «Суточная динамика двигательной активности и агрессивного поведения крыс в условиях длительного снижения уровня геомагнитного поля»; 2011 «Влияние хронического снижения уровня геомагнитного поля на центральную нервную систему»;

Международная научная студенческая конференция «Студент и научно-технический прогресс», посвящённая 50-летию НГУ. 11-15 апреля 2009 г., г. Новосибирск, «Влияние гипомагнитной среды на поведение млекопитающих»;

Международная научно-практическая конференция Экология. Риск. Безопасность. Курган, 20-21 октября 2010 г., «Автоматическое измерение двигательной активности лабораторных крыс»;

Космический форум 2011, посвященный 50-летию полета в космос Ю.А. Гагарина. 18-21 октября 2011. М.: ИМБП РАН, 2011, «Поведенческие реакции, способность к выработке условных рефлексов и физиологическое состояние у крыс при компенсации магнитного поля Земли»;

Космический форум 2011, посвященный 50-летию полета в космос Ю.А. Гагарина. 18-21 октября 2011. М.: ИМБП РАН, 2011, «Влияние хронического снижения уровня геомагнитного поля на центральную нервную систему крыс»;

Международный Междисциплинарный конгресс НЕЙРОНАУКА ДЛЯ МЕДИЦИНЫ И ПСИХОЛОГИИ. Судак, Крым, Украина, 2-12 июня 2012 г. «Влияние ослабленной геомагнитной среды на высшую нервную деятельность лабораторных крыс в условиях хронического эксперимента. The effect of magnetic field deprivation on the higher nervous activity in rats in a long-term experiment»

Международная молодежная научная школа «Организация познавательной деятельности и функциональных систем мозга на разных этапах развития» в рамках фестиваля науки» г. Томск, 17–18 сентября 2012 года, «Влияние снижения уровня магнитного поля Земли на биоэлектрическую активность мозга высших млекопитающих»).

Публикации:

Основные научные результаты по теме диссертации опубликованы в 13 печатных работах, в том числе в 3 статьях в рецензируемых научных журналах и изданиях, рекомендованных ВАК.

Структура работы:

Диссертация изложена на 128 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов, обсуждения, заключения, выводов, списка использованной литературы и приложения. Работа проиллюстрирована 34 рисунками и содержит 5 таблиц. Список использованной литературы содержит 65 отечественных и 114 зарубежных первоисточников.

Автор благодарит д.т.н. Труханова К.А. и д.б.н. Кривову Н.А. за обоснование и организацию проведения эксперимента, являющегося частью комплексных исследований влияния гипогеомагнитных условий на позвоночных животных, выполняемых в соответствии с Соглашением между Государственным научным Центром Российской Федерации Институтом медико-биологических проблем Российской академии наук и Научно-исследовательским институтом биологии и биофизики Национального исследовательского Томского государственного университета.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объект исследования

Объектами исследования были выбраны половозрелые крысы-самцы Вистар с исходной массой тела 180–200 г. аутбредного стока. Общий объем выборки составил 72 крысы (по 24 крысы в каждой серии). Всего было проведено 3 серии экспериментов: 5, 10 и 21 сутки экспозиции в ГГМУ. Животных содержали на стандартном пищевом рационе вивария, при свободном доступе к воде и пище, в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей. Перед началом исследования животные содержались на карантине в течение не менее 7 суток в условиях естественного освещения (экспозиция в течение 10 суток) либо при световом режиме 12/12 (экспозиция в течение 21 суток и 5 суток).

Схема эксперимента

После периода адаптации было проведено тестирование методом «открытого поля», для того чтобы отобрать в эксперимент животных со средней двигательной активностью с целью увеличения гомогенности групп. Затем крыс случайным образом разбили на опытную (n=12) и контрольную (n=12) группы. Опытную группу помещали в ГГМУ, контрольная группа животных находилась в естественном геомагнитном поле (ГМП). В течение этого времени

внутри установки ГГМУ поддерживался сниженный до 0 ± 50 нТл уровень магнитного поля.

В течение эксперимента животные имели свободный доступ к воде и к пище. За животными велась видеосъёмка, с помощью сетевых камер Axis Q215, Axis P1344. Видеосъёмка включала ночное время (видеосъёмка в инфракрасном свете).

После хронического эксперимента во всех сериях крыс вторично протестировали методом «открытого поля». Затем были проанализированы круглосуточные видеозаписи экспериментов с целью анализа двигательной активности и агрессивного поведения животных.

В 10-суточном эксперименте проводили исследования:

- тест «открытое поле»;
- исследование двигательной активности визуальным способом;
- исследование агрессивного поведения.

В 21-суточном эксперименте проводили исследования:

- тест «открытое поле»;
- исследование двигательной активности;
- исследование агрессивного поведения;
- регистрация электроэнцефалограммы;
- иммуногистохимический анализ структур мозга;
- выработка условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ).

В 5-суточном эксперименте проводили исследования:

- тест «открытое поле»;
- исследование двигательной активности;
- исследование агрессивного поведения;
- регистрация электроэнцефалограммы;
- иммуногистохимический анализ структур мозга.

Создание условий ослабленного магнитного поля Земли

В работе моделировались гипогомагнитные условия с помощью специальной камеры, которая состояла из клетки для животных и соленоидов для компенсации магнитной индукции горизонтальной и вертикальной составляющих Земли (колец Гельмгольца). Внутри и снаружи установки находились два магнитометра, подключённых к компьютеру. Компьютерная программа, контролирующая токи соленоидов, в автоматическом режиме сравнивала показатели датчиков и автоматически компенсировала электромагнитное поле внутри камеры до нуля, показания датчиков сохранялись в файл для контроля компенсации ГМП.

Метод исследования поведения крыс в «открытом поле».

Крысу помещали в центр ярко освещенной камеры («открытое поле»). В течение пяти минут наблюдали за поведением животного, фиксируя следующие поведенческие акты:

- горизонтальная активность (число пересеченных квадратов);
- вертикальная активность (число стоек) ;
- эмоциональность (количество дефекаций и уринаций);
- норковые реакции (число заглядываний в норку);
- груминг (число актов груминга);
- латентный период выхода из центрального квадрата.

Тестирование проводилось в течение одного дня до и в течение одного дня после экспозиции в ГГМУ, с 10 до 12 часов утра. (Буреш Я., 1991).

Методы выработки у крыс условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ). Выработку УРПИ проводили по методике, описанной Я. Буреша (Буреш Я., 1991).

Тестирование выполнялось в три стадии.

1. Исследование. Животное помещали в центр большого отсека камеры выработки УРПИ. Крысе разрешали исследовать установку в течение 3 минут. Измеряли время входа в небольшую камеру.

2. Обучение. Крысу помещали в малый отсек камеры и подавали удар тока (50 Гц, 1.5 мА, 50 В, 1 с). Затем крысу возвращали в домашнюю клетку.

2. Тестирование. Повторяли (1), регистрировали то же, что и в (1).

Тестирование проводили за два дня до помещения животных в ГГМУ.

Методы исследования агрессивного поведения. Под агрессивным поведением понималось нападение одного животного на другого с нанесением укусов. Число агрессивных взаимодействий в каждой серии экспериментов подсчитывалось путем просмотра круглосуточной видеозаписи всего эксперимента. В 10-суточной серии просматривали 5 минут начала каждого второго часа (0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 часа). В 21-суточной серии просматривали полностью каждый третий час и дополнительно часы смены освещения, т.е. на каждые сутки было получено 10 временных точек (0, 3, 6, 8, 9, 12, 15, 18, 20, 21 час). В 5-суточной серии просматривали каждый третий час, т.е. на каждые сутки было получено 8 временных точек (0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 час). Изменение способа подсчета агрессивных взаимодействий в каждой серии экспериментов (смена выбранных часов просмотра, подсчет 5 минут или

всего часа) связано с усовершенствованием методики по исследованию влияния ГГМУ на агрессивное поведение животных.

Методы исследования общей двигательной активности крыс

Общую двигательную активность животных при экспозиции в ГГМУ в течение 10 суток оценивали визуально. При визуальном анализе просматривали круглосуточную видеозапись эксперимента по 5 минут каждые 2 часа (0, 2, 4...22 часа), фиксируя следующие показатели:

- Число бодрствующих и спящих крыс;
- Количество межиндивидуальных взаимодействий;
- Горизонтальная активность (количество перемещений по клетке);

Вертикальная активность.

Сумма показателей горизонтальной и вертикальной активности составляла общую двигательную активность.

В 5-суточной и в 21-суточной сериях общую двигательную активность оценивали автоматически с помощью разработанной сотрудниками ТГУ программы «Mouse Express». Оценка двигательной активности с помощью программы «Mouse Express» основана на принципе покадровой оценки изменения видеоизображения. Программа автоматически оценивает суммарное количество движения в единицу времени в условных единицах. По соседним видеокадрам определяются вектора движения для макроблоков размерами 16×16 пикселей. Сумма длин векторов движения рассматривается как интегральная двигательная активность крыс в текущем кадре.

Для анализа адекватности работы программы «Mouse Express» был проведен ряд дополнительных экспериментов, направленных на проверку работы программы в зависимости от освещения, количества исследуемых животных, а также от параметров видеосъемки. Для чего двигательную активность одних и тех же животных тестировали методом открытого поля и программой «Mouse Express» и сопоставляли полученные результаты. Было установлено, что программа «Mouse Express» показывает высокий уровень корреляции с горизонтальной активностью в тесте «открытое поле», независимо от освещения ($R > 0.9$) и количества животных ($R > 0.8$), что позволило в дальнейшем использовать программу для корректной оценки двигательной активности.

Метод исследования биоэлектрической активности мозга (ЭЭГ). Для регистрации ЭЭГ с помощью подкожных игольчатых электродов крысу фиксировали в руках исследователя. Использовали следующие электроды:

1) два регистрирующих игольчатых электрода вводили подкожно в теменной части головы, в области левого и правого полушария;

2) референтный электрод вводили подкожно в области носовой кости;

3) в качестве земляного и дополнительного использовали серебряные клипсовые мини-электроды и электродный гель «Унигель», земляной электрод фиксировали на левой передней лапе, дополнительный электрод – на правой задней лапе животного. Дополнительный электрод применялся для контроля артефактов, связанных с работой сердца.

ЭЭГ регистрировали монополярно при помощи 24-канального электроэнцефалографа «Энцефалан-131-03» («Медиком МТД», Таганрог) в частотном диапазоне от 0.16 до 70 Гц. Частота дискретизации составила 250 Гц. Применялся запирающий фильтр, вырезающий 50 Гц колебания, связанные с сетевой наводкой.

Регистрировали ЭЭГ в трех режимах:

1) фоновая проба 1 в течение 30 с;

2) звуковая стимуляция: частые стандартные (1000 Гц, 80 дБ) и редкие девиантные (500 Гц, 80 дБ) стимулы с вероятностью предъявления 80 и 20 %, межстимульный интервал 700 мс со случайной девиацией ± 10 %, всего 100 стимулов;

3) фоновая проба 2 в течение 30 с.

Звуковой стимулятор располагался на расстоянии 20 см от головы крысы с правой стороны. ЭЭГ была исследована в диапазонах: дельта (0.5–4 Гц), тета (4–8 Гц), альфа (8–13 Гц), бета (13–24 Гц), гамма1 (25–49 Гц), гамма2 (51–70 Гц).

Методы оценки параметров нейрональной активации различных структур мозга с помощью иммуногистохимических методов. Для выявления механизмов влияния ГГМУ на агрессивность был проведен иммуногистохимический анализ срезов мозга крыс в 5-суточной и в 21-суточной сериях, включающий двойное иммуноокрашивание. Поскольку опиоидергическая система имеет непосредственное отношение к болевой чувствительности и селективные агонисты для μ -рецепторов вызывают обезболивание (Waldhoer M., 2004), было предположено, что именно изменение болевого порога при воздействии гипогеомагнитной среды является причиной агрессивного поведения животных (Bruehl S., 2002; Cholieris E., 2002; Del Seppia C., 2007). В качестве структур мозга были проанализированы: фронтальная кора, верхние бугры четверохолмия, таламус и серое околотоводное вещество. Фронтальная кора, как показано в литературе, имеет отношение к агрессивному поведению (Halász J., 2006), таламус и околотоводное

ное серое вещество – к болевой чувствительности (Одинак М.М., 2009), в то же время эти структуры, наряду с серым околосводопродным веществом, содержат значительное количество клеток, содержащих μ -опиоидные рецепторы (Stein С., 2003). Верхние бугры четверохолмия, как показано в работах (Nemes P, 2001, 2005), характеризуются изменением экспрессии белков раннего ответа под влиянием измененного ГМП.

В качестве первичных антител использовали антитела к белкам c-fos (sc-52, rabbit, фирма Santa Cruz Biotechnology (США)) и антитела к μ -опиоидным рецепторам (sc-27072, goat, фирма Santa Cruz Biotechnology (США)), которые затем визуализировали с помощью вторичных антител с флюорохромами с разным спектром эмиссии, для c-fos – Alexa Fluor® 488, A-21206, donkey anti-rabbit (фирма Jackson ImmunoResearch Labourite (Великобритания)) и для μ -опиоидным рецепторам – Texas Red sc-2783, donkey anti-goat (фирма Santa Cruz Biotechnology (США)).

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью пакета прикладных программ «Statistica 6.0». Агрессивное поведение и общую двигательную активность исследовали с помощью непараметрического критерия парных сравнений Вилкоксона и дисперсионного анализа (ANOVA); результаты тестирования в «открытом поле», ЭЭГ и методики выработки УРПИ анализировали с помощью непараметрического критерия парных сравнений Вилкоксона и критерия Манна-Уитни. Статистическая обработка адекватности работы программы «Mouse Express» проводилась с помощью регрессионного анализа. Для оценки нейрональной активности использовался непараметрический критерий Манна-Уитни. Различия считались статистически значимыми при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Общее состояние животных в течение хронического эксперимента. В течение трёх серий экспериментов все животные были в хорошем состоянии: шерсть у них была сухая, белая, несвалявшаяся, аппетит хороший, потребление воды и корма во всех группах было одинаковым. Крысы (опытные и контрольные) прибавили в весе, что является нормой для возраста 10-12 недель. Значимых различий по весу между опытными и контрольными группами не наблюдалось.

Результаты исследования поведения в тесте «открытое поле».

В 10-суточной и в 21-суточной сериях результаты теста «открытого поля» показали статистически достоверное уменьшение двигательной активности (горизонтальная, вертикальная, общая дви-

гательная активность) для контрольной и опытной групп после повторного тестирования. Такое изменение структуры поведения при повторном предъявлении теста является нормой для крыс и свидетельствует о привыкании и снижении стрессорной нагрузки (Буреш Я., 1991).

В 5-суточной серии не было выявлено статистически значимых различий по всем показателям.

Различий между опытной и контрольной группами по показателям «открытого поля» как до, так и после опыта, не было обнаружено во всех трёх сериях экспериментов. Таким образом, экспозиция в ГГМУ не влияет на поведение крыс в «открытом поле».

Исследование общей двигательной активности крыс.

Визуальный метод исследования (по 5 минут в начале каждого второго часа) при экспозиции в течение 10 суток не выявил ясной картины влияния ГГМУ на общую двигательную активность крыс.

Исследование общей двигательной активности крыс с помощью автоматизированного способа выявило статистически значимое снижение показателей общей двигательной активности в суточной динамике и среднесуточных значений в ходе эксперимента при экспозиции в 5-суточной и в 21-суточной сериях (рис.1). Дисперсионный анализ выявил влияние фактора группы (нахождения в ГГМУ) на двигательную активность в 21-суточной серии ($F(1, 552)=27.017, p=.00000$) и в 5-суточной серии ($F(1, 138)=21.866, p=.00001$). Более существенным снижением двигательной активности является для 21-суточного эксперимента.

Таким образом, многосуточное нахождение в ГГМУ приводит к снижению общей двигательной активности животных. При увеличении длительности экспозиции снижение общей двигательной активности усиливается.

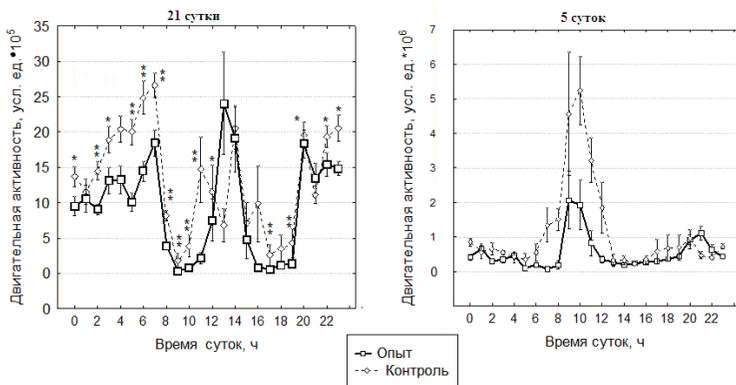


Рис.1 - Суточная динамика двигательной активности крыс опытной и контрольной группы в 21-суточной и в 5-суточной сериях (* - $p<0.05$, ** - $p<0.01$, критерий Вилкоксона)

Влияние ослабленного магнитного поля Земли на биоэлектрическую активность мозга. Выявлено статистически значимое понижение абсолютных мощностей ритмов ЭЭГ в диапазонах альфа, тета, бета и гамма1 у опытной группы по сравнению с контрольной группой животных в правом полушарии после 21 суточной экспозиции в ГГМУ. Подобные изменения (статистически незначимые) характерны и для левого полушария опытных крыс. В целом для опытной группы животных характерно уменьшение абсолютных мощностей ритмов по сравнению с контрольной группой животных (рис.2).

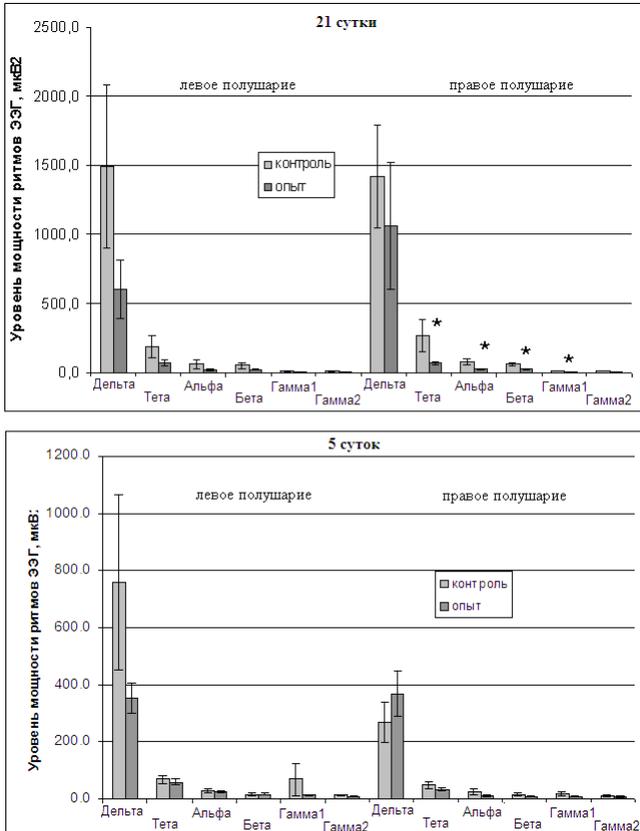


Рис.2 – Различия абсолютных значений спектра мощности основных ритмов ЭЭГ в режиме стимуляции в правом и левом полушариях между опытной и контрольной группами (* – критерий Манна-Уитни, $p < 0.05$)

В этой же серии для контрольной группы было выявлено значимое увеличение мощностей ритмов в диапазонах тета, альфа и гамма2 в правом полушарии и в диапазоне гамма2 в левом полушарии после экспозиции в ГГМУ по сравнению с исходными значениями. В опытной группе наблюдается противоположные изменения, а именно, уменьшение абсолютных мощностей ритмов ЭЭГ в диапазонах тета, альфа, бета (критерий Вилкоксона, $p < 0.05$) в правом полушарии и в диапазоне альфа в левом полушарии после экспозиции в ГГМУ по сравнению с исходными значениями.

В серии с экспозицией в ГГМУ в течение 5 суток статистический анализ не выявил различий в абсолютных значениях мощностей основных ритмов ЭЭГ между опытной и контрольной группой.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что воздействие ГГМУ в течение 5 суток не влияет на биоэлектрическую активность мозга. При увеличении длительности пребывания в ГГМУ до 21 суток происходит снижение абсолютных мощностей ритмов ЭЭГ.

Влияние ГГМУ на сохранность памятного следа в тесте на выработку условного рефлекса пассивного избегания. Было установлено, что экспозиция в ГГМУ в течение 21 суток не влияет на показатели теста УРПИ.

Таким образом, экспозиция в ГГМУ в течение 21 суток не влияет на память и обучение крыс.

Влияние ГГМУ на параметры нейрональной активации различных структур мозга. Для серии с экспозицией в ГГМУ в течение 5 суток было обнаружено снижение уровня нейрональной активации по экспрессии белков раннего ответа c-fos в опытной группе в сравнении с контрольной группой во фронтальной коре, таламусе и околопроводном сером веществе. Достоверные различия получены для фронтальной коры и таламуса. Для серии с экспозицией в ГГМУ в течение 21 суток было выявлено снижение уровня нейрональной активации по экспрессии белков раннего ответа c-fos, значимое для таламуса (критерий Манна-Уитни).

Влияние ГГМУ на опиоидную систему. Для 21-суточной серии анализ результатов показал снижение у опытных животных количества клеток, содержащих μ -опиоидные рецепторы. В околопроводном сером веществе и в таламусе было обнаружено статистически достоверные отличия от контрольной группы. В верхних буграх четверохолмия опытных животных выявлена тенденция к снижению количества клеток с μ -опиоидными рецепторами ($p=0.058$, критерий Манна-Уитни).

Для серии с экспозицией в ГГМУ в течение 5 суток не обнаружено значимых различий между контрольной и опытными группами крыс по количеству клеток, содержащих μ -опиоидные рецепторы. Выявлена тенденция к снижению доли клеток, содержащих μ -опиоидные рецепторы, в околопроводном веществе ($p=0.092$, критерий Манна-Уитни). В опытной группе средняя доля клеток составила 0.08 ± 0.01 , в контрольной группе 0.10 ± 0.01 .

Анализ активации нейронов опиоидергической системы (локализация двойной метки к белкам c-fos и μ -опиоидным рецепторам) показал, что при экспозиции в ГГМУ в течение 21 суток происхо-

дит статистически достоверное снижение количества активных клеток, содержащих μ -опиоидные рецепторы, во всех исследуемых структурах мозга (критерий Манна-Уитни) (рис.3).

При экспозиции в ГГМУ в течение 5 суток средние значения содержания активных клеток с μ -опиоидными рецепторами в опытной группе, в целом, ниже, чем в контрольной, во фронтальной коре, в околопроводном сером веществе и в таламусе, однако значимых различий между контрольной и опытными группами крыс по этому показателю не наблюдается.

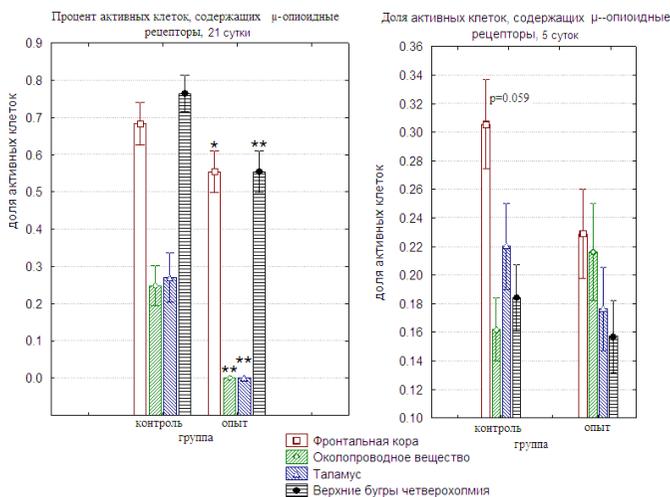


Рис.3 – Доля активных клеток, содержащих μ -опиоидные рецепторы, в различных структурах мозга для опытной и контрольной группы крыс, 21-суточная и 5-суточная серия (** – $p < 0.001$, * – $p < 0.05$, критерий Манна-Уитни)

Таким образом, под действием среды ослабленного геомагнитного поля в течение 21 суток происходит снижение доли активных клеток, содержащих μ -опиоидные рецепторы, во всех исследуемых структурах мозга.

Влияние ГГМУ на агрессивность крыс. Анализ агрессивного поведения крыс показал, что 5 суточное воздействие ГГМУ не влияет на агрессию животных. При увеличении длительности экспозиции до 10 суток происходит увеличение количества агрессивных взаимодействий. Дисперсионный анализ выявил влияние фактора воздействия ГГМУ на суточную динамику агрессивных взаимодействий ($F(1, 206) = 10.790$, $p = .00120$) и на динамику агрессивных вза-

имодействие в ходе 10 суток $F(1, 208)=10.522, p=.00137$). Увеличение длительности нахождения в гипогеомагнитных условиях до 21 суток приводит к уменьшению агрессивного поведения по сравнению с показателями 10-суточного пребывания. При этом в опытной группе сохраняется тенденция к повышению агрессивности по сравнению с контрольной группой. В опытной группе выявлено статистически значимое повышение агрессивности в 18 часов (критерий Вилкоксона). Возможно, это связано с тем, что при экспозиции в 21 суток у животных происходит адаптация к условиям гипогеомагнитной среды (рис.4).

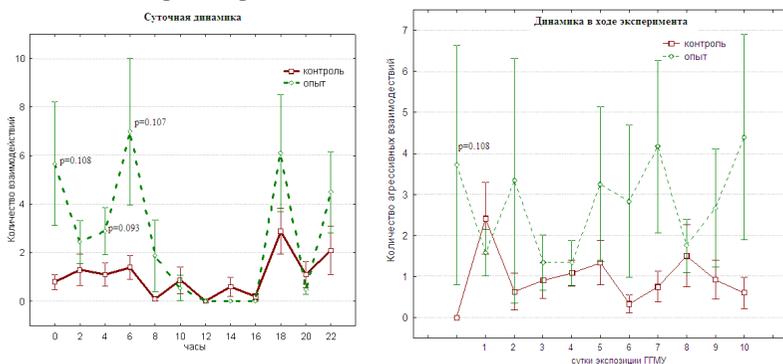


Рис.4 – Суточная динамика и динамика межиндивидуальных взаимодействий в течение 10-суточной серии (критерий Вилкоксона)

Сопоставление результатов трёх серий экспериментов показало, что при увеличении времени воздействия ГГМУ происходит усиление негативных изменений в организме. Так при 5-суточной экспозиции в ГГМУ у животных выявлено снижение общей двигательной активности, снижение нейрональной активности. При этом пребывание в среде ослабленного магнитного поля Земли не влияет на агрессивное поведение и биоэлектрическую активность мозга. При увеличении длительности экспозиции в ГГМУ до 10 суток происходит повышение агрессивности животных. При увеличении продолжительности пребывания в ГГМУ до 21 суток происходит усиление снижения общей двигательной активности животных, снижение мощности ритмов ЭЭГ, снижение активности клеток, содержащих μ - опиоидные рецепторы, повышение агрессивности. При этом агрессивное поведение становится менее выражено по сравнению с показателями агрессивного поведения в 10-суточной экспозиции. Возможно, это связано с тем, что при экспозиции в 21

суток у животных происходит адаптация к условиям гипогеомагнитной среды

Полученные результаты согласуются с литературными данными, в которых утверждается, что степень отрицательного воздействия магнитного поля на живой организм, прямо пропорциональна длительности его пребывания в экранированном помещении и коэффициенту ослабления магнитного поля (Любимов В.В., 2004).

На основе литературных данных нами была выдвинута гипотеза о возможном механизме действия гипогеомагнитных условий на ЦНС крыс, которая объясняет полученные результаты, основываясь на предложенной Галль Л.Н. (Галль Л.Н., 2009) концепции о том, что все биологические системы на молекулярном уровне состоят из множества прилегающих друг к другу молекулярных ячеек. Биополимеры в молекулярной ячейке энергетически связаны между собой потоком энергии через водную (кристаллическую) субстанцию, что обеспечивает синхронность конформационных перестроек.

Нами было предложено, что МП Земли играет важную роль в процессе синхронизации передачи энергии между биополимерами через водную среду и, как следствие, в синхронизации конформационных перестроек биомолекул. Помещение организма в гипогеомагнитные условия вызывает нарушение передачи энергии между биополимерами, нарушает согласованность конформационных перестроек, что приводит к изменению реакционной способности молекул и биологическим последствиям, таким как увеличение порога потенциала действия (Новиков С.М., 2007).

Вследствие этого происходит снижение частоты импульсации (активности нейронов) в различных структурах мозга. Снижение активности нейронов приводит к снижению общего тонуса ЦНС, т.е. снижению абсолютных мощностей ритмов ЭЭГ и, на поведенческом уровне, к снижению активности животных. Снижение активности нейронов также приводит к снижению выброса медиатора в пресинаптическую щель и, как следствие, уменьшению активации рецепторов, в том числе опиоидных (Del Seppia C., 2000, 2002, 2007). Снижение активации опиоидных рецепторов приводит к повышению активности ноцицептивных рецепторов и передачи ноцицептивной информации, что вызывает повышение болевой чувствительности и может являться причиной повышения агрессивности (Bruehl S., 2002).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ автоматической обработки видеофайлов экспериментов показал, что под действием гипогеомагнитных условий происходит снижение общей двигательной активности животных. В тоже время, визуальный метод исследования (по 5 минут в начале каждого часа) оказался малочувствителен к влиянию среды ослабленного магнитного поля Земли на двигательную активность. Исследование поведения крыс методом «открытого поля» также не показало значимого воздействия гипогеомагнитных условий.

Установлено, что экспозиция в среде ослабленного геомагнитного поля в течение 5 суток не влияет на агрессивное поведение крыс. При увеличении длительности нахождения в гипогеомагнитных условиях до 10 суток происходит увеличение агрессивного поведения. При увеличении продолжительности экспозиции в гипогеомагнитных условиях до 21 суток агрессивное поведение становится менее выражено по сравнению показателями агрессивного поведения в 10-суточной экспозиции. При этом в опытной группе наблюдается тенденция к повышению агрессивности в сравнении с контролем. Возможно, это связано с тем, что при экспозиции в 21 суток у животных происходит адаптация к условиям гипогеомагнитной среды.

Результаты тестирования с помощью метода формирования условного рефлекса пассивного избегания показали, что пребывание в гипогеомагнитных условиях в течение 21 суток не влияет на память и обучения крыс.

Анализ влияния гипогеомагнитных условий на биоэлектрическую активность мозга крыс показали угнетающее действие среды ослабленного магнитного поля Земли. Полученные данные свидетельствуют о снижении уровня функциональной активации ЦНС в группе опытных животных.

Результаты исследования биоэлектрической активности мозга согласуются с результатом оценки уровня нейрональной активации мозга крыс, связанным с уменьшением активности нейронов.

Установлено, что под воздействием гипогеомагнитных условий в течение 21 суток происходит снижение доли активных клеток, содержащих μ -опиоидные рецепторы во фронтальной коре, в таламусе, в околопроводном сером веществе и в верхних буграх четверохолмия.

Было выявлено, что эффект воздействия среды ослабленного магнитного поля Земли зависит от времени экспозиции, при увеличении времени воздействия гипогеомагнитных условий происходит усиление негативных последствий в организме. Сначала изменения

происходят на молекулярном уровне (снижение активности нейронов), затем по прошествии нескольких суток снижается мощность ритмов ЭЭГ, снижается активность животных, снижается активность нейронов, содержащих μ -опиоидные рецепторы, что вызывает повышение болевой чувствительности, которое, возможно, является причиной повышения агрессивности.

ВЫВОДЫ

1. Экспозиция в гипогеомагнитных условиях в течение 5, 10 и 21 суток вызывает снижение общей двигательной активности и не влияет на поведение крыс в тесте «открытое поле». Пребывание в среде ослабленного магнитного поля Земли в течение 5 суток не влияет на агрессивное поведение. При увеличении экспозиции до 10 и 21 суток происходит повышение агрессивного поведения.
2. Экспозиция в гипогеомагнитных условиях в течение 21 суток не влияет на память крыс в тесте формирования условного рефлекса пассивного избегания.
3. Экспозиция в гипогеомагнитных условиях в течение 5 суток вызывает снижение уровня экспрессии белков раннего ответа *c-fos* во фронтальной коре, таламусе и верхних буграх четверохолмия.
4. Увеличение времени пребывания в среде ослабленного геомагнитного поля до 21 суток приводит к снижению абсолютных мощностей ритмов ЭЭГ и активности клеток, содержащих μ -опиоидные рецепторы, во фронтальной коре, околопроводном сером веществе, таламусе и верхних буграх четверохолмия.
5. Эффекты воздействия гипогеомагнитных условий на поведение и функциональное состояние ЦНС крыс зависят от длительности экспозиции. С увеличением времени пребывания в гипогеомагнитных условиях до 21 суток происходит усиление воздействия среды ослабленного магнитного поля Земли, связанное с дальнейшим снижением общей двигательной активности, абсолютных мощностей ритмов ЭЭГ, активации опиоидергической системы.

СПИСОК ОСНОВНЫХ ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи, опубликованные в журналах, которые включены в перечень российских рецензируемых научных журналов

1. Кривова Н.А., Ходанович М.Ю., Замощина Т.А., Зеленская А.Е., Гуль Е.В., Бондарцева Н.В. Влияние долговременного снижения уровня геомагнитного поля на биоэлектрическую активность мозга лабораторных крыс // Вестник Томского государственного университета. – 2011. – № 348. – С. 155-160. – 0.56/0.1 п.л.

2. Ходанович М.Ю., **Гуль Е.В.**, Зеленская А.Е., Пан Э.С., Кривова Н.А. Влияние долговременного ослабления геомагнитного поля на агрессивность лабораторных крыс и активацию опиоидергических нейронов // Вестник Томского государственного университета. Биология. – 2013. – № 1 (21). – С. 146-160. – 1.6/0.22 п.л.

3. Замощина Т.А., Кривова Н.А., Ходанович М.Ю., Труханов К.А., Тухватулин Р.Т., Заева О.Б., Зеленская А.Е., **Гуль Е.В.** Влияние моделируемых гипомагнитных условий дальнего космического полета на ритмическую организацию поведенческой активности крыс // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2012. – Т. 46. – № 1. – С. 17-23. – 0.69/0.1 п.л.

переводная версия:

Zamoschina T.A., Krivova N.A., Khodanovich M.Yu., Trukhanov K.A., Tukhvatulin R.T., Zaeva O.B., Zelenskaya A.E., **Gul E.V.** Influence of simulated hypomagnetic environment in a far space flight on the rhythmic structure of rat's behaviour // Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina. – 2012. – V. 46. – № 1. – P. 17-23. – 0.69/0.1 п.л.

Публикации в других научных изданиях:

4. **Гуль Е.В.** Влияние гипомагнитного поля на поведение млекопитающих // Материалы LVII научной студенческой конференции Биологического института «Старт в науку», г. Томск. 21-25 апреля 2008 г. – Томск, 2008. – С. 21-22. – 0.56 п.л.

5. **Гуль Е.В.** Влияние гипомагнитной среды на поведение млекопитающих // Материалы XLVII международной научной студенческой конференции «Студент и научно-технический прогресс», посвящённой 50-летию НГУ, г. Новосибирск, 11-15 апреля 2009 г. – Новосибирск, 2009. – С. 10. – 0.56 п.л.

6. **Гуль Е.В.** Суточная динамика двигательной активности и агрессивного поведения крыс в условиях длительного снижения уровня геомагнитного поля // Материалы LVIII научной студенческой конференции Биологического института «Старт в науку», г. Томск, 27-30 апреля 2009 г. – Томск, 2009. – С. 30-31. – 0.56 п.л.

7. Кривова Н.А., Тухватулин Р.Т., Ходанович М.Ю., Заева О.Б., Мизина Т.Ю., Замощина Т.А., Суханов Д.Я., **Гуль Е.В.**, Зеленская А.Е., Толбанова Л.О., Новикова Л.К. Особенности физиологических эффектов диоксида титана в наноразмерном состоянии // XXI Съезд Физиологического общества им. И.П. Павлова, Москва – Калуга, 19-25 сентября 2010 г. – Москва, 2010. – С. 313. – 0.16/0.06 п.л.

8. Зеленская А.Е., **Гуль Е.В.**, Суханов Д.Я., Ходанович М.Ю., Кривова Н.А. Автоматическое измерение двигательной активности лабораторных крыс // Экология. Риск. Безопасность: материалы меж-

дународной научно-практической конференции, г. Курган, 20-21 октября 2010 г. – Курган, 2010. – С. 135–136. – 0.16/0.06 п.л.

9. **Гуль Е.В.** Влияние хронического снижения уровня геомагнитного поля на центральную нервную систему // LX ежегодная научная студенческая конференция Биологического института Томского государственного университета «Старт в науку»: материалы докладов, г. Томск, 25-30 апреля 2011 г. – Томск, 2011. – С. 38-39. – 0.56 п.л.

10. Кривова Н.А., Труханов К.А., Ходанович М.Ю., Тухватулин Р.Т., Замощина Т.Ю., Заева О.Б., Зеленская А. Е., **Гуль Е.В.**, Карелина О.А. Поведенческие реакции, способность к выработке условных рефлексов и физиологическое состояние у крыс при компенсации магнитного поля Земли // Космический форум 2011, посвященный 50-летию полета в космос Ю.А. Гагарина: сборник материалов, г. Москва, 18-21 октября 2011 г. – М.: ИМБП РАН, 2011. – С. 178-179. – 0.16/0.02 п.л.

11. Кривова Н.А., Ходанович М.Ю., Зеленская А.Е., **Гуль Е.В.**, Бондарцева Н.В. Влияние хронического снижения уровня геомагнитного поля на центральную нервную систему крыс // Космический форум 2011, посвященный 50-летию полета в космос Ю.А. Гагарина: сборник материалов, г. Москва, 18-21 октября 2011 г. – М.: ИМБП РАН, 2011. – С. 242. – 0.16/0.01 п.л.

12. **Гуль Е.В.**, Микрюкова А.В., Влияние ослабленной геомагнитной среды на высшую нервную деятельность лабораторных крыс в условиях хронического эксперимента // Нейронаука для медицины и психологии: 8-й Международный междисциплинарный конгресс «НЕЙРОНАУКА ДЛЯ МЕДИЦИНЫ И ПСИХОЛОГИИ», г. Судак, Крым, Украина, 2-12 июня 2012 г.: труды / под ред. Лосевой Е.В., Логиновой Н.А. – М.:МАКС Пресс, 2012. – С. 144-145. – 0.16/0.12 п.л. (на русс. и англ. яз.)

13. **Гуль Е.В.** Влияние снижения уровня магнитного поля Земли на биоэлектрическую активность мозга высших млекопитающих // Сборник материалов Международной молодежной научной школы «Организация познавательной деятельности и функциональных систем мозга на разных этапах развития» в рамках фестиваля науки. г. Томск, 17–18 сентября 2012 г. – Томск, 2012. – С. 3-5. – 0.56 п.л. (на русс. и англ. языках)