

УДК 57 591.1, 57.024, 577.1

*А.В. КЕРЕЯ**, **, *М.А. БОЛЬШАКОВ**, **, *Т.А. ЗАМОЩИНА****, *И.Р. КНЯЗЕВА**, ***,
*О.П. КУТЕНКОВ**, *Ю.Н. СЕМЕНОВА***

ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ И МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ НА ВОЗДЕЙСТВИЕ НАНОСЕКУНДНОГО ИМПУЛЬСНО-ПЕРИОДИЧЕСКОГО МИКРОВОЛНОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ГОЛОВНОЙ МОЗГ

Исследовано влияние наносекундного импульсно периодического микроволнового излучения (ИПМИ) на головной мозг мышей. Установлено, что ежедневное однократное воздействие 4000 микроволновых импульсов на область головного мозга в течение 10 дней изменяет поведенческие и метаболические показатели лабораторных мышей, что может быть опосредовано влиянием ИПМИ на мозг. Эффекты зависят от частоты повторения импульсов.

Ключевые слова: микроволновое излучение, наносекундные импульсы, мозг мышей.

Введение

С появлением источников, генерирующих микроволновые излучения с импульсами наносекундной длительности, исследование биологических эффектов наносекундного ИПМИ приобрело значительный интерес и актуальность. Проведенные эксперименты позволили установить, что ИПМИ изменяет электропроводность суспензии гепатоцитов и митохондрий гепатоцитов мышей, влияет на уровень активных форм кислорода (АФК) с последующей окислительной модификацией липидов и белков, изменяет активность антиоксидантных ферментов митохондрий [1–3]. Это позволяет предполагать, что наносекундное ИПМИ может оказывать влияние и на нервную ткань, в том числе и на головной мозг и его деятельность.

Целью настоящей работы было исследовать поведенческие и метаболические показатели лабораторных мышей после локального облучения головного мозга наносекундным ИПМИ.

Материалы и методы

Работа выполнена на 40 инбредных белых мышках-самцах массой 25–30 г линии С57В1/6 из питомника ГУ НИИ фармакологии ТНЦ СО РАМН (г. Томск). Эксперименты проведены с соблюдением всех правил гуманного обращения с животными [4]. В ходе исследований область головы животного подвергалась в течение 10 дней ежедневному однократному воздействию ИПМИ (4000 импульсов за сеанс), с пиковой плотностью потока мощности (пППМ) 1500 Вт/см² и частотами повторения 6, 8, 13, 16 и 22 имп./с. Источником ИПМИ служил лабораторный генератор на основе магнетрона МИ-505 (несущая частота 10 ГГц, длительность импульсов 100 нс). Оценка интенсивности воздействия проводилась по методике, описанной в [5]. В эксперименте использовались облученные и ложнооблученные (ЛО) животные. Для локального воздействия на мозг тело мыши (кроме головы) покрывалось радиопоглощающим материалом. Длительность облучения варьировала от 3 до 20 минут в зависимости от частоты повторения импульсов. Эффекты воздействия ИПМИ на головной мозг животных оценивались по изменению поведенческой активности и масс внутренних органов. В эксперименте с помощью веб-камеры при уровне освещенности 180 лк фиксировались горизонтальная и вертикальная составляющие двигательной активности, норковая активность, интенсивность груминга и дефекации непосредственно перед началом облучения и после окончания воздействия. Анализ видеозаписей позволил количественно оценить все поведенческие реакции. Измерение массы печени, селезенки и эпидидимального жира производилось после завершения эксперимента на весах с точностью до 10 мг. На протяжении всего эксперимента измерялось количество потребленного корма и прирост массы тела животных. Для установления возможных связей между облученным головным мозгом и жировой тканью определялся уровень лептина и глюкозы в плазме крови с помощью иммуноферментного анализа (ELISA, тест-система «DRG», Германия; планшетный фотометр «Stat Fax 303 Plus» (США)) при длине волны 450 нм. Для каждой из фиксируемых реакций рассчитывалась средняя арифметическая величина показателя и её ошибка. Значимость различий между показателями облученных и ложнооблученных выборок определялась с помощью непараметрического U-критерия Манна – Уитни. Расчёты были

выполнены с использованием лицензионного пакета компьютерных программ Statsoft STATISTICA for Windows 6.0.

Результаты

Выполненные эксперименты показали, что ИПМИ меняет протекание ряда поведенческих реакций у облученных мышей. Облучение ИПМИ с частотами 6 и 22 имп./с вызывало снижение ориентировочно-исследовательского рефлекса, что характеризуется как норковая активность у мышей (рис. 1, *а*), а также уменьшение горизонтальной (общей двигательной) активности у мышей после воздействия с частотой 22 имп./с (рис. 1, *б*). После воздействия ИПМИ при всех частотах повторения импульсов, кроме 8 имп./с, наблюдалась либо активация пассивно-оборонительной составляющей поведения, либо/и ослабление активно-поисковой компоненты.

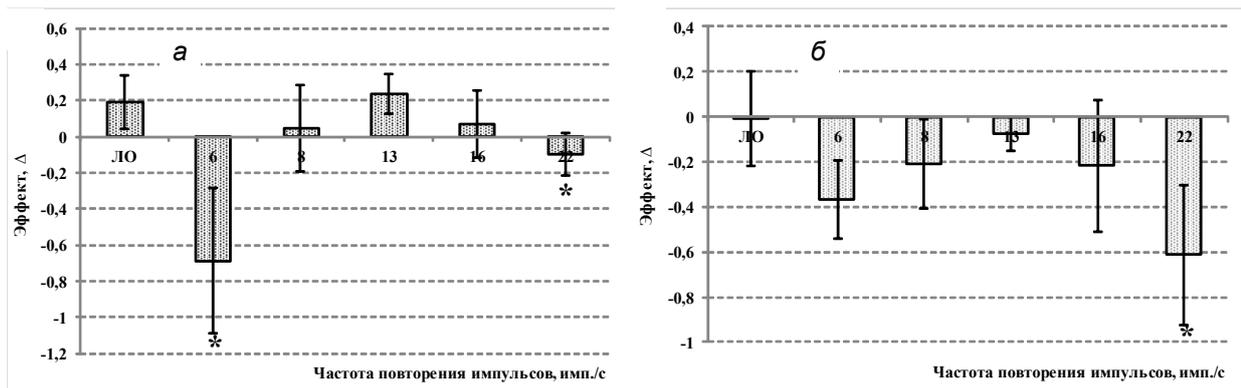


Рис. 1. Норковая (*а*) и горизонтальная (*б*) активности в «открытом поле» после облучения ИПМИ. Примечание: эффект изменения поведенческих активностей относительно их значения без облучения рассчитывался по формуле $(M_{\text{после}} - M_{\text{до}})/M_{\text{после}}$, где $M_{\text{после}}$ – средняя арифметическая величина соответствующего показателя после облучения животного, $M_{\text{до}}$ – средняя арифметическая величина соответствующего показателя у животного до облучения, * – различия статистически значимы по отношению к группе ЛО, $p \leq 0.05$.

После воздействия с частотой 6 имп./с наблюдалось увеличение интенсивности груминга (умываний, почесываний) (рис. 2, *а*) и количества дефекаций (рис. 2, *б*), в то время как при воздействии с частотой 22 имп./с интенсивность груминга не изменялась, а имело место только увеличение количества дефекаций (рис. 2, *б*).

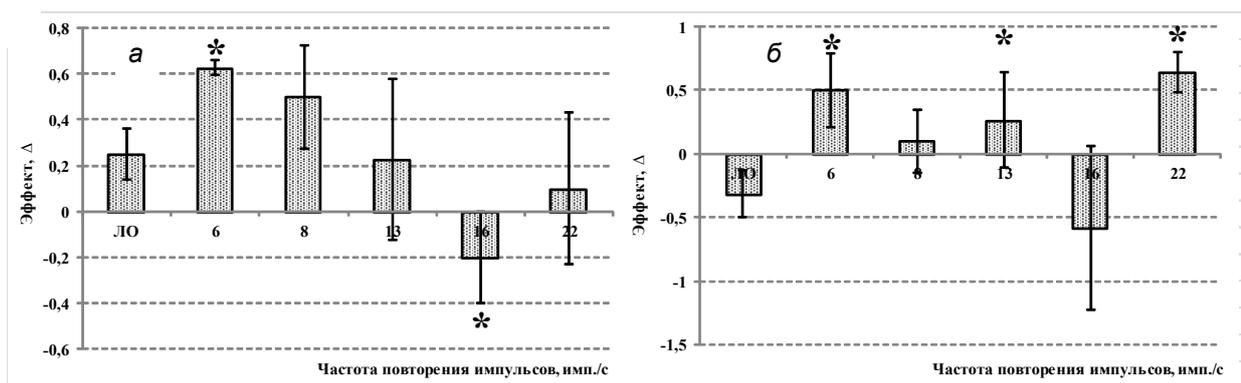


Рис. 2. Груминг (*а*) и количество дефекаций (*б*) после облучения ИПМИ. Примечание то же, что к рис. 1

Полученные результаты в целом свидетельствуют об активации у мышей пассивно-оборонительной компоненты поведения на фоне ослабления активно-поисковой составляющей. Наиболее четко это проявляется после воздействия с частотами 6 и 22 имп./с.

Кроме того, десятидневное облучение сопровождалось изменением потребления пищи животными, массы тела и внутренних органов. По завершении воздействий при всех частотах повторения импульсов было выявлено статистически значимое снижение потребления пищи облученными мышами относительно ЛО животных (рис. 3, *а*). На фоне этого массы эпидидимальной жи-

ровой ткани и селезенки у мышей остались неизменными (рис. 3, б). После облучения с частотой 8 имп./с было выявлено статистически значимое уменьшение прироста массы животных (рис. 4, а) при одновременном снижении массы печени (рис. 4, б) в сравнение с показателями у ЛО животных.

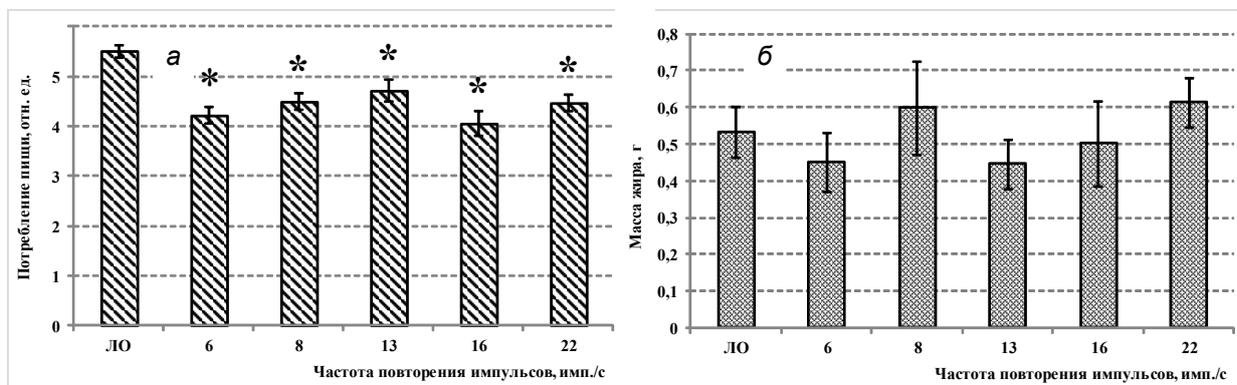


Рис. 3. Относительное потребление пищи (а) и масса эпидидимальной жировой ткани (б) после облучения ИПМИ.

Примечание: представлены среднearифметические значения показателя \pm ошибка среднего; * – различия статистически значимы по отношению к группе ЛО, $p \leq 0.05$.

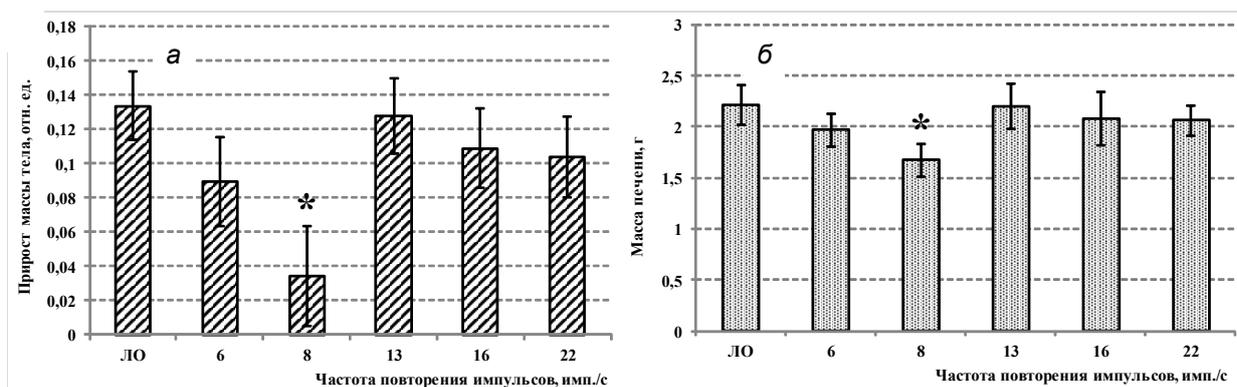


Рис. 4. Относительный прирост массы тела (а) и масса печени (б) мышей после облучения ИПМИ.

Примечание то же, что к рис. 3

Поскольку после облучения снизилось количество потребляемой пищи при неизменной массе эпидидимального жира, объективно появилась необходимость в определении гормона жировых клеток лептина, свободно циркулирующего в крови, и синтез которого определяется количеством потребляемой пищи. По современным представлениям, лептин участвует в нейроэндокринной регуляции. Гормон подает сигнал в гипоталамус через активацию специфического лептинового рецептора, тем самым участвуя в снижении аппетита и увеличении расходования энергетических субстратов [6]. При этом лептин имеет ЦНС-опосредованное влияние на метаболизм глюкозы и ее содержание в крови [7]. Учитывая это, были измерены концентрации лептина и глюкозы в плазме крови животных после облучения головного мозга (таблица).

Концентрации лептина и глюкозы в плазме крови после облучения ИПМИ
 (* – различия статистически значимы по отношению к группе ЛО, $p \leq 0.05$)

Режим воздействия	Концентрация лептина, нг/мл	Концентрация глюкозы, ммоль/л
ЛО	0.70 \pm 0.2	4.95 \pm 0.3
8 имп./с	4.65 \pm 1.9*	4.58 \pm 0.2
22 имп./с	5.44 \pm 2.7*	5.58 \pm 0.2

Оказалось, что облучение мозга приводит к статистически значимому увеличению концентрации лептина в плазме крови облученных животных. При этом концентрация глюкозы оказалась неизменной по отношению к группе ложного облучения. В совокупности это указывает на способность ИПМИ влиять на взаимодействие между мозгом и жировой тканью.

Заключение

Из полученных результатов следует, что после воздействия ИПМИ на мозг у животных развивается депрессивное состояние. Об этом свидетельствует активация пассивно-оборонительной компоненты при одновременном угнетении активно-поисковой. После воздействия с частотой повторения 8 имп./с отсутствуют значимые изменения поведения, что может быть результатом компенсации пассивно-оборонительной и активно-поисковой составляющих поведения. На фоне этого при той же частоте обнаруживаются минимальный прирост массы тела и уменьшение массы печени. По-видимому, это обусловлено тем, что ИПМИ прежде всего подавляет мотивационную составляющую поведения, например основополагающую пищевую доминанту. Это происходит либо за счет подавления центра голода, либо активации центра насыщения, что подтверждается уменьшением количества потребляемой пищи при всех частотах облучения у животных, хотя уровень глюкозы в крови поддерживается на неизменном уровне. По-видимому, глюкоза может извлекаться из внутренних резервов (из гликогена печени), на что указывает снижение массы этого органа, наиболее выраженное после облучения с частотой 8 имп./с. При этом масса тела также снижается после воздействия с частотой 8 имп./с при неизменяющейся массе жировой ткани. Вероятно, глюкоза из гликогена надежно обеспечивает липостат организма, поэтому в крови уровень гормона жировой ткани – лептина не уменьшается, как можно было ожидать, исходя из уменьшения потребляемой пищи, а остается повышенным. Причем этот эффект наблюдается как после воздействия с частотой 8 имп./с, так и с частотой 22 имп./с. По-видимому, после воздействия с частотой 8 имп./с достигается максимальная компенсация поведенческих и метаболических сдвигов, что проявляется в ослаблении депрессивно-подобного поведения животных. Нельзя исключить, что создавшаяся в организме метаболическая ситуация является результатом изменения взаимодействия гормонов с рецепторами нейронов в ядрах гипоталамуса. Это может быть за счет уменьшения лиган-рецепторов опосредованных реакций: изменения аффинности рецепторов к гормонам, обеспечивающим обратную связь между лептином, Y-пептидом центра голода и гормоном ЖКТ – грелином, либо уменьшения числа мембранных рецепторов нейронов гипоталамуса. Такие изменения рецепторных взаимодействий могут происходить в результате развития процессов ПОЛ [8], индуцированных воздействием ИПМИ. Таким образом, установлено, что значимые изменения поведения мышей происходят после облучения ИПМИ при всех частотах воздействия, кроме 8 имп./с. Воздействие на головной мозг мышей с частотой 8 имп./с наиболее эффективно влияет на массу органов и содержание гормонов в плазме крови.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Жаркова Л.П., Князева И.Р., Иванов В.В. и др. // Вестник ТГУ. – 2010. – № 333. – С. 161–163.
2. Rostov V.V., Bolshakov M.A., Buldakov M.A., et al. // Proceedings of the 17th IEEE International pulsed power conference. – Washington, 2009. – P. 216–219.
3. Knyazeva I.R., Bolshakov M.A., Ivanov V.V., et al. // Изв. вузов. Физика. – 2012. – Т. 55. – № 10/3. – С. 194–198.
4. Euro guide on the accommodation and care of animals used for experimental and other scientific purposes // FELASA. – 2007. – 17 p.
5. Klimov A.I., Kovalchuk O.V., Rostov V.V., Sinyakov A.N. // IEEE Transactions on Plasma Science. – 2008. – V. 36. – No. 6. – P. 1–4.
6. Schwartz M.W. // Engl. J. Med. – 1997. – V. 336. – P. 1802–18011.
7. Jenkins A.B., Markovic T.P. // Diabetologia. – 1997. – V. 40. – P. 348–351.
8. Philippova T.M., Novoselov V.I., Alekseev S.I. // Bioelectromagnetics. – 1994. – V. 15. – No. 3. – P. 183–192.

*Институт сильноточной электроники СО РАН, г. Томск, Россия

Поступила в редакцию 01.10.14.

**Национальный исследовательский Томский государственный университет,
г. Томск, Россия

***Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия
E-mail: congress2014@hcei.tsc.ru

Керя Анна Викторовна, инженер отдела физической электроники ИСЭ СО РАН, аспирантка НИ ТГУ;
Большаков Михаил Алексеевич, д.б.н., профессор НИ ТГУ, ст. науч. сотр. отдела физической электроники ИСЭ СО РАН;
Замощина Татьяна Алексеевна, д.б.н., профессор;
Князева Ирекле Рашидовна, к.б.н., ведущ. инженер отдела физической электроники ИСЭ СО РАН, доцент СибГМУ;
Кутенков Олег Петрович, ведущ. инженер электроник отдела физической электроники ИСЭ СО РАН;
Семенова Юлия Николаевна, магистрантка.

A.V. KEREYA, M.A. BOLSHAKOV, T.A. ZAMOSHCHINA, I.R. KNYAZEVA, O.P. KUTENKOV, Yu.N. SEMJONOVA

BEHAVIORAL AND METABOLIC RESPONSES OF LABORATORY MICE AFTER EXPOSURE THE BRAIN TO NANOSECOND REPETITIVE PULSED MICROWAVES

The effect of repetitive pulsed microwaves on mouse brains was investigated. Experiments have shown that the influence of 4000 nanosecond repetitive pulsed microwaves to the area of the brain may have a significant effect on some of the behavioral and metabolic responses of irradiated mice. The effects showed a dependence on pulse repetition rate.

Key words: microwaves, nanosecond pulses, mouse brains.

REFERENCES

1. Zharkova L.P., Knyazeva I.R., Ivanov V.V., et al. (2010). Repetitive pulsed X-ray and microwaves effect on peroxide level in isolated hepatocytes. *Vestnik TSU*, (333), 161–163.
2. Rostov V.V., Bolshakov M.A., Buldakov M.A., et al. Sensitivity of some biological tissues and cellular cultures to repetitive submicrosecond microwave pulses. *Proceedings of the 17th IEEE International pulsed power conference*. Washington, 2009, pp. 216–219.
3. Knyazeva I.R., Bolshakov M.A., Ivanov V.V., et al. (2012). Response of Mice Liver Mitochondria to Repetitive Pulsed Microwaves and X-rays. *Izv. vuzov. Fizika*, 55(10/3), 194–198.
4. Euro guide on the accommodation and care of animals used for experimental and other scientific purposes, *FELASA*, 2007, 17 p.
5. Klimov A.I., Kovalchuk O.V., Rostov V.V., Sinyakov A.N. (2008). Measurement of Parameters of X-Band High-Power Microwave Superradiative Pulses. *IEEE Trans. Plasma Science*, 36(6), 1–4.
6. Schwartz M.W., Seeley R.J. (1997). Neuroendocrine responses to starvation and weight loss. *New England Journal of Medicine*, 336, 1802–18011.
7. Jenkins A.B., Markovic T.P., Fleury A., Campbell L.V. (1997). Carbohydrate intake and short-term regulation of leptin in humans. *Diabetologia*, 40, 348–351.
8. Philippova T.M., Novoselov V.I., Alekseev S.I. (1994). Influence of microwaves on different types of receptors and the role of peroxidation of lipids on receptor-protein binding. *Bioelectromagnetics*, 15(3), 183–192.