

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего
образования
«Национальный исследовательский Томский государственный университет»

На правах рукописи

Керея Анна Викторовна

**ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ВОЗДЕЙСТВИЯ
НАНОСЕКУНДНЫХ ИМПУЛЬСНЫХ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ
ИЗЛУЧЕНИЙ НА ГОЛОВНОЙ МОЗГ И ЭПИДИМАЛЬНУЮ
ЖИРОВУЮ ТКАНЬ МЫШЕЙ**

Специальность 03.03.01 - Физиология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель
доктор биол. наук, профессор
М.А. Большаков

Томск – 2016

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	6
Глава 1. Литературный обзор. Реакции центральной нервной системы на модулированные и импульсно-периодические электромагнитные излучения	15
1.1 Модулированные электромагнитные излучения как фактор, действующий на биологические системы. Общая характеристика.....	15
1.2 Влияние модулированных микроволн на головной мозг и процессы в центральной нервной системе	19
1.2.1 Чувствительность структур головного мозга к воздействию неионизирующим излучением.....	24
1.2.2 Биологическое действие наносекундного импульсно-периодического микроволнового излучения.....	26
1.3 Низкодозовые ионизирующие электромагнитные излучения как фактор воздействия на ЦНС.....	27
1.3.1 Структуры мозга, чувствительные к воздействию низкодозового рентгеновского излучения	33
1.3.2 Биологическое действие наносекундного импульсно-периодического рентгеновского излучения	37
1.4 Проблема регистрации нейрофизиологических эффектов на воздействие импульсно-периодическими электромагнитными излучениями	39
1.4.1 Поведенческие реакции как индикаторы на электромагнитное воздействие	40
1.4.2 Иммуногистохимическая оценка нейрональной активации в структурах мозга с помощью белков раннего ответа c-fos	42
1.5 Жировая ткань как объект электромагнитного воздействия и её участие в деятельности головного мозга	46
1.5.1 Поглощение жировой тканью энергии неионизирующих и ионизирующих излучений	46
1.5.2 Энергетическая, нейроэндокринная и сигнальная функции жировой ткани	47
1.5.3 Размеры адипоцитов как индикатор электромагнитного воздействия	49
1.5.4 Гормон лептин и его роль в жировом обмене.....	51
1.6 Стресс как одна из реакций организма на электромагнитное воздействие ...	55

1.6.1 Стресс на воздействия электромагнитными неионизирующим и ионизирующим излучениями	55
1.6.2 Кортикостерон как индикатор стресса	56
Заключение. Необходимость нейрофизиологического исследования действия ИП ЭМИ	59
Глава 2. Материалы и методы исследований	60
2.1 Общее описание объектов исследования	60
2.2 Источники наносекундного импульсно-периодического электромагнитного излучения	60
2.3 Исследование поведения мышей по методу «Открытое поле»	65
2.4 Оценка общей двигательной активности мышей с использованием программы «Mouse Express»	67
2.5 Оценка уровня нейрональной активации в различных структурах мозга	69
2.5.1 Методика получения срезов мозга и иммуногистохимического окрашивания	69
2.6 Измерение массы мышей и их внутренних органов с учетом потребления пищи	71
2.7 Методика морфометрической оценки состояния эпидидимальной жировой ткани	72
2.8 Методики определения уровня гормонов в сыворотке крови	73
2.8.1 Определение уровня кортикостерона	74
2.8.2 Определение уровня лептина	74
2.9 Биохимический анализ крови	75
2.9.1 Определение концентрации триглицеридов в сыворотке крови	75
2.9.2 Определение концентрации глюкозы в сыворотке крови	75
2.10 Статистическая обработка результатов	76
Глава 3. Результаты и их обсуждение	78
3.1 Исследование влияния наносекундных ИПМИ и ИПРИ на деятельность головного мозга мышей	78
3.1.1 Поведение мышей в «Открытом поле» после воздействия ИПМИ	78
3.1.2 Поведение мышей в «Открытом поле» после воздействия ИПРИ	81

3.1.3 Динамика общей двигательной активности мышей после облучения наносекундным ИПМИ	87
3.1.4 Динамика общей двигательной активности мышей после облучения наносекундным ИПРИ в дозе 1.0 Гр.....	89
3.1.5 Анализ и краткое резюме эффектов влияния наносекундных ИПМИ и ИПРИ на поведение и двигательную активность мышей	91
3.2 Оценка уровня нейрональной активации структур мозга с помощью белков раннего ответа c-fos	94
3.2.1 Нейрональная активация в структурах мозга после воздействия ИПМИ	95
3.2.2 Нейрональная активация в структурах мозга после воздействия ИПРИ в дозах 0.2 и 1.0 Гр.....	97
3.3. Масса тела и внутренних органов мышей с учетом потребления пищи после воздействия наносекундных ИПМИ и ИПРИ на головной мозг	101
3.3.1 Влияние ИПМИ на массу тела мышей и внутренних органов с учетом потребления пищи.....	101
3.3.2 Влияние ИПРИ на массу тела мышей и внутренних органов и тканей с учётом потребления пищи	104
3.4 Содержание гормонов кортикостерона и лептина после облучения головного мозга ИПМИ и ИПРИ	109
3.5 Влияние импульсно-периодического микроволнового излучения непосредственно на жировую ткань	114
3.5.1 Масса эпидидимальной жировой ткани и размеры адипоцитов после их непосредственного облучения ИПМИ.....	114
3.5.2 Поведенческие реакции в «Открытом поле» и общая двигательная активность мышей после воздействия ИПМИ непосредственно на эпидидимальную жировую ткань.....	120
3.6 Обсуждение полученных результатов. Эффекты воздействия наносекундных ИПМИ и ИПРИ на головной мозг и эпидидимальную жировую ткань	126
Заключение	142
Выводы	146
Список литературы	148
Благодарности.....	175

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АФК – активные формы кислорода

БАВ – биологически активные вещества

ИИ – ионизирующее излучение

ИК – инфракрасное излучение

ИПМИ – импульсно-периодическое микроволновое излучение

ИПРИ – импульсно-периодическое рентгеновское излучение

ИП ЭМИ – импульсно-периодическое электромагнитное излучение

КВЧ – крайне высокие частоты

КэВ – кило электрон-вольт

ЛО – ложное облучение

МэВ – мега электрон-вольт

ОНЧ – очень низкие частоты

нс – наносекунда

ПОЛ – перекисное окисление липидов

ППМ – плотность потока мощности

пППМ – пиковая плотность потока мощности

РЧ – радиочастотное излучение

СВЧ – сверхвысокие частоты

УВЧ – ультравысокие частоты

УПМ – удельная поглощённая мощность

УФ – ультрафиолетовое излучение

ЭМИ – электромагнитные излучения

ЦНС – центральная нервная система

Rs – коэффициент корреляции Спирмена

ВВЕДЕНИЕ

К настоящему времени в России разработаны и эксплуатируются в научных и практических целях источники наносекундных микроволнового (ИПМИ) и рентгеновского (ИПРИ) электромагнитных излучений (Месяц Г.А., 2004; Korovin S.D. et al., 2004; Артемов К.П. и др., 2004; Соковнин С.Ю., 2008). Исследование влияния таких излучений показало, что они обладают выраженной биологической эффективностью, поскольку действуют на живые объекты разных уровней организации. Проведенными ранее исследованиями установлено, что импульсные микроволны с большой пиковой мощностью обладают противовоспалительным действием, но не генотоксичны (Гапеев А.Б и др., 2007; Чемерис Н.К., Гапеев А.Б., 2007).

В исследованиях биологического действия импульсно-периодических электромагнитных излучений установлено, что облучение ИПМИ и ИПРИ влияет на развивающийся организм дрозофилы (Князева И.Р. и др., 2001; Большаков М.А. и др., 2002), изменяет уровень синтеза ДНК и РНК в опухолевых клетках (Litvyakov N.V. et al., 2004), показатели крови крыс и структуру и функцию печени (Коровин М.С., 2004), регенерацию полнослойных кожных ран и нейрогенных изъязвлений слизистой желудка (Жаркова Л.П. и др., 2010). Кроме того установлено, что воздействие ИПМИ и ИПРИ сопровождается изменением уровня активных форм кислорода, в частности, пероксида водорода, и объема митохондрий гепатоцитов (Жаркова Л.П., 2010; Жаркова Л.П. и др., 2011). После облучения ИПМИ и ИПРИ митохондрий печени наблюдается изменение клеточного дыхания и степени разобщения процессов окисления и фосфорилирования в этих органеллах (Князева И.Р. и др., 2013), а также повышение или понижение активности основных ферментов антиоксидантной защиты митохондрий печени с изменением соотношения их активностей (Большаков М.А. и др., 2012; Князева И.Р. и др., 2013). Основной закономерностью является то, что выявленные эффекты зависят от частоты

повторения импульсов, интенсивности или дозы воздействия, а также вида излучения.

Влияние модулированных радиочастотных ЭМИ, в том числе микроволнового излучения, на деятельность головного мозга изучается достаточно давно (Adey W.R., 1981, 1993; Bolshakov M.A., Alekseev S.I., 1992; Chizhenkova R.A., 2003; Григорьев Ю.Г., 1996, 1999, 2000, 2003, 2005, 2011; Кудряшов Ю.Б. и др., 2008; Холодов Ю.А., 1975, 1982, 1992, 1998). Тем не менее, нейрофизиологических исследований действия наносекундного ИПМИ к началу выполнения диссертационной работы не проводилось. Поэтому отсутствовали данные о механизмах и общих закономерностях влияния наносекундного микроволнового излучения на деятельность мозга.

Принято считать, что биологическая эффективность ЭМИ определяется его тепловым действием, которое достаточно хорошо изучено и находит широкое применение в технологических процессах, в биологии и медицине. Тепловое действие обусловлено преобразованием энергии электромагнитного излучения в тепловую, что сопровождается повышением температуры в облучаемом объекте (Markov M., 2006). Однако, взаимодействие ЭМИ с биологической средой, по-видимому, не ограничивается только тепловыми эффектами (Григорьев Ю.Г., 1996, 2005). Многочисленные исследования взаимодействия низкоинтенсивных ЭМИ с биообъектами свидетельствуют также в пользу нетеплового характера развития системных эффектов, когда происходит сильное и слабое взаимодействие электрического поля излучения с веществом, не связанное с нагревом. Целый ряд ученых высказывают свое мнение в пользу реальности нетеплового влияния электромагнитных излучений на организм (Adey W.R., 1981; Betskii O.V. et al, 2000; Chizhenkova R.A., 2005; Frey A.H., Eichert E.S., 1985; Григорьев Ю.Г., 1999, 2000).

Известно, что центральная нервная система организмов играет первостепенную роль в регуляции всех жизненных функций. Поэтому необходимо знать, реагирует ли ЦНС и головной мозг на воздействие

наносекундных импульсов ИПМИ, а если реагирует, то каким образом и будет ли это зависеть от частоты их повторения. В последние годы показано, что слабые миллисекундные импульсные ЭМИ способны модулировать биоритмы и состояние мозга (Borbeley A. et al., 1999), электрическую активность мембран нейронов (Alekseev S.I. et al., 1997, 1999; Chizhenkova R.A., 2005), изменять условно-рефлекторную деятельность и поведенческие реакции лабораторных животных (Adey W.R., 1981, 1993; Kholodov Yu.A., 1996; Григорьев Ю.Г, 2000, 2011; Лукьянова С.Н. и др., 2004; Пестряев В.А., 2003), двигательную активность и процессы обучаемости крыс (Павлова Л.Н. и др., 2010).

Для наносекундного импульсно-периодического микроволнового излучения характерно высокое значение пиковой плотности потока мощности (пППМ) (десятки кВт/см за импульс) при низких средних значениях (не более единиц мВт/см²) за счёт большой скважности (порядка миллиона) и малой длительности импульса (десятки нс). Как представляется, такое воздействие должно быть специфичным, из-за очень высокой напряжённости электрического поля, достигающего значений мегавольт на метр. Поэтому использование и внедрение источников такого излучения требует понимания механизмов и общих закономерностей влияния для практического применения, в том числе выработке нормативов безопасного воздействия на живые объекты и окружающую среду. Источники наносекундных ИП ЭМИ (ИПМИ и ИПРИ) используются уже при тестировании радиоэлектронной аппаратуры на ее электромагнитную устойчивость, в дефектоскопии материалов и конструкций; предполагается их использование в системах связи и радиолокации. В связи с этим возникает вопрос относительно безопасных уровней воздействия этих излучений для обслуживающего персонала применительно к гигиеническому нормированию. Сфера применения наносекундных ИП ЭМИ в дальнейшем будет расширяться, в том числе для целей медицины, ветеринарии и биотехнологии (Соковнин С.Ю., 2008). Поэтому представляются актуальными исследования на лабораторных

животных физиологических эффектов и закономерностей действия этих излучений.

Использование источников ИПРИ делает актуальной проблему аналогичным образом. Природа влияния ИПРИ может быть достаточно сложна и неоднозначна. Генераторы импульсно-периодического рентгеновского излучения (ИПРИ), генерируют импульсы длительностью от единиц до десятков наносекунд, в дозах от 10 мкГр до единиц мГр за импульс при частотах повторения от единиц до ста импульсов в секунду (Артемов К.П. и др., 2004). ИПРИ характеризуется достаточно высокой дозой в импульсе (2,5 мР/имп.), но при этом накопленные дозы за время облучения не превышают диапазона малых доз (не более 1 Гр). Биологическое действие таких низкодозовых излучений является актуальной научной проблемой применительно к любым ионизирующим излучениям. При этом вопрос действия малых доз на ЦНС остаётся дискуссионным (Нягу А.И., Логановский К.Н., 1997), в том числе и для ИПРИ.

Результаты предыдущих исследований демонстрируют, что биологические эффекты действия ИПМИ и ИПРИ характеризуются сходной зависимостью от частоты повторения импульсов и от интенсивности/дозы воздействия, что позволяет говорить о возможном существовании общего механизма действия (Bolshakov M.A. et al., 2000). Одним из таких механизмов является генерация АФК с последующей окислительной модификацией липидов и белков, что может быть молекулярной основой формирования биологических эффектов (Bolshakov M.A. et al., 2005).

Изменение деятельности головного мозга под влиянием ИП ЭМИ может сопровождаться изменением состояния тканей, органов и систем органов, которые находятся под контролем ЦНС. Не исключено, что в этих изменениях важную роль играет жировая ткань. До настоящего времени оставалось полностью не изученным влияние микроволнового излучения, в том числе и наносекундного ИПМИ, на функциональное состояние жировой ткани. Ранее, работами Х.П. Швана (Schwan H.P., 1981) было показано, что эта ткань

эффективно поглощает энергию ЭМИ. Однако вопросы биологических эффектов жировой ткани не рассматривались. Относительно недавно стало известно (Schwartz M.W., Seeley R.J., 1997), что жировая ткань является важным нейроэндокринным органом. При этом, роль жировой ткани, как посредника в формировании нейрофизиологических эффектов ИП ЭМИ на момент начала диссертационной работы была абсолютно не исследована. Нельзя исключать, что жировая ткань после воздействия на неё наносекундным ИПМИ может играть определенную роль в реагировании всего организма, в том числе в результате изменения функционирования ЦНС. Кроме того, не было исследовано влияние электромагнитного излучения на функциональное состояние жировой ткани и ее биологические свойства. Поэтому в рамках решаемой в диссертации научной проблемы представлялось важным установить наличие и характер реакции жировой ткани на воздействие ИП ЭМИ и то, как возможные реакции повлияют на состояние и деятельность головного мозга, на состояние других органов и тканей в организме мышей.

Поэтому **целью исследования** было изучить физиологические эффекты воздействия наносекундных импульсно-периодических электромагнитных излучений на головной мозг и эпидидимальную жировую ткань мышей в зависимости от частоты повторения импульсов.

Для достижения поставленной цели решались следующие **задачи**:

1. Исследовать поведенческие реакции в «Открытом поле» и динамику общей двигательной активности мышей после десятикратного воздействия наносекундными импульсно-периодическими электромагнитными излучениями на головной мозг.

2. Изучить уровень нейрональной активации в структурах облученного ИП ЭМИ головного мозга мышей с помощью белка раннего ответа c-fos.

3. Оценить массу печени, селезенки и эпидидимальной жировой ткани мышей и уровни кортикостерона и лептина в сыворотке крови после воздействия ИП ЭМИ на головной мозг и эпидидимальную жировую ткань.

4. Исследовать поведенческие и тканевые эффекты воздействия наносекундного импульсно-периодического микроволнового излучения непосредственно на эпидидимальную жировую ткань.

Научная новизна исследования

Впервые установлено влияние наносекундных ИП ЭМИ (микроволнового и рентгеновского) на деятельность головного мозга мышей. Эффекты воздействия, зависящие от частоты повторения импульсов, проявляются в разнонаправленном изменении ориентировочно-исследовательской, эмоциональной компонент поведения животных и динамики общей двигательной активности на фоне изменения содержания кортикостерона и лептина в сыворотке крови.

С помощью белка раннего ответа c-fos впервые выявлено зависимое от частоты повторения импульсов ИП ЭМИ увеличение уровня нейрональной активации в гипоталамусе и ретикулярной формации головного мозга мышей после его облучения.

Получены новые данные, что воздействие наносекундным микроволновым излучением (ИПМИ) непосредственно на эпидидимальную жировую ткань физиологически значимо, оно изменяет её массу, размеры адипоцитов, уровень кортикостерона и лептина в сыворотке крови и поведенческие реакции облученных животных.

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученные результаты формируют представление о влиянии наносекундных ИП ЭМИ на деятельность головного мозга и состояние эпидидимальной жировой ткани. Обнаруженные закономерности физиологических реакций организма животных реализуются при низких средних уровнях ИПМИ и ИПРИ и зависят от частоты повторения импульсов. Эти закономерности имеют важное практическое значение, поскольку они могут учитываться при использовании ИП ЭМИ для управления функциональным состоянием организмов в интересах ветеринарии, медицины и биотехнологии. Данные о зависимости физиологических реакций от частоты повторения

импульсов, прежде всего ИПРИ, а также о развитии стресса в организме после воздействия наносекундным ИПМИ, могут быть полезными при разработке или усовершенствовании гигиенических и экологических норм безопасного действия ИП ЭМИ.

Результаты работы используются при чтении лекционных курсов в Ни ТГУ: «Основы безопасности жизнедеятельности», «Основы электромагнитной экологии», «Экологическая физиология», «Радиобиология» и при проведении работ большого практикума на кафедре физиологии человека и животных.

Методология и основные методы исследования

Корректная регистрация биопотенциалов мозга в условиях воздействия импульсных электромагнитных полей существенно затруднена и требует громоздкой электродной системы отведения (Tyazhelov V.V. et al., 1977), которая неприемлема для работы с головным мозгом мелких лабораторных животных. В соответствии с поставленными задачами были выбраны широко используемые и апробированные методы исследований поведения животных в «Открытом поле» (Габай И.А. и др., 2011) и регистрация общей двигательной активности (Суханов Д.Я. и др., 2010). Для выявления участков мозга, реагирующих на воздействие ИП ЭМИ, использовались иммуногистохимический и непрямой иммунофлуоресцентный анализы срезов мозга, отображающие уровень нейрональной активации в структурах мозга. Состояние организма мышей оценивалось по потреблению пищи, массам тела, печени, селезенки и эпидидимальной жировой ткани, распределению адипоцитов по размерам. Уровень гормонов в сыворотке крови оценивался с помощью метода иммуноферментного анализа.

Экспериментальная работа выполнялась на базе Лаборатории нейробиологических исследований Ни Томского государственного университета, Отдела физической электроники Института сильноточной электроники СО РАН, Лаборатории биологических моделей ГБОУ ВПО СибГМУ, Лаборатории

биомедицинских технологий Филиала ТНИИКиФ ФГБУ СибФНКЦ ФМБА России.

Положения, выносимые на защиту:

1. Воздействие наносекундных ИПМИ и ИПРИ на головной мозг мышей в зависимости от частоты повторения импульсов, интенсивности (ИПМИ), дозы (ИПРИ) и вида излучения изменяет поведенческие реакции и общую двигательную активность животных, что отображает влияние ИП ЭМИ на ЦНС.

2. Облучение головного мозга мышей наносекундными ИПМИ и ИПРИ повышает уровень нейрональной активации в гипоталамусе и ретикулярной формации, указывая на участие этих структур в реагировании организма на воздействие. Участие гипоталамуса опосредовано гормонами кортикостероном и лептином, уровень которых в сыворотке крови после воздействия изменяется.

3. Прямое воздействие наносекундным ИПМИ на эпидидимальную жировую ткань снижает ее массу, изменяет размеры адипоцитов и поведение облученных животных, что обусловлено участием жировой ткани в реализации нейрофизиологических эффектов ИПМИ.

Степень достоверности и апробация результатов работы

Научные результаты диссертации представительны и достоверны, положения и выводы основаны на анализе достаточного объема экспериментальных данных. В работе широко использованы адекватные статистические методы обработки результатов.

Основные материалы по теме диссертации докладывались и обсуждались на VII Сибирском съезде физиологов с международным участием – Красноярск, 2012 г.; 3rd International Congress on Radiation physics, High current electronics and Modification of materials – Томск, 2012 год; ежегодной научной конференции молодых ученых и аспирантов ИСЭ СО РАН – Томск, 2012 г.; VI международной научно-практической конференции «Медицинские и экологические эффекты ионизирующего излучения – Северск-Томск, 2013 г.; XII Съезде физиологического общества имени И.П. Павлова – Волгоград, 2013 г.; на

совместном Ни ТГУ с Университетом г. Маастрихт (Нидерланды) рабочем совещании по проблемам нейробиологии – Томск, 2013 г.; на конференции с международным участием «Нейрогуморальные механизмы регуляции висцеральных органов и систем в норме и патологии», посвященной 125-летию кафедры физиологии СибГМУ и Ни ТГУ – Томск, 2014 г.; 4th International Congress on Energy Fluxes and Radiation Effects (EFRE-2014) – Томск, 2014 г.; IX–XI International interdisciplinary congress «Neuroscience for medicine and psychology» – Судак (2013, 2014, 2015 гг.).

Работа поддерживалась грантом РФФИ № 12-04-32046 (2012, 2013 гг.), проектом АВЦП № 2.1.1/13778 (2011 г.), индивидуальной финансовой поддержкой участия НПр Ни ТГУ (2014 г.) в рамках выполнения Программы повышения международной конкурентоспособности Ни ТГУ на 2013-2020 гг.

Публикации. Основные научные результаты по теме диссертации опубликованы в 25 печатных работах, из них 8 статей в изданиях, рекомендованных ВАК РФ.

Структура и объём диссертации. Диссертация изложена на 175 страницах машинописного текста, состоит из введения, 3 глав, заключения, выводов и списка использованных литературных источников. Работа иллюстрирована 44 рисунками и 10 таблицами. Библиографический указатель включает 251 источник (134 – отечественных, 117 – иностранных).

Личное участие автора. Автором самостоятельно выполнены все экспериментальные исследования, проведены статистическая обработка, анализ и обобщение полученных данных, сформулированы научная новизна, положения и выводы по диссертации.

ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР. РЕАКЦИИ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ НА МОДУЛИРОВАННЫЕ И ИМПУЛЬСНО-ПЕРИОДИЧЕСКИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫЕ ИЗЛУЧЕНИЯ

1.1 Модулированные электромагнитные излучения как фактор, действующий на биологические системы. Общая характеристика

Электромагнитные излучения (ЭМИ) представлены широким частотным диапазоном. Общей чертой для всех ЭМИ является их волновая и квантовая природа, определяющие характер их распространения и взаимодействия с веществом. В зависимости от энергии кванта электромагнитные излучения подразделяются на неионизирующие и ионизирующие.

К неионизирующим относятся оптическое излучение (видимый свет), ультрафиолетовое (УФ), инфракрасное (ИК), и широкий набор радиочастотных (РЧ) излучений, включающих в себя диапазоны от очень низких частот (ОНЧ) до гипервысоких частот (ГВЧ). С биологической точки зрения наиболее интересны эффекты действий ультравысоких частот (УВЧ), сверхвысоких частот (СВЧ), именуемых еще микроволнами, и крайне высоких частот (КВЧ). Эти излучения располагаются в диапазоне частот 300 МГц – 30 ГГц. ЭМИ с частотами 0,3–3,0 ГГц относятся к дециметровому диапазону, с частотами 3,0–30 ГГц – к сантиметровому, 30–300 ГГц – миллиметровому (Григорьев Ю.Г. и др., 1999; Карташев А.Г., 2000; Рубин А.Б., 1999; Тигранян Р.Э., 1985). Так как они наиболее широко используются в различных областях деятельности человека, их биологические эффекты требуют внимательного изучения.

Энергия ЭМИ РЧ диапазона, поглощаясь объектами, преобразовывается в тепловую форму, и это обеспечивает формирование так называемых тепловых биологических эффектов. Согласно принципу Гроттгуса, только та часть энергии излучения может вызывать изменения в веществе, которая поглощается этим веществом; отражённая или проходящая энергия не оказывает никакого действия (Давыдов Б.И. и др., 1984; Кудряшов Ю.Б., 2008). Наиболее эффективно энергия

ЭМИ поглощается биологическими тканями с высоким содержанием воды, например, тканевой жидкостью, кровью и мозговой тканью, и в меньшей степени – жировой и костной тканями (Schwan H.P., 1981; Кудряшов Ю.Б., 2008). Глубина её проникновения d определяется как расстояние вглубь объекта, на котором величина электрического поля убывает в $e=2,7$ раза (Schwan H.P., 1981).

К ионизирующим электромагнитным излучениям (ИИ) относятся ультрафиолетовое (УФ), и высокоэнергетические фотоны рентгеновского и гамма – излучений. В зависимости от длины волны (частоты) излучения, а следовательно, и энергии кванта, существенно меняется проникающая способность и характер взаимодействия ЭМИ с биологическими объектами (Давыдов Б.И. и др., 1984; Кудряшов Ю.Б., 2008). Поглощение энергии ИИ сопровождается возбуждением и/или ионизацией атомов и молекул, что и обеспечивает формирование биологических эффектов. Длина волны рентгеновских лучей находится в диапазоне от 10 до 10^{-3} нм (Кудряшов Ю.Б., 2004). Для энергетической характеристики этого излучения исторически сложилась его оценка в КэВ. Рентгеновское излучение – ЭМИ с энергией квантов от единиц КэВ до сотен МэВ, возникает при ускорении с помощью анодного напряжения пучка электронов внутренних электронных оболочек, потенциал ионизации которых гораздо больше, чем у валентных электронов, и последующего его торможения в материале мишени (Кудряшов Ю.Б., 2004). Чем выше анодное напряжение в КэВ, тем короче длина волны излучения и выше его проникающая способность – «жесткость» излучения (Чикирдин Э.Г., 1998). Взаимодействие ионизирующего излучения с веществом количественно может быть оценено отношением энергии, переданной элементу облучённого вещества к массе этого элемента. Эту характеристику называют поглощенной дозой излучения и именно ею прежде всего определяются эффекты ионизирующего излучения. Единицей поглощенной дозы является Грей (Гр), соответствующий дозе излучения, при которой облучаемому веществу массой 1 кг передаётся энергия излучения 1 Дж. Для нахождения поглощённой дозы излучения следует

измерить энергию ионизирующего излучения, падающего на тело, энергию, прошедшую сквозь тело и их разность разделить на массу тела. Дозу, отнесённую ко времени называют мощностью дозы. (Кудряшов Ю.Б., 2004).

ЭМИ могут генерироваться в непрерывном и модулированном режимах. Характер распространения модулированных излучений представляет собой синусоидально изменяющуюся электромагнитную волну частоты, которая называется несущей. Для передачи информации с помощью электромагнитных волн используется амплитудная, частотная, фазовая и импульсная модуляции (Изюмов Н.М., 1983), при которой модулирующий сигнал имеет вид импульса. Электромагнитный импульс – это изменение параметров электромагнитного поля в течение конечного промежутка времени (мс, мкс, нс). Участки нарастания и спада импульса являются его передними и задними фронтами, максимальное отклонение от нулевого (или постоянного) уровня определяет амплитуду импульса. Длительность импульса или ширина импульсного сигнала определяется на некотором уровне его высоты (чаще всего на уровне полувысоты 0.7 или 0.9 от максимального значения). Последовательность импульсного сигнала называется скважностью. Это безразмерная величина, равная отношению периода повторения импульса к длительности одиночного импульса. Количество импульсов в секунду определяет частоту повторения импульсов. К настоящему времени большое внимание уделяется изучению именно модулированных ЭМИ, и в том числе импульсно модулированных, которые более эффективно влияют на живые системы и данные многих исследований свидетельствуют о более высокой значимости импульсной организации облучения по сравнению с непрерывным (Adey W.R., 1981, 1993; Frey A.H., Eichert E.S., 1985;; Тяжелов В.В., Алексеев С.С., 1983; Григорьев Ю.Г., 1996, 1999, 2005; Большаков М.А. и др., 2000, 2002; Павлова Л.Н. и др., 2010).

В связи с появлением и предполагаемым использованием источников наносекундных импульсно-периодических микроволнового и рентгеновского излучений для решения задач радиолокации, связи, физики плазмы, плазмохимии,

и тестировании электронной аппаратуры на электромагнитную устойчивость (Коровин С.Д. и др., 1996; Месяц Г.А., 2004), закономерно был поставлен вопрос о потенциальной опасности действия таких излучений на обслуживающий персонал и окружающую среду. Соответственно, актуализировалась проблема нормативов их безопасного влияния, а также изучения основных закономерностей и механизмов биологического действия наносекундных излучений, адаптивных возможностей организмов к ним (Давыдов Б.И., 1984; Девятков Н.Д. и др., 1991; Григорьев Ю.Г., 1996). Влияние, оказываемое такими излучениями на живые системы, может быть значительным, поскольку иницирующий фактор характеризуется очень высоким импульсным значением энергии, которое при длительностях импульса порядка десяти наносекунд может обеспечивать плотность потока мощности порядка миллиджоуля на квадратный сантиметр. Такое воздействие может оказаться специфичным и нетепловым из-за очень высокой напряжённости электрического поля, достигающего значений мегавольт на метр. Поэтому, исследование общих закономерностей влияния наносекундных микроволновых и рентгеновских импульсных излучений (ИПМИ и ИПРИ) будет способствовать пониманию возможных механизмов их влияния на живые структуры и функциональные системы организма, в том числе на центральную нервную систему (ЦНС), а также . установлению научно обоснованных допустимых безопасных уровней воздействия в рамках гигиенического нормирования, Знания параметров воздействий, способствующих развитию благоприятных биологических эффектов, будут полезны в практическом применении электромагнитных технологий для целей медицины, ветеринарии, биотехнологии и в сельском хозяйстве.

1.2 Влияние модулированных микроволн на головной мозг и процессы в центральной нервной системе

Исследованиям влияния модулированного ЭМИ, в том числе микроволнового на головной мозг и процессы в центральной нервной системе животных и человека достаточно давно уделяется серьезное внимание. Экспериментальные исследования свидетельствуют о высокой чувствительности нервной системы, в том числе человека, к слабым электромагнитным воздействиям радиочастотного диапазона частот. К настоящему времени накоплен большой объем результатов по исследованию как хронического воздействия ЭМИ, так и модулированного с различными интенсивностями на отдельные органы, ткани и целые системы органов животных и человека (Adey W.R., 1981, 1993; Bolshakov M.A., Alekseev S.I., 1992; Chizhenkova R.A., 2003, Григорьев Ю.Г., 1996, 1999, 2000, 2003, 2005; Кудряшов Ю.Б., 2008; Пресман А.С., 1968; Холодов Ю.А., 1975, 1982, 1992, 1998). При этом отмечен факт более высокой биологической эффективности модулированного, в том числе импульсно-модулированного излучения (Frey A.H., Eichert E.S., 1985; Большаков М.А. и др., 2002; Григорьев Ю.Г., 1996, 1999; Alekseev S.I. et al., 1995, 1999) по сравнению с немодулированным, но механизмы такого действия на ЦНС до сих пор не до конца изучены и неясны.

Принято считать, что биологическая эффективность ЭМИ определяется его тепловым действием, которое достаточно хорошо изучено и находит широкое применение в технологических процессах, в биологии и медицине. Тепловое действие обусловлено преобразованием электромагнитной энергии в тепловую, что сопровождается повышением температуры в облучаемом объекте (Markov M., 2006). Однако, взаимодействие ЭМИ с биологической средой, по-видимому, не ограничивается только тепловыми эффектами (Григорьев Ю.Г., 1996, 2005). Многочисленные исследования взаимодействия низкоинтенсивных ЭМИ с биообъектами свидетельствуют также в пользу нетеплового, информационного

характера развития системных эффектов, когда происходит сильное и слабое взаимодействие электрического поля излучения с заряженными молекулами, несвязанное с нагревом. Целый ряд ученых высказывают свое мнение в пользу нетеплового влияния электромагнитных излучений на организм (Adey W.R., 1981; Betskii O.V. et al., 2000; Chizhenkova R.A., 2005; Григорьев Ю.Г., 1999, 2000). Уже известно, что под действием низкоинтенсивного модулированного ЭМИ изменяются клеточная пролиферация и синтез АТФ (Bassett C.A.L., 1994), заживление раневых поверхностей (Pilla A.A., 2008). Кроме того, воздействия низкоинтенсивных ЭМИ способны повышать общую эффективность некоторых физиологических процессов, что используется в терапевтических целях (Лушников К.В. и др., 2002, 2003), а также в терапии рассеянного склероза, болезни Паркинсона и Альцгеймера (Richter E.O. et al., 2004). Причем, при равных интенсивностях воздействия эффекты зависят от частоты модуляции и от того, на какие именно системы организма осуществлялось воздействие (Князева И.Р. и др., 2001; Литвяков Н.В. и др., 2005; Пашовкина С.М. и др., 2001). То есть, при действии ЭМИ на биообъект изменения регистрируемого параметра проявляются лишь в узком интервале частот или интенсивностей (Adey W.R., 1993; Акоев И.Г. и др., 2002; Гапеев А.Б. и др., 2001). Величина той или иной реакции организма на воздействующие ЭМИ в ряде случаев уменьшается по мере возрастания интенсивности, а некоторые реакции, наблюдавшиеся при действии слабых ЭМИ, вообще не возникают при высоких интенсивностях (Пашовкина С.М. и др., 2001).

В современных исследованиях влияния ЭМИ радиочастотного диапазона на головной мозг и процессы в центральной нервной системе установлены многочисленные нейрофизиологические эффекты. Установлено изменение поведенческих реакций лабораторных животных (Adey W.R., 1981, 1993; Григорьев Ю.Г. и др., 2005, 2011; Лукьянова С.Н. и др., 1998; Пестряев В.А., 2003), двигательной активности и процессов обучаемости крыс (Павлова Л.Н. и др., 2010), изменение условно-рефлекторной деятельности и поведения животных (Kholodov Yu.A., 1996), электрической активности головного мозга и нейронов

(Bolshakov M.A., Alekseev S.I., 1992; Alekseev S.I. et al., 1997; Chizhenkova R.A., 2005). Исследования, проведенные в 2004 году в Эстонии (Hinrikus H. et al., 2004), продемонстрировали изменения в уровне активности ЭЭГ человека при низком уровне модулированной микроволновой стимуляции с плотностью мощности поля на волосистой части головы $0,16 \text{ мВт/см}^2$. В работе Paulraj R. (Paulraj R., Behari J., 2012) исследовали биохимические изменения в развивающемся головном мозге крыс, которых подвергали воздействию излучения достаточно низкой интенсивности около $0,125 \text{ мВт/см}^2$ (удельная поглощенная мощность $1,0 \text{ Вт/кг}$) с несущей частотой $9,9 \text{ ГГц}$. Эксперимент проводился в течение 2 часов/день на протяжении 35 дней. После воздействия биохимический анализ тканей головного мозга показал существенное увеличение оттока ионов кальция, значительное снижение активности кальций-зависимой протеинкиназы, увеличение активности орнитиндекарбоксилазы. Поскольку эти ферменты связаны с ростом организма и его развитием, было предположено, что внешнее воздействие подобного рода может повлиять на функционирование мозга и его развитие. Результаты исследования влияния микроволнового излучения на мозг крыс-самцов в течение 2 часов/день на протяжении 45 дней непрерывно при уровне мощности $0,86 \text{ мкВт/см}^2$ с удельной поглощенной мощностью $8,0 \times 10^{-4} \text{ Вт/кг}$ с частотой модуляции 50 ГГц , показали уменьшение уровня протеинкиназы С в гиппокампе, разрывы двухцепочечной ДНК, а также изменения в работе антиоксидантной системы в ЦНС из-за формирования свободных радикалов (Kavindra K. Kesari, Behari J., 2009). Известно также, что многократное воздействие мощным микроволновым излучением на крыс способно вызывать кратковременные болевые эффекты у животных, стимулировать моторику, а также способствовать образованию долговременных эффектов в виде воспалений тканей мозга и опухолей (Rene de Sezel, 2008).

В связи с широким распространением различных радиоэлектронных и радиотехнических систем, станций сотовой связи, приборов и устройств, генерирующих или использующих электромагнитные поля и излучения, очень

существенно повысился электромагнитный фон окружающей среды, поэтому нельзя исключать возможное воздействие этого физического фактора на здоровье человека и элементы биосферы (Эйди У.Р., 1989; Соковнин С.Ю., 2007). Исследование влияния глобальной системы мобильной связи (GSM) (Xu S. et al., 2006) в эксперименте при облучении культивируемых нейронов гиппокампа крыс микроволнами с несущей частотой 1800 МГц, удельной поглощенной мощностью 2,4 Вт/кг, в течение 8 дней по 15 мин./день, показало уменьшение возбуждающей синаптической активности и числа возбуждающих синапсов.

С появлением источников импульсно-модулированных субмикросекундных электромагнитных излучений с большой пиковой мощностью в импульсе в США начали проводить исследования их действия с целью определения гигиенически безопасных нормативов. При этом основной акцент исследования делался на доказательство исключительно теплового механизма биологического действия импульсных микроволн. Было установлено, что такие излучения влияют на электрическую активность нейронов гиппокампа (Pakhomov A.G. et al, 1997–2000). Помимо этого, факт высокой биологической эффективности импульсно-модулированного низкоинтенсивного излучения был продемонстрирован и в исследованиях некоторых других ученых (Markov M.S., 2007; Большаков М.А. и др., 2001, 2002; Григорьев Ю.Г., 1996). Было показано изменение импульсации нейронов, ЭЭГ и поведения кроликов в условиях «Открытого поля» при импульсно-модулированном режиме воздействия ЭМИ 1,5 ГГц с ППЭ 300 мкВ/см². Однако такие эффекты отсутствовали в условиях немодулированного воздействия. Было предположено, что модулирующая частота импульсов, параметры воздействия ЭМИ и физическое состояние организма во время облучения, по-видимому, являются ключевыми условиями влияния. Что касается частоты воздействий, то предполагается, что реакции увеличиваются или уменьшаются в диапазонах различных частот модуляции вследствие собственных внутриклеточных динамических процессов с соответствующим специфическим временем, например, временем восстановления

окисленных ферментов. В экспериментах (Большаков М.А. и др., 1997) показано, что в ответ на 5-10 минутное воздействие импульсно-модулированного ЭМИ (частоты 0,5-16 Гц, средняя УПМ 0,5 Вт/кг) нейроны реагируют уменьшением частоты потенциала действия. При частотах модуляции 40 и 100 Гц воздействие было неэффективным. Более интенсивное воздействие импульсно-модулированного ЭМИ (частоты 0,5-16 Гц, средняя УПМ 2 и 4 Вт/кг) временно усиливало электрическую активность нейронов. Воздействие мощных СВЧ-импульсов с частотой 6, 16 и 22 имп./с тормозило рост грибков *Fusarium* (Большаков М.А., 2002). Облучение импульсно-модулированным ЭМИ в течение 5 минут со средней УПМ 0,12 Вт/кг, с частотами 2,5 – 40 Гц изменяло процент прерванного развития у дрозофил, причём эффект зависел от частоты модуляции (с выраженным уменьшением его при 10 и 16 имп./с), а также от стадии развития организма на момент облучения и от повторности воздействия. Полученные значения эффекта были близки по величине (а при некоторых режимах модуляции существенно больше) эффекту после облучения непрерывным ЭМИ с УПМ в 50 раз больше. Кроме того, зависимость эффектов от частоты модуляции была показана в экспериментах (Bielski J., 1994), где исследовались параметры ЭЭГ рабочих, подвергавшихся воздействию ЭМП двух диапазонов: микроволнового и радиочастотного. В первом случае нарушения выявлялись в ЭЭГ 29 % обследованных – на фоне низкоамплитудного альфа-ритма отмечались периодические вспышки тета-активности. У лиц, подвергавшихся воздействию ЭМП РЧ диапазона, изменения в ЭЭГ были зарегистрированы в 70% случаев. В целом была показана частотная специфичность эффектов ЭМИ на ЭЭГ. Эксперименты с воздействием модулированных ЭМИ показали, что достоверные изменения биоэлектрической активности мозга при однократном воздействии достигаются лишь в том случае, если модулирующая частота приближается к частоте основных ритмов ЭЭГ (от 6 до 16 Гц) (Mickaelson S.M., 1986). Поэтому считается, что частота повторения импульсов является важнейшим биотропным фактором (Adey W.R., 1980, 1981; Большаков М.А., 2000, 2001, 2005; Григорьев

Ю.Г., 1998, 2000). Таким образом, не исключено, что эффекты влияния модулированных ЭМИ могут специфически зависеть и от частоты модуляции.

1.2.1 Чувствительность структур головного мозга к воздействию неионизирующим излучением

К настоящему времени накоплен большой объем данных о влиянии модулированного микроволнового излучения разных частотных диапазонов на структуры головного мозга у объектов разной степени организации. В последние годы появились работы, в которых показано, что при особой организации слабые импульсные ЭМИ способны модулировать биоритмы и состояние мозга (Vorbeley A. Et al., 1999; Лукьянова С.Н. и др., 1996, 1998; Пестряев В.А., 2003; Павлова Л.Н. и др., 2010). В экспериментах на крысах было показано, что при десятидневном облучении 900 МГц ЭМИ с применением частот СВЧ-диапазона в области префронтальной коры, хвостатого ядра, латеральной стороны бледного шара из полосатого тела, зубчатой извилины гиппокампа и коры мозжечка головного мозга (при удельной поглощенной мощности 6 Вт/кг) нарушается глиальное развитие и образуются стойкие активации астроглии и глиозы (Mohamed Ammari et al., 2008). Облучение головы лабораторных животных с низкой интенсивностью электромагнитного излучения в миллиметровом диапазоне с частотой модуляции 42,2 ГГц сопровождалось незначительными сдвигами в импульсной активности нейронов в супраоптических ядрах гипоталамуса (Minasyan S. M. et al., 2007). Кроме этого, происходили перестановки в фоновом режиме ритмов ЭЭГ, что являлось свидетельством неспецифических ответов мозга.

Исследования показали, что под влиянием искусственных электромагнитных полей происходят негативные изменения в процессах высшей нервной деятельности (Холодов Ю.А., 1982, 1992, 1998). Предполагают, что циркуляторные изменения, наблюдаемые при воздействии ЭМИ, обусловлены их

влиянием на функциональное состояние центральных регуляторных аппаратов, в частности, гипоталамуса (Суворов Н.Б. и др., 1990).

Исследования благоприятного воздействия ЭМИ на кортикальные клетки мозга при длительном воздействии демонстрируют нейропротекторный эффект 900 МГц ЭМИ. Авторы предполагают, что полученные данные могут быть потенциально нефармакологической стратегией при лечении болезни Альцгеймера (Arendash G.W., 2009, 2010, 2012; Söderqvist F., 2010). В подтверждение данных работ можно рассмотреть исследование (Terro F., 2012) о благоприятном действии СВЧ излучения (частота 900 МГц) на смешанную культуру кортикальных клеток мозга эмбрионов крыс, где показана устойчивость и улучшение функций нейронов. Показано, что как у трансгенных животных с болезнью Альцгеймера, так и в культуре клеток мозга нейропротекторный эффект связан с изменением функционирования митохондрий при снижении уровня свободных радикалов в тканях мозга. В исследованиях авторов (Shrivastav S., Kaelin V., 1983; Григорьев Ю.Г., 2011) показана связь между воздействием микроволнового излучения и возрастанием количества заболевших лейкемией и опухолями головного мозга. Показано, что под действием ЭМИ СВЧ-диапазона в головном мозге происходит уменьшение количества клеток Пуркинье (Sonmez O.F., Odaci E., 2010).

Исследование длительного (90 дней) воздействия сотового телефона (модель Nokia 3110, частота 900 МГц) на крыс Wistar показало, что в условиях эксперимента происходит увеличение концентрации малатдегидрогеназы в тканях мозга и печени у облученных животных. Приводятся данные о том, что длительное воздействие ЭМП вызывает нарушения поведения, повышение аппетита и увеличение массы тела животных (Dindic B. et al., 2010).

На основании вышеперечисленных исследований, можно сделать вывод, что воздействия с достаточно малой (по средней величине интенсивности) энергии неионизирующих излучений способны приводить к существенным

нарушениям различных физиологических функций в организмах животных и человека, в том числе изменять протекание процессов в ЦНС.

1.2.2 Биологическое действие наносекундного импульсно-периодического микроволнового излучения

В середине 90-х годов были разработаны релятивистские СВЧ генераторы мощных электромагнитных импульсов (Коровин С.Д. и др., 1996; Korovin S.D. et al., 2004; Месяц Г.А., 2004). Они генерируют импульсные излучения в диапазоне несущих частот до 10 ГГц с пиковой мощностью до гигаватта и длительностью импульсов десятки наносекунд в импульсно-периодическом режиме. Характеристиками импульсно-периодического микроволнового излучения (ИПМИ) являются высокие значения пиковой плотности потока мощности (пППМ) (десятки кВт/см² за импульс) при низких средних значениях (не более единиц мВт/см²) за счёт большой скважности (порядка миллиона) и малой длительности импульса. Такое воздействие, как представляется, может быть специфичным из-за очень высокой напряжённости электрического поля, достигающего значений мегавольт на метр. Активное использование и внедрение источников такого излучения требует установления норм и получения знаний о влиянии на живые объекты и окружающую среду. При этом до настоящего времени биологическое действие такого излучения мало исследовано. Однако, уже получены некоторые данные о влиянии ИПМИ на живые объекты. Согласно анализу литературы импульсные излучения КВЧ с большой пиковой мощностью оказывают противовоспалительное действие и при этом не генотоксичны (Chemeris N.K. et al., 2004; Гапеев и др., 2007). ИПМИ влияют на развитие дрозофилы (Большаков М.А. и др., 2001) и на биохимические показатели крови и печени (Bolshakov M.A., 2000, 2005). Кроме того, ИПМИ способны влиять на электрическую активность нейронов гиппокампа и сократительную активность сердечных клеток (Pakhomov A.G. et al., 1998, 2000), ингибировать пролиферацию

опухолевых клеток, в частности клеток мастоцитомы Р-815 (Литвяков Н.В. и др., 2006; Булдаков М.А., 2009), влиять на регенерацию нейрогенных изъязвлений слизистой желудка (Жаркова Л.П. и др., 2010). Было показано, что воздействие ИПМИ сопровождается изменением уровня активных форм кислорода, в частности пероксида водорода и изменением объема митохондрий (Жаркова Л.П. и др., 2010, 2011), изменением клеточного дыхания и степени разобщения окисления и фосфорилирования в этих органеллах (Князева И.Р. и др., 2013), повышением или понижением активности основных ферментов антиоксидантной системы митохондрий печени мышей (супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы) с изменением соотношения их активностей (Большаков М.А. и др., 2012). Как оказалось, эффект воздействия импульсных микроволн нелинейно зависит от частоты повторения импульсов. Это позволяет полагать, что в основе реализации влияния лежат нетепловые механизмы действия и/или локальные перегревы, связанные с неоднородностями биологических тканей (Большаков М.А., 2000). Таким образом, анализ литературных данных показал, что в модулированном и импульсно-модулированном режимах низкоинтенсивные микроволновые воздействия эффективно влияют на биологические объекты разных уровней организации и эффекты такого воздействия зависят от частоты модуляции. Можно предположить, что эффекты воздействия и наносекундного импульсно-периодического микроволнового излучения с низкими значениями средней интенсивности на головной мозг и процессы в ЦНС так же будут зависеть от частоты повторения импульсов.

1.3 Низкодозовые ионизирующие электромагнитные излучения как фактор воздействия на ЦНС

Первая в мире работа, посвященная изучению влияния ионизирующих излучений на центральную нервную систему, была выполнена И.Р. Тархановым в

1896 г. в Биологической лаборатории Петербургского университета спустя несколько месяцев после опубликования открытия X-лучей. Исследователь занимался изучением кожно-гальванического рефлекса, и после общего облучения лягушек наблюдал у них снижение способности реагировать на раствор кислоты. Он писал, что рентгенизация в течение четверти часа оказывает успокоительное действие на лягушек, вызывая резкое уменьшение общей двигательной активности и ослабление рефлексов, по-видимому, связанное с угнетающим действием X-лучей на ЦНС. На основании этих опытов Тарханов первым высказал мысль о возможности применения рентгеновского излучения не только для диагностики, но и для лечения. В 1896 г. Аксенфельд впервые сообщил о том, что различные насекомые и ракообразные, помещенные в необлучаемый конец затемненного ящика, перемещаются в облучаемую часть вскоре после начала воздействия, таким образом, впервые выявив непосредственные поведенческие реакции на облучение (цит. по Нягу А.И., Логановский К.Н., 1997).

По современным представлениям принято считать, что центральная нервная система является органом, относительно устойчивым к действию радиационных излучений (Кудряшов Ю.Б., 2004). Значимое изменение работы мозга можно наблюдать после радиационных воздействий в дозах 20–60 Гр (Нягу А.И., Логановский К.Н., 1997). Тем не менее, в литературе имеются данные о том, что ионизирующие излучения могут изменять деятельность мозга при существенно меньших дозах (менее 5 Гр). В частности, в работе (Martin S. et al., 2001) было установлено, что облучение всего головного мозга низкими однократными дозами в 4,5 Гр значительно изменяло когнитивные возможности, ухудшало память и двигательные функции у мышей. Однако, доза облучения 1,5 Гр не вызывала поведенческих изменений. Общее заключение по проделанной работе, по мнению авторов, состоит в том, что тотальное облучение тела мышей оказывает лишь незначительное влияние на центральную нервную систему. Однако, у животных, подвергшихся влиянию низкоинтенсивного хронического рентгеновского облучения в дозе 0,25 Гр, наблюдалось увеличение общей спонтанной двигательной

активности, рост ориентировочно-исследовательской активности, увеличение эмоциональности и повышение уровня тревожности. В дорсальном гиппокампе и переднем гипоталамусе облученных животных происходило увеличение спектральной мощности во всех диапазонах ЭЭГ, развитие процессов активации в ЦНС (Севериновская Е.В. и др., 2006). В экспериментах на крысах-самцах обнаружены морфофункциональные изменения в новой, старой и древней коре мозга после однократного или фракционированного облучения в дозе 0,2 Гр. При этом во всех указанных отделах ЦНС развивались однотипные морфофункциональные изменения нейронов, которые различались выраженностью реализации в разные моменты времени после облучения (Ушаков Б.Н., Ильичева В.Н., 2012). Выявлено, что когнитивные нарушения после облучения всего головного мозга у крыс связаны с изменениями в субъединицах рецептора N-метил-D-аспарагиновой кислоты, важных для синаптической передачи сигнала. Эти изменения могут произойти в отсутствие дегенерации нейронов (Shi L. et al., 2006, 2008). Другие исследования поведения у мышей предполагают, что нарушения памяти и двигательной активности связаны с церебральным окислительным стрессом (Manda K. et al., 2007) и нарушением гиппокампального нейрогенеза у молодых мышей (Rola R. et al., 2004).

При изучении механизмов воздействия ионизирующих излучений на биологические объекты устойчивость различных тканей принято оценивать по пролиферативной активности их клеток. По этому критерию центральная нервная система является одной из наиболее радиорезистентных. Если же оценивать радиочувствительность относительно нарушений функциональных свойств и электрофизиологической активности, то оказывается, что ЦНС является достаточно чувствительной к действию электромагнитных излучений разного спектра, в том числе и малых доз ионизирующей радиации. Известно, что ионизирующее облучение оказывает множественные эффекты на головной мозг, поведение и когнитивные функции. Первая реакция организма млекопитающего на воздействие ионизирующего излучения очень малых доз (10^{-4} Гр и менее)

наблюдается со стороны ЦНС уже с первой секунды. Она проявляется изменением биоэлектрической активности коры головного мозга (Ливанов М.Н., Кондратьева И.Н., 1959; Мешков Н.А. и др., 1993; Свердлов А.Г. и др., 1989; Цыпин А.Б., Григорьев Ю.Г., 1960). Когда доза облучения делится на две или больше фракции, ее биологическая эффективность, как правило, снижается. Основными двумя факторами, способствующими этому эффекту, являются репарация сублетальных повреждений и замена клеток с летальными повреждениями путем репопуляции. Другие типы внутриклеточной репарации – «потенциально летальные повреждения» и «медленная репарация» – могут также способствовать увеличению выживаемости клеток. Замена клеток может также осуществляться за счет миграции неповрежденных клеток из необлученных участков. В противоположность эффектам внутриклеточной репарации и замены клеток переход клеток выжившей популяции на радиочувствительные стадии клеточного цикла может при определенных условиях повысить цитотоксическую эффективность данной дозы при ее фракционировании (Аклеев А.В., 2014). Реакция ткани на низкодозовое хроническое облучение отражает, таким образом, одновременное развитие повреждения клетки и адаптивных процессов (Rigaud O., Moustacchi E., 1996; Wolff S., 1996). В 50-х годах XX века облучение волосистой головы обширно использовалось в лечении детей 7-8 лет от стригущего лишая. Дозы на головной мозг находились в диапазоне 0,7–1,75 Гр. Было проведено несколько эпидемиологических и функциональных исследований по этому вопросу, чтобы изучить долгосрочные эффекты низкой дозы церебрального облучения на психические функции. В результате долгого периода врачебного наблюдения (в среднем 20 лет) 2215 облученных и 1395 необлученных лиц, которые лечились от стригущего лишая в больнице Нью-Йоркского университета, было выявлено, что число психиатрических расстройств у облученных пациентов было на 40% больше, чем у необлученных (Shore R.E. et al., 1976, 2003).

В исследованиях влияния импульсного ионизирующего излучения установлено, что малые дозы приводят к нарушению функций в разных отделах

головного мозга. Так, при воздействии на человека наносекундных импульсов рентгеновского излучения мощностью до 20 кГр/с и минимальных дозовых нагрузок (до 15×10^{-5} Гр) было выявлено, что даже единичные импульсы способны вызывать «многокомпонентные реакции» в коре головного мозга, преимущественно в лобных долях. При этом в первые несколько секунд после импульсного рентгеновского облучения биоэлектрическая реакция нервных клеток подчиняется тем же закономерностям, что и реакция на раздражающее действие электрического тока. Происходит не только активация спонтанной ритмики, но и вызванная активность и эффективность синаптического проведения. Столь малые воздействия при высокой мощности дозы вызывают у человека десинхронизацию биоэлектрической активности коры и гиперсинхронную активность в гиппокампе и других подкорковых структурах, а также эмоциональное, двигательное и речевое возбуждение. Выраженность и продолжительность таких изменений возрастают с увеличением дозы (Дудкин А.О. и др., 1993; Дутов В.Б. и др., 1989). Однако, эксперименты на больных с тяжелыми формами шизофрении показали, что воздействие импульсного рентгеновского излучения вызывало обратную реакцию: в 50–60% случаев наблюдались выраженный седативный эффект, мышечная релаксация, снижение эмоциональности и наступление сна. Все эти эффекты сохранялись в течение нескольких часов после облучения. В группе здоровых не было выявлено практически никаких изменений в психическом статусе и по результатам спектрального анализа ЭЭГ и вызванных потенциалов. Авторы предположили, что психически здоровые люди достаточно устойчивы к воздействию малых доз импульсного рентгеновского излучения, хотя и не исключали индивидуальных особенностей. Переживания больных шизофренией по выраженности и многообразию довольно точно коррелировали с глубиной поражения психики. Чаще всего больные непосредственно в момент воздействия ощущали «внезапный удар» или неопределенные ощущения «внутри головы», иногда наплывы воспоминаний, кратковременную актуализацию галлюцинаторных переживаний.

Сразу после завершения сеанса практически все больные отмечали исчезновение тревоги, своеобразную «легкость в теле», бодрость, активность. Спектральный анализ ЭЭГ показал, что непосредственно в момент облучения развивается реакция десинхронизации, которая длилась до 20-40 с. Ритмическая стимуляция приводила к частотно-зависимым эффектам в резонансной области спектра. Действие импульсного рентгеновского излучения в динамике сна характеризовалось как слабый раздражитель с некоторыми особенностями: его влияние не осознавалось в фазе засыпания и дремоты. Дутов В.Б. с соавт. (1989) пришли к заключению, что проведенные исследования позволяют считать доказанным наличие стимулирующего воздействия импульсного рентгеновского излучения, где эффект зависит от мощности дозы. Важно отметить, что в случае ритмичного повторения рентгеновских импульсов в малых дозах такое воздействие способно оказывать гипнотический эффект, причем наиболее отчетливо эта тенденция отмечается при частотах до 20 Гц.

Пеймер С.И. с соавт. (1985) показали, что импульсное воздействие ионизирующего излучения оказывает активирующее влияние на механизмы генерации потенциалов действия нейронами. Кроме того известно, что облучение импульсным рентгеновским излучением вызывает морфологические изменения в нервной ткани (Ромоданов А.П., Винницкий О.П., 1993), биохимические изменения в ЦНС (Гамезо Н.В. и др., 1984), угнетение агрессивности у животных (Нягу А.И., Логановский К.Н., 1997).

В исследованиях поведенческих и неврологических реакций на воздействие рентгеновским излучением Даренская Н.Г. (Даренская Н.Г. и др., 1997) не выявили значимого влияния воздействия ионизирующих излучений в дозе 1 Гр на способность крыс к выполнению заученного навыка и к обучению после облучения. Санеблидзе И.О. с соавт. (1989) пришли к заключению, что общее облучение крыс в дозах 3,0–3,5 Гр вызывает угнетение условно-рефлекторной памяти, не нарушая реакции на безусловный раздражитель. При этом же наблюдался выраженный дефицит высшей нервной деятельности, возможно,

связанный с резким усилением реакции страха. Boyle M.O. (1976) в экспериментах на крысах-самцах показал угнетение агрессивности после облучения в дозе 0,96 Гр (цит. по Нягу А.И., Логановский К.Н., 1997). Таким образом, имеющиеся литературные данные демонстрируют возможность реагирования структур ЦНС на воздействия рентгеновского излучения в невысоких дозах.

1.3.1 Структуры мозга, чувствительные к воздействию низкодозового рентгеновского излучения

Существует мнение, что облучение в дозах значительно меньших 0.01 Гр может действовать как раздражитель нервной системы, что подтверждалось регистрацией изменений биоэлектрической активности головного мозга. Вероятно, эти реакции являются результатом прямого возбуждения нейрональных или сенсорных структур (Нягу А.И., Логановский К.Н., 1997). При этом, нейрофизиологические эффекты как результат облучения носят фазный характер. Они заключаются в начальном кратковременном повышении функционального состояния коры, сменяющемся глубоким и длительным его угнетением. Эти сдвиги в функциональном состоянии коры головного мозга широко отражаются во всех органах и тканях облученного организма (Ливанов М.Н., Кондратьева И.Н., 1962). Выяснено, что влияние ионизирующих излучений на периферический нерв вначале вызывает усиление спайковых потенциалов, скорости проведения и возбудимости. В дальнейшем, при продолжении облучения эти эффекты сменяются на противоположные с полной блокадой проводимости, что наиболее выражено в медленно проводящих волокнах в сравнении с быстро проводящими. Аналогичным образом ионизирующие излучения первоначально вызывают возбуждение центральной нервной системы: снижают пороги возникновения вызванных электрографической активности, вовлечения таламуса и спинальных рефлексов, а также повышают судорожную готовность мозга. С другой стороны,

облучение в больших дозах вызывает угнетение рефлексов и активности центральной нервной системы. Фазный характер ответа нервной системы на радиационное воздействие соответствует трем фазам реакции организма на возрастающий стимул, где выделяется 1-я фаза – превентивного торможения; 2-я – стимуляции и 3-я – запредельного торможения (Симонов П.Ф., 1962).

Особую роль в чувствительности вегетативной нервной системы к действию ионизирующих излучений играет гипоталамус. Была высказана гипотеза о чувствительности к ионизирующим излучениям синаптических образований с развитием стойкой деполяризации синаптических мембран и нарушением системы ацетилхолинэстеразы в гипоталамусе (Нягу А.И., Логановский К.Н., 1997).

Достаточно давно Абдуллин Г.З. (1962) рассмотрел сравнительную радиочувствительность различных отделов головного мозга по изменению их функций и пришел к заключению о том, что легче и быстрее при действии ионизирующих излучений изменяются функции средне-мозговых образований. Вегетативные условные рефлексы изменялись более резко и при меньших дозах облучения, чем двигательные условные рефлексы. Автор отметил преимущественное поражение ионизирующими излучениями функций подкорково-стволовых образований головного мозга (гипоталамус, продолговатый мозг). Показано, что рентгеновское излучение в дозах 5, 10, 25 и 50 Р при однократном тотальном воздействии усиливает процессы коркового возбуждения. Стимулирующее действие ионизирующего излучения в дозе 25 Р проявлялось уже в день облучения, а при дозе 5 и 10 Р - на следующие сутки (цит. по Нягу А.И., Логановский К.Н., 1997). При обследовании людей, подвергшихся воздействию ионизирующих излучений в дозах, близких к предельно допустимым, были обнаружены отчетливые изменения условных рефлексов, свидетельствовавших о нарушении подвижности и уравновешенности основных корковых процессов (Ливанов М.Н., Кондратьева И.Н., 1962).

Таким образом, дозы облучения 0.05, 1, 2, 5 и 10 Р при однократном внешнем облучении в ряде случаев являются уже достаточными, чтобы считать возможным обнаружить следовые функциональные изменения в нервной системе.

В экспериментах с односторонним разрушением ретикулярной формации среднего мозга показано, что изменения функционального состояния коры головного мозга зависят от влияний с периферии, реализующихся через неспецифическую активирующую систему головного мозга. При этом, в процесс несомненно вовлекаются вегетативная нервная система и многочисленные гуморальные механизмы. В основном действие ионизирующих излучений сводится к ослаблению нервных процессов с формированием раздражительной слабости.

Григорьев Ю.Г. (1996) в качестве показателя оценки чувствительности центральной нервной системы к ионизирующим излучениям использовал ЭЭГ непосредственно во время облучения. Это впервые дало возможность установить пороговую дозу излучения для оценки функциональной чувствительности нервной системы в условиях непосредственного действия ионизирующих излучений. Суммарная доза, при которой автор обнаружил изменения биопотенциалов мозга для мощности дозы $0.013 \text{ Р} \cdot \text{с}^{-1}$, составляет 0.05 Р, что в 20–50 раз ниже тех доз, которые приводили к устойчивым нарушениям. Было заключено, что биологическое действие ионизирующих излучений по своему существу, по-видимому, можно считать беспороговым, но по форме своего проявления на более высоком биологическом уровне там, где наблюдаются явления компенсации и восстановления, это действие носит вид пороговых ответных реакций.

Дудкин А.О. (1987) после рентгеновского облучения в дозах 6–8 мГр среза гиппокампа крыс наблюдал отчетливые изменения частоты спонтанной импульсной активности. Вывод о непосредственном действии столь малых доз ионизирующих излучений на нейроны был сделан на том основании, что при замещении стандартного инкубационного раствора на раствор без ионов кальция

(при таких условиях нарушается прежде всего синаптическая передача, т.к. для высвобождения медиаторов необходимо вхождение в синапс кальция) динамика реакции на облучение не отличалась от таковой при стандартных условиях. При этом характер реакции нейронов соответствовал тому типу активации гиппокампа, которая характерна для ориентировочного поведения. По мнению Давыдова Б.И. и Ушакова И.Б. (1987), проведенные эксперименты свидетельствуют о том, что радиочувствительность биоэлектрической активности сравнима с радиочувствительностью поведенческих реакций избегания облучения. Wallace R.V. et al. (1981) после рентгеновского облучения в дозе 2 Гр области гиппокампа наблюдали неконкурентноспособность крыс-самцов в так называемых доминантных ситуациях по сравнению с необлученными. При этом было установлено, что в гиппокампе после облучения было на 70% снижено число гранулярных клеток. Однако, в конкурентовании за самок облученные самцы превосходили контрольных (Нягу А.И., Логановский К.Н., 1997). В работах (Давыдов Б.И. и др., 1987) достоверные сдвиги в половом поведении самцов наблюдали лишь после облучения головы в высокой дозе 100 Гр. В то же время в работах (Miyachi Y., Yamada T., 1994) обнаружено, что после общего облучения рентгеновским излучением в дозах 50-150 мГр у мышей наблюдается отчетливая депрессия сексуального поведения. Большие дозы (0.25–0.35 Гр), однако, не вызывали такого эффекта. Облучение головы также вызывало такие реакции, подтверждая существенную роль головного мозга в реализации этого феномена. Авторы показали, что депрессия сексуального поведения наблюдалась у стрессированных мышей, живших в длительной социальной изоляции, тогда как у нестрессированных животных таких реакций не было. Японские исследователи подчеркнули, не смотря на то, что центральная нервная система взрослых обычно рассматривается как исключительно радиорезистентная, представленные результаты четко демонстрируют факт чрезвычайно высокой радиочувствительности головного мозга в отношении психофизиологических изменений (Miyachi Y., Yamada T., 1994).

Таким образом, экспериментальный материал показывает, что к низкодозовому рентгеновскому излучению наиболее чувствительны такие структуры головного мозга, как гипоталамус, кора и ретикулярная формация (Севериновская Е.В. и др., 2006; Нягу А.И., Логановский К.Н., 1997).

1.3.2 Биологическое действие наносекундного импульсно-периодического рентгеновского излучения

В настоящее время существуют источники лазерного (Hayashi Y. et al., 2006; Maltezosopoulos T. et al., 2008), электронного (Даренская Н.Г. и др., 1997), радиочастотного (Adey W.R., 1981; Большаков М.А. и др., 2001; Григорьев Ю.Г., 1996) и ультразвукового излучений (Dromi S., 2007) с импульсно-модулированным режимом генерации. Наряду с этим появились источники наносекундного импульсно-периодического рентгеновского излучения (Артемов К.П. и др., 2004; Соковнин С.Ю., 2008). Исследования разнообразных биологических эффектов, индуцируемых импульсно-модулированным воздействием, до сих пор проводились практически со всеми типами излучений (исключение составляло лишь рентгеновское излучение). Поскольку в США и России есть тенденция к использованию импульсно-периодических излучений, в том числе и рентгеновских, в промышленности, а также в медицине и биотехнологии, актуальным стало понимание механизмов влияния такого рода излучений на биологические системы, в том числе на головной мозг и ЦНС.

Одним из немногочисленных источников ИПРИ является Синус-150, некогерентное тормозное излучение которого производится электронным пучком сильноточного ускорителя и генерируется с частотами повторения от единиц до сотен за секунду, с длительностью импульсов единицы-десятки наносекунд и поглощённой дозой от 10 мкГр до единиц мГр за импульс (Артемов К.П. и др., 2004). Биологические эффекты ИПРИ изучены крайне недостаточно. По-видимому, биологический эффект ИПРИ может быть обусловлен тем, что за

время действия импульса в облучаемом объекте успевают реализоваться физическая и физико-химическая стадии превращений, в результате чего появляются разнообразные активные продукты, ионы и радикалы с широким спектром химических свойств. Последующая, химическая стадия, длящаяся 10^{-6} – 10^{-3} с, протекает во время между импульсами. Именно в этот момент времени ионы и радикалы взаимодействуют друг с другом и окружающими биомолекулами, формируя структурные повреждения различного типа в клетке. В течение экспозиции ИПРИ вышеупомянутые процессы многократно повторяются, тем самым, усиливая появляющиеся структурные изменения в биологическом объекте.

В настоящее время показано, что 5-минутное воздействие наносекундным ИПРИ в диапазоне частот повторения от 3 до 28 имп./с оказывает влияние на развитие дрозофилы, что проявляется в увеличении процента прерывания развития и/или увеличении тератизма (Bolshakov M.A. et al., 2001), изменяет уровень синтеза ДНК и РНК в опухолевых клетках мастоцитомы Р-815 (Litvyakov N.V. et al., 2004) и некоторые биохимические показатели крови крыс, отображающие метаболическую функцию печени (Коровин М.С., 2004). Эксперименты на митохондриях печени мышей показали, что однократное воздействие 4000 импульсов ИПРИ вызывает изменение импедансных характеристик и оптической плотности суспензии митохондрий, отображающих изменение их функционального состояния (Жаркова Л.П. и др., 2011). Помимо этого, наблюдалось изменение уровня активных форм кислорода и изменение активности и соотношения активностей ферментов антиоксидантной защиты, причем наибольший эффект наблюдался в изменении активности металлсодержащих ферментов супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы (Большаков М.А. и др., 2012; Князева И.Р. и др., 2013). Эффекты воздействия зависели от величины поглощённой дозы излучения и от частоты повторения импульсов от 3 до 30 Гц.

Таким образом, анализ литературных данных о биологическом действии низкодозового ионизирующего наносекундного импульсно-периодического электромагнитного излучения показал его высокую биологическую эффективность. Это является основанием для проведения дальнейших экспериментов с целью установления закономерностей биологического действия этих излучений на головной мозг и процессы в центральной нервной системе.

1.4 Проблема регистрации нейрофизиологических эффектов на воздействие импульсно-периодическими электромагнитными излучениями

Информационная деятельность мозга, обеспечивающая контроль над всеми системами организма, отображается электрическими сигналами, которые регистрируются в виде ЭЭГ мозга или электрической активности отдельных нейронов. Однако, в условиях воздействия импульсного электромагнитного поля не всегда возможна корректная регистрация электрических потенциалов, поскольку в этих условиях существует опасность появления артефактных эффектов. Во избежание появления артефактов, таких как концентрация электрического поля в области электродов, детектирование огибающей модулированных сигналов ЭМИ, могущих изменять электрическую активность вследствие прямой электрической стимуляции, а не влиянием ЭМИ, разработаны специальные методики безартефактной регистрации (Tyazhelov V.V. et al., 1977). Эти методики используют специальные отводящие стеклянные электроды, с напылённым тонким слоем платины, «невидимым» для ЭМ поля. С помощью гибких пластиковых трубочек, заполненных электролитом, близким по электрическим свойствам тканевой жидкости, через специальные диссипативные фильтры электроды соединяются со входами электронных устройств, регистрирующих биопотенциалы. Такая сложная конструкция позволяет: а) избежать искажения внешнего поля; б) появления наводок в регистрирующей аппаратуре, и, соответственно, устраняет неконтролируемые артефактные

воздействия. Использование такой методики приемлемо для крупных животных (обезьяны, собаки, кролики, кошки), а также для модельных систем, типа ЦНС беспозвоночных (Большаков М.А. и др., 1992) и срезов мозга или клеточных культур животных (Захарова Н.М., 1998), но абсолютно неприемлемо для использования у мелких лабораторных животных – крыс и мышей. По схожим причинам, а также из-за опасности повреждения регистрирующей аппаратуры, невозможно использование регистрации биопотенциалов мозга в условиях действия импульсного рентгеновского излучения. Поэтому становятся востребованными другие подходы для изучения деятельности мозга. В частности, это регистрация поведенческих реакций по методике «Открытое поле» в различных вариантах, и варианты регистрации общей двигательной активности. Такие методики, как следует из литературы (Габай И.А. и др., 2011; Куликов А.В., Куликов В.А., 2009, Суханов Д.Я. и др., 2010), оказались достаточно информативными при изучении действия различных факторов на головной мозг и процессы в центральной нервной системе.

1.4.1 Поведенческие реакции как индикаторы на электромагнитное воздействие

Впервые метод оценки поведения лабораторных животных в «Открытом поле» был предложен Холлом в 1934 г. (Hall C.S., 1934). Данный подход основывался на наблюдении в течение определенного времени за перемещениями крысы, помещенной в круглый манеж. Животные в разном психоэмоциональном состоянии демонстрировали различный характер передвижений, на основании которого делали вывод о степени и направленности того или иного воздействия (Габай И.А. и др., 2011). Тест позволял оценить выраженность и динамику элементарных поведенческих актов у грызунов в стрессогенных условиях, возникающих в ответ на помещение лабораторного животного в установку, имеющую большую площадь и интенсивность освещения, чем бокс его

повседневного содержания. В данной методике, как правило, оцениваются следующие показатели: горизонтальная двигательная активность, ориентировочная активность, исследовательская активность, эмоциональный статус. Эмоциональный статус оценивается по таким критериям как, косметическая активность (короткий и длительный груминг) и количество уринаций и дефекаций. Тест позволяет оценить выраженность и динамику отдельных поведенческих элементов, уровень эмоционально-поведенческой реактивности животного («седацию-ажитацию»), привыкание, симптомы неврологического дефицита, локомоторную стереотипию, двигательную активность, исследовательскую активность, эмоциональное состояние. Метод исследования поведенческой активности на установке «Открытое поле» является одним из самых популярных тестов в биологии поведения (Brudzynski S.M., Krol S., 1997; Calatayud F. et al., 2004; Draï D. et al., 2000, 2001). Установлено, что горизонтальная двигательная активность лабораторных животных в открытом поле является важнейшим показателем степени нервно-психического возбуждения. Интенсивность передвижения животного в манеже зависит от действия различных факторов стресса в сочетании с естественной исследовательской активностью и используется для диагностики функционального состояния нервной системы при воздействии экспериментальных факторов. Показано, что показатели двигательной активности коррелируют с результатами других поведенческих тестов (Мельников А.В. и др., 2004). В частности, такой подход успешно был использован при изучении эффектов действия различных электромагнитных полей и излучений. Было проведено исследование о влиянии персонального компьютера на психоэмоциональный статус крыс (Габай И.А. и др., 2011). Клетки с животными находились на расстоянии 15 см от круглосуточно работающего ноутбука, генерирующего пространство 1,5 ГГц непрерывно в течение 16 суток. С помощью метода «Открытое поле» был установлен угнетающий эффект воздействия электромагнитного излучения персонального компьютера на

психоэмоциональный статус белых лабораторных крыс, выражающийся в снижении двигательной активности и преобладании защитного поведения над исследовательским (Габай И.А. и др., 2011).

В последнее время большое распространение в изучении поведения и пространственного перемещения животных получили автоматизированные системы цифрового видео, что способствовало увеличению точности и объективности измерения двигательной активности (Куликов А.В., Куликов В.А., 2009, Суханов Д.Я. и др., 2010). В экспериментах с ЭМИ GSM диапазона (излучение с частотой 915 МГц, мощностью 2 Вт, SAR 1.67 Вт/кг) проводили исследование отдельных поведенческих реакций с записью на видеокамеру, а также оценивали метаболизм ГАМК. По данным видеозаписей установлено «тотальное обеднение» структуры поведенческой активности и малоактивное, спокойное состояние животных. В исследовании влияния ослабления геомагнитного поля на агрессивное поведение крыс с помощью круглосуточной видеосъемки установлены изменения в общей двигательной активности крыс в условиях гипомагнитной среды, увеличение числа агрессивных взаимодействий у крыс (Ходанович М.Ю. и др., 2013).

1.4.2 Иммуногистохимическая оценка нейрональной активации в структурах мозга с помощью белков раннего ответа c-fos

При регистрации и изучении поведенческих реакций как форм, косвенно отражающих мозговую деятельность и нейрофизиологические процессы, важно идентифицировать участки мозга, ответственные за это и способные изменять свое функциональное состояние. Наиболее эффективным методом установления морфофункциональных изменений в головном мозге после облучения является иммуногистохимический метод. Использование иммуногистохимического метода распространено в качестве средства для идентификации функциональности нервных клеток, которые являются частью специфических структур в нервной

системе (Кузнецов С.Л., Афанасьев М.А., 2013). Он включает в себя комплекс методик диагностики, основанных на микроскопировании меченых одним или несколькими специальными маркерами срезов тканей, в частности, головного мозга. Осуществление высокоспецифичной иммунной реакции антиген-антитело (АГ-АТ) в срезах тканей сопровождается цветной реакцией, видимой в световой микроскоп, либо флуоресценцией в ультрафиолетовом диапазоне. Ответ нервной клетки на внешнюю стимуляцию какими-либо физическими факторами может проявляться путем активации нейронов посредством передачи нервных сигналов по аксонам или активации внутриклеточных белковых сигнальных каскадов. Для регуляции этих каскадов на генном уровне требуется вовлечение факторов транскрипции белков, и одними из этих факторов являются белковые продукты немедленных ранних генов (Абелев Г.И., 1998). Регуляция некоторых физиологических функций – важная роль, отводимая раннему гену *c-fos*, поэтому было предположено, что индукция гена *c-fos* может выступать как маркер физиологической активности, в том числе и электрической (Bullitt E., 1990). Именно поэтому ген *c-fos* стал активно использоваться для картирования головного мозга в качестве биологического зонда (Анохин К.В., 1989; Сварник О.Е. и др., 2001). Результаты исследований показали, что активация генов раннего реагирования (*c-jun*, *c-fos*) рассматривается как один из основных сохранившихся в эволюции компонентов нейронального ответа на повреждение. *C-fos* был одним из первых генов, участвующих в передаче сигналов регуляции клеточного роста и трансформации. Он вовлечен во множество клеточных функций, в том числе в процессы клеточной пролиферации и дифференцировки (Губский Ю.И. и др., 2008). Ген раннего реагирования *c-fos* активируется при самых разнообразных влияниях на нервную клетку. Многочисленные экспериментальные исследования показали, что ген *c-fos* не реагирует на очень сильную стимуляцию, например световую, звуковую или болевую в тех случаях, когда воздействие не несет в себе элементов новизны. Но как только ситуация обогащается новой информацией, ген «просыпается». Гиперэкспрессия гена *c-fos*, приводит к значительному

повышению в клетке содержания белка c-fos, который непосредственно участвует в процессе фрагментации ДНК и иницировании процессов апоптотической гибели клетки. Характер и скорость экспрессии гена определяет дальнейшую судьбу нейрона: либо в нем будут активироваться трансляционные, транскрипционные процессы, синтез пластических материалов, созревания, трансляции и синтез белков, направленных на мобилизацию адаптационных механизмов (Кузнецов С.Л., Афанасьев М.А., 2013), либо он апоптотически погибнет (гиперэкспрессия) (Губский Ю.И. и др., 2008). В связи с этим, распространение получило изучение экспрессии белка раннего реагирования c-fos как маркера нейрональной активности в структурах мозга при воздействии на организм какого-либо фактора. Белок c-fos является продуктом протоонкогена c-fos и признанным маркером активации нейронов. В спокойном состоянии клетки он показывает небольшой фоновый уровень активности, но его активность повышается в ответ на какие-либо новые информационные процессы, причем экспрессия c-fos наблюдается в разных отделах центральной нервной системы (Dragunow M., Faull R., 1989; Sheng M., Greenberg M.E., 1990; Vanelzakker M., 2008; Губский Ю.И. и др., 2008; Сварник О.Е. и др., 2001). Белок раннего реагирования c-fos быстро, однако, временно активируется в ответ на воздействия самого широкого спектра (Губский Ю.И. и др., 2008), в том числе при электрической активности нейронов, например, генерацию потенциалов действия (Vanelzakker M., 2008). Была продемонстрирована индукция синтеза c-fos мРНК (двукратное увеличение c-fos позитивных нейронов в сравнении с интактным контролем) уже после 4 ч ротационного стресса в клетках стриатума, зрительных бугров, гипоталамуса и моторной зоны коры полушарий (Барабанова С.В. и др., 1998). Кроме того, показано, что у предрасположенных к эмоциональному стрессу животных максимальная экспрессия белка c-fos отмечалась в коре полушарий, миндалине, обонятельных структурах гипоталамуса и стволовом отделе мозга (Судаков К.В., 1998; Babaei P., Sudakov K.V., 1998). В свою очередь, у животных, резистентных к эмоциональному стрессу, в аналогичных условиях эксперимента

экспрессия данного белка выявлялась лишь в инфралимбической коре и обонятельных ядрах (Судаков К.В., Умрюхин П.Е., 2001). В одной из работ для *c-fos* была описана более специфичная отсроченная экспрессия, которая чаще связана с развитием патологического процесса, наблюдаемого при повреждающих и стрессорных воздействиях, и может приводить к запуску апоптоза (Mohammadi S. et al., 2009). В исследовании *c-fos* после микроволновой экспозиции (Carballo-Quintas M. et al., 2011), была показана увеличенная экспрессия *c-fos* спустя 1,5 ч после воздействия на лабораторных животных излучением 900 мГц в области неокортекса и палеокортекса и крайне низкая – в проекции гиппокампа, что навело учёных на мысль о том, что *c-fos* (а также исследуемые в этом эксперименте глиальные маркеры) вызваны комбинированным стрессом нетеплового излучения на мозговую ткань. В исследовании влияния длительного ослабления геомагнитного поля на агрессивное поведение лабораторных крыс, а также общую нейрональную активацию различных структур мозга по белкам *c-fos* было обнаружено повышение агрессивности животных. Анализ срезов мозга показал уменьшение числа активных, т.е. экспрессирующих *c-fos* опиоидергических нейронов под влиянием исследуемого фактора (Ходанович М.Ю. и др., 2013).

Поскольку, как следует из приведенных литературных данных (Tyazhelov V.V. et al., 1977), прямая регистрация электрической активности мозга во время воздействия электромагнитных и ионизирующих излучений не всегда возможна или существенно затруднена, для изучения деятельности мозга в таких условиях удобнее использовать поведенческие тесты с дополнительной идентификацией мозговых структур, ответственных за наблюдаемые эффекты. Поэтому, использование белка раннего реагирования *c-fos* как маркера нейрональной активности в структурах мозга при воздействии на организм какого-либо фактора может способствовать выявлению зон в головном мозге, ответственных за реакцию на электромагнитные воздействия, в том числе импульсно-периодические микроволновое и рентгеновское (ИПМИ и ИПРИ).

1.5 Жировая ткань как объект электромагнитного воздействия и её участие в деятельности головного мозга

1.5.1 Поглощение жировой тканью энергии неионизирующих и ионизирующих излучений

Влияние ЭМИ на биологические объекты во многом определяется степенью проникновения энергии излучения внутрь организма. Решая задачу оценки степени поглощения энергии ЭМИ, Х.П. Шван (Schwan H.P., 1981, 1983) исходил из того, что поглощаемая часть излучения проходит последовательно через кожу, подкожный жировой слой с малым содержанием воды в более глубоко расположенные ткани с высоким содержанием воды. Существенно различающиеся по электрическим свойствам кожа, подкожная жировая ткань и мышцы формируют достаточно сложную картину проникновения ЭМИ в организм. При этом жировая ткань играет роль некоего пассивного элемента, позволяющего, в зависимости от несущей частоты электромагнитного излучения и толщины жировой ткани, пропускать внутрь организма большую или меньшую часть энергии. В частности, для частоты 10 ГГц глубина проникновения энергии ЭМИ в жировую ткань варьирует в пределах 2–4 см. По мнению Ю.Б. Кудряшова с соавт. (2008) такая сравнительно большая глубина проникновения излучения через жировую клетчатку позволяет ЭМИ достигать более глубоко расположенных тканей и органов и влиять на их состояние. При этом в самой жировой ткани поглощается и преобразуется в тепло до 35% электромагнитной энергии. В подобных обстоятельствах сама жировая ткань реально подвергается воздействию ЭМИ и результаты этого могут оказаться для организма функционально значимыми. Исходя из того обстоятельства, что энергия ЭМИ эффективно поглощается жировой тканью, представлялось актуальным исследовать влияние на нее наносекундного импульсно-периодического микроволнового излучения. Априори не исключено, что жировая ткань реагирует на воздействие. Результат возможного влияния должен проявиться в широком

спектре реакций всего организма. Эпидидимальная жировая ткань является одним из часто используемых модельных объектов у лабораторных животных при изучении различных свойств жировой ткани, так как составляет существенную часть от всей жировой ткани ($45\pm 3\%$) (Komarek V., 2004) и доступна для точного взвешивания из-за легкости извлечения. Морфология этой части жирового депо является более однородной, чем, например, паховый жир, который содержит много бурой жировой ткани. Поверхностная локализация эпидидимального жира, благодаря его прямой доступности для облучения и поглощения микроволновой энергии, обеспечивает очевидное преимущество при изучении реакций облученной ЭМИ жировой ткани. В доступной литературе не удалось обнаружить данных о влиянии ЭМИ на биологические характеристики жировой ткани, поскольку такие исследования не проводились. Это и определило необходимость изучения биологических эффектов связанных с состоянием жировой ткани.

1.5.2 Энергетическая, нейроэндокринная и сигнальная функции жировой ткани

Жировая ткань представляет собой важнейший источник энергии в организме. Энергетическая роль клеток жировой ткани – адипоцитов заключается в запасании триацилглицеридов в периоды избытка поступления калорий и в мобилизации этого запаса в те периоды, когда расход превышает потребление (Ramsay T.G., 1996; Jensen M.D., 1997; Чубриева С.Ю. и др., 2008). Адипоциты имеют уникальные структуры, созданные для выполнения этих функций. Они обладают полным набором ферментов и регуляторных белков, которые необходимы для выполнения липолиза и липогенеза *de novo*. В жировых клетках регулирование данных процессов находится под непосредственным влиянием гормонов, цитокинов и других факторов, которые участвуют в метаболизме энергии. Адипоциты приобрели способность осуществлять свои функции в ходе

эмбрионального развития в процессе подготовки к послеродовому периоду, когда начинает использоваться запас энергии жиров.

Ранее полагали, что жировая ткань представляет собой лишь пассивную ткань для хранения дополнительной энергии. Однако относительно недавно выяснилось, что жировая ткань может выполнять еще одну функцию, как нейроэндокринный орган, оказывая влияние на информационную деятельность ЦНС (Fruhbeck G. et al., 2001). Пути передачи нейроэндокринных сигналов, обусловленных деятельностью жировой ткани, сформированные по иерархическому принципу, являются важным механизмом, который позволяет организму приспосабливаться к различным неблагоприятным условиям: голоду, стрессу, инфекциям, а также к периодам значительного избытка поступления энергии с пищевыми субстратами (Cornelius P. et al., 2004; Hotamisligil G.S. et al., 1993). По современным представлениям, в белой жировой ткани синтезируется большое количество сигнальных веществ, а именно, фактор некроза опухоли- α (Hotamisligil G.S. et al., 1993), интерлейкин-6 (IL-6) (Yudkin J.S. et al., 2000), интерлейкин-8 (IL-8) (Bruun J.M. et al., 2004), соответствующие растворимые рецепторы и гормон лептин. Белая жировая ткань также секретирует важные регуляторы метаболизма липопротеинов, такие как липопротеинлипаза (LPL), аполипопротеин E (apoE) и белок-переносчик эфира холестерина (СЕТР). Среди постоянно растущего числа вновь открываемых веществ, секретируемых адипоцитами, также можно назвать ангиотензиноген, ангиотензин-II (Engeli S., Sharma A.M., 2000). Из белой жировой ткани крысы была выделена синтетаза окиси азота (NOS), и это указывает на то, что адипоциты являются потенциальным источником NO (Ribiere C. et al., 1996). К. Andersson (1999) (Andersson K. et al., 1999) был опубликован экспериментальный материал, о том, что NO участвует в липолизе как у крысы, так и у человека.

Таким образом, белая жировая ткань, находясь в центре сети аутокринных, паракринных и эндокринных сигнальных веществ, может влиять на функцию других органов, секретируя большое количество веществ, обладающих

различным биологическим действием. С помощью сети местных и системных сигнальных структур, которые взаимодействуют с нейроэндокринными регуляторами, пути передачи сигналов в жировой ткани, являются важным механизмом, который позволяет организму приспосабливаться к различным условиям. Реакция жировой ткани на воздействие наносекундного ИПМИ может обеспечивать соответствующее изменение состояния всего организма. Воздействие на клетки жировой ткани будет опосредованно проявлять себя в тех или иных откликах других тканей и органов, в том числе и головного мозга. По-видимому, изменение состояния жировой ткани может оказать влияние на секрецию различных сигнальных веществ, которые связываясь с рецепторами в структурах головного мозга, информируют центральную нервную систему о состоянии энергетического статуса в организме и могут оказывать на него модулирующее влияние.

1.5.3 Размеры адипоцитов как индикатор электромагнитного воздействия

Основным показателем, по которому можно судить о состоянии жировой ткани могут быть ее масса и линейные размеры адипоцитов. Такой подход обеспечивает наглядность и простоту наблюдения за изменениями, происходящими с клетками в результате воздействия на ткань внешних факторов, в том числе, электромагнитных (Jo J. et al., 2009; Poglio S. et al., 2009). Было показано (Jo J. et al., 2009), что размеры адипоцитов являются важным фактором в продукции и секреции адипокинов. При этом известно и очевидно, что изменение распределения жировых клеток по размерам тесно связано с изменением массы жировой ткани (Пономарева Е.Г. и др., 2012). В исследованиях возрастных изменений у людей показано, что снижение массы жировой ткани не является следствием редукции числа клеток жировой ткани, так как найденные в ней стромальные клетки (Gregoire F.M. et al., 1998) сохраняют свой пролиферативный

потенциал. У людей старшего возраста во всех жировых депо количество преадипоцитов не снижается, так что баланс между пролиферацией и апоптозом не нарушается. Основная причина наблюдаемых возрастных изменений – уменьшение размеров адипоцитов [Kirkland J.L., Dobson D.E., 1997]. Адипоциты утрачивают способность к липолизу, а вместе с этим и способность аккумулировать триглицериды. Такое наблюдение позволяет предположить, что в результате возрастных или каких-либо морфофункциональных изменений может происходить накопление в жировой ткани преадипоцитов, то есть незрелых клеток, неспособных выполнять нормальную функцию специализированной клетки. Действительно, преадипоциты, изъятые у старых животных и человека, не способны дифференцироваться *in vitro* в зрелые адипоциты и аккумулировать жир, так как в этих клетках отсутствует экспрессия факторов транскрипции, необходимых для прохождения терминальной стадии дифференциации (Kirkland J.L. et al., 2002). Известно, что гормон лептин активирует β -окисление ЖК в митохондриях всех адипоцитов. При резистентности к лептину клетка перестает утилизировать жирные кислоты в достаточных количествах и образуется «избыток» этого энергетического субстрата в организме. Ответной реакцией на увеличение уровня свободных жирных кислот в крови является прекращение липолиза в жировой ткани и секреции жирных кислот в кровь. Триглицериды аккумулируются в адипоцитах в возрастающих количествах, при этом резистентность к лептину развивается постепенно, а вслед за этим разрастается жировая ткань, достигая максимально допустимого физиологического уровня. В жировой ткани возрастает число незрелых адипоцитов, не имеющих ферментных систем для аккумулирования триглицеридов и для мобилизации депонированного жира (Kirkland J.L. et al., 2002). Вместо жировой ткани жирные кислоты поступают в нежировые ткани, где образуют внутриклеточные скопления триглицеридов. Такие клетки не имеют ферментных систем мобилизации внутриклеточных жировых включений, поэтому жирные кислоты начинают окисляться не в митохондриях, а в пероксисомах, в результате чего образуется

большое количество продуктов недостаточного окисления жирных кислот и возрастает угроза липотоксичности. Именно накопление продуктов окисления в пероксисомах в разных тканях, которое обнаружено в многочисленных исследованиях, послужило основанием для создания свободнорадикальной теории старения. Однако, экспериментальные данные, полученные в последние годы, свидетельствуют, что образование большого количества продуктов перекисного окисления липидов является следствием необратимой резистентности к лептину и последующей дисфункции жировой ткани (Kirkland J.L. et al., 2002). Кроме того, вышеперечисленные изменения и распределение адипоцитов по размерам может отображать функциональное состояние жировой ткани за счет изменения окислительного гомеостаза в клетках посредством облучения (Pogliu S. et al., 2009). Это коррелирует с ранее полученными результатами, когда после облучения ИПМИ и ИПРИ наблюдались процессы окислительной модификации липидов и белков в тканях мышей (Большаков М.А. и др., 2012; Жаркова Л.П. 2010; Князева И.Р. и др., 2013).

1.5.4 Гормон лептин и его роль в жировом обмене

Значимость гормона лептина в регуляции жирового и энергетического обмена в нормальных условиях и при нарушениях не вызывает сомнений. Этот гормон отнесен к числу важнейших (долгосрочных) регуляторов энергетического обмена (Schwartz M.W., 1997; Романцова Т.И., Волкова Г.Е., 2005). Лептин производится в основном в адипоцитах белой жировой ткани, которые секретируют синтезируемый ими гормон в кровь. Основным органом-мишенью лептина является центральная нервная система, через воздействие на которую лептин снижает аппетит, стимулирует использование липидов в энергетическом обмене и уменьшает запасы жира в жировых депо. Рецепторы лептина расположены в основном в ядрах гипоталамуса (Зинченко В.П., 2007). В головном мозге лептиновые рецепторы расположены главным образом в аркуатном ядре и

вентромедиальном гипоталамусе, где находятся центры голода, насыщения и терморегуляции. Подавление аппетита и увеличение энергетических затрат лептином осуществляется через снижение продукции нейрпептида-У в аркуатном ядре гипоталамуса. Выявлено прямое действие лептина на вкусовые клетки, приводящее к торможению пищевого поведения. Лептиновые рецепторы также обнаружены в периферических тканях: печени, поджелудочной железе, яичниках, эндометрии, трофобласте плаценты. При ожирении предполагается существование относительной резистентности гипоталамуса к центральному действию лептина (цит. по Чубриева С.Ю. и др., 2008). В результате этого по механизму отрицательной обратной связи уровень лептина в крови повышается. Однако действие лептина на периферические ткани сохраняется, в связи с чем, было выдвинуто предположение о существовании селективной лептинорезистентности. Лептин представляет собой не только центральный регулятор массы жира в организме, функционирующий путем снижения количества потребляемой пищи и увеличения расхода энергии. Он может быть вовлечен в индукцию резистентности к инсулину, возможно через периферические механизмы действия. Предполагается существование комплекса взаимодействий между сигнальными путями лептина и инсулина, которые могут приводить к модификации метаболических эффектов инсулина, осуществляющихся через субстраты инсулинового рецептора (IRS-1 и IRS-2). Фактически, лептин может действовать через некоторые компоненты сигнального каскада инсулина, типа IRS-1 и IRS-2, PI-3-киназы и MAP-киназы (митоген-активированной протеинкиназы), и может изменять вызванную инсулином экспрессию генов *in vitro* и *in vivo* (цит. по Чубриева С.Ю. и др., 2008).

Предположительно, лептин играет определенную роль в формировании психических расстройств. У пациентов с депрессией и шизофренией отмечается низкий уровень лептина даже при нормальном весе, что может являться одной из причин ажитированных состояний, которые часто испытывают пациенты с шизофренией (Романцова Т.И., Волкова Г.Е., 2005).

Играя сигнальную роль, лептин постоянно информирует центральную нервную систему о состоянии энергетического статуса в организме и может оказывать на него модулирующее влияние, в том числе способствующее снижению количества жировой ткани. В исследованиях как *in vitro*, так и *in vivo* было обнаружено, что лептин обладает свойствами фактора роста, а именно, стимулирует ангиогенез, пролиферацию клеток гематопоза и панкреатических β -клеток путем фосфорилирования митоген-активированной протеинкиназы, т. е. по тому же механизму, что и инсулин. Посредством подавления продукции нейропептида-У в аркуатном ядре гипоталамуса лептин оказывает стимулирующее действие на секрецию гормона роста гипофизом. В результате при ожирении вследствие центральной резистентности к лептину уровень гормона роста оказывается сниженным (Романцова Т.И., Волкова Г.Е., 2005; Чубриева С.Ю. и др., 2008). Хроническое введение экзогенного лептина способствует окислению глюкозы с сохранением запасов гликогена с одновременной стимуляцией окисления жирных кислот и подавлением накопления триглицеридов жировой ткани (Schwartz M.W., 1997). Была отмечена способность лептина стимулировать клеточный иммунный ответ с увеличением продукции провоспалительных цитокинов. В головном мозге были обнаружены синапсы нейронов, вырабатывающих нейропептид-У с нейронами, вырабатывающими тиролиберин. Предполагается, что через данный механизм лептин стимулирует высвобождение тиролиберина с увеличением уровня тироидных гормонов в циркуляции, приводящим к росту энергетических затрат. Прямого влияния гормонов щитовидной железы на секрецию лептина обнаружено не было (Шварц М.В., 2009). Низкая концентрация лептина при гипертироидных состояниях может быть обусловлена снижением массы тела и опосредована активацией симпатического отдела нервной системы (Jenkins A.B. et al., 1997).

В последнее время сложилось четкое представление о том, что такие структуры, как префронтальная кора и гиппокамп, выступают в качестве

регуляторов энергетического баланса, способных воспринимать и перекодировать метаболические сигналы в программы, обуславливающие адаптивные поведенческие ответы. Высказывается предположение, что гиппокамп может быть вовлечен в функциональную систему, задающую уровень проявления гормональных ответов организма. По некоторым данным, нарушение гиппокампа приводит к расстройству пищевого поведения и нечувствительности в отношении сигналов голода и насыщения как у животных, так и у людей (Серкова В.В. и др., 2014). В исследованиях по влиянию ионизирующих излучений на дисгормональные нарушения не обнаружено прямой дозовой зависимости эффекта и при этом имеет место низкий уровень пороговой дозы 0.01–0.1 Гр. Эндокринные нарушения возникают в результате опосредованных и непрямых механизмов действия ионизирующих излучений. Пусковым механизмом служит начальное лучевое угнетение, повреждение функции и структуры половых желез, щитовидной железы и надпочечников. Изменения наблюдаются во всех эндокринных железах (Журавлев В.Ф., 1990).

Есть данные, что лица, перенесшие злокачественные образования в детстве, особенно лейкозы и опухоли мозга, подвергаются риску ожирения во взрослой жизни. Дети, которые получали краниальное облучение (18–24 Гр фракционированными дозами) как часть лечения острой лимфоцитарной лейкемии, имеют повышенный индекс массы тела по сравнению со своими сверстниками и подвержены риску ожирения во взрослой жизни (Reilly J.J. et al., 2000; Sklar C.A. et al., 2000). Одним из факторов может быть повреждение и изменение функционального состояния гипоталамуса, включающее гиперинсулинизм и измененную чувствительность к лептину (Cohen L.E., 2003).

Таким образом, жировой и энергетический обмен являются объективными индикаторами изменения состояния организма, как при различных функциональных расстройствах, так и после воздействия физических факторов. Поэтому влияния ИП ЭМИ на головной мозг и жировую ткань также могут найти отражение в метаболических реакциях организма мышей.

1.6 Стресс как одна из реакций организма на электромагнитное воздействие

1.6.1 Стресс на воздействия электромагнитными неионизирующим и ионизирующим излучениями

Целый ряд экспериментальных данных демонстрирует наличие изменения содержания гормонов гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы после облучения лабораторных животных (крыс, собак) электромагнитными излучениями с низкими средними уровнями интенсивностей (Давыдов Б.И. и др., 1984). В исследованиях, направленных на изучение влияния низкочастотных магнитных полей при воздействии на эндокринные органы выявлено достоверное увеличение содержания кортикостерона в сыворотке крови крыс при воздействии на область надпочечников. Эффект глюкокортикоидной активности надпочечников крыс имеет нелинейный характер зависимости от величины индукции действующего переменного магнитного поля. Эксперименты с облучением крыс низкоинтенсивным ЭМИ сантиметрового диапазона продемонстрировали повышение уровня кортикостерона в сыворотке крови (Алабовский В.В. и др., 2013). Имеются данные о наличии рецепторов к кортикостерону в структурах головного мозга, участвующих в формировании определенных паттернов поведения, которые составляют общий поведенческий ответ при адаптации организма (Donovan В.Т., 1987). Известно, что нейромодуляторные эффекты гормонов являются основой интеграции нервных и гормональных механизмов формирования адаптивного поведения при стрессе (Северьянова Л.А., 1988). Известно, что кортикостерон оказывает модулирующее влияние на все стадии обмена медиаторов: синтез, секрецию и их реабсорбцию в головном мозге (Емельянов Н.А., Герасимова И.А., 1990). Животные с низким уровнем кортикостероидов в крови демонстрируют меньшую двигательную активность (Маркель А.Л., 1981). В экспериментах с облучением электромагнитным излучением GSM диапазона (излучение с частотой 915 МГц, мощностью 2 Вт, SAR 1.67 Вт/кг) проводили исследование отдельных

поведенческих реакций с записью на видеокамеру, а также оценивали метаболизм γ -аминомасляной кислоты. По данным видеозаписей, было установлено «тотальное обеднение» структуры поведенческой активности и малоактивное, спокойное состояние животных. Также обнаружено снижение уровня кортикостерона в плазме крови после облучения. Воздействие ЭМП в диапазоне сотовой связи (900 МГц) не оказывало влияния на уровень тиреоидных гормонов, в то время как содержание кортикостерона у облученных животных снижалось в начальный период после воздействия, а также на 14-е сутки и повышалось к 28-м суткам. Также обнаружено снижение уровня кортикостерона в плазме крови после облучения ЭМИ GSM диапазона (излучение с частотой 915 МГц, мощностью 2 Вт, SAR 1.67 Вт/кг) (Байжуманов А.А. и др., 2009). Что касается исследования влияния ионизирующих излучений, то по имеющимся литературным данным, только после облучения рентгеновским излучением в дозах 4.5 Гр и более у мышей развивался окислительный стресс (Гулик Е.С., Костеша Н.Я., 2004). В других исследованиях установлено, что при однократном остром γ -облучении в дозе 1 Гр, выполненного на крысах-самках, концентрация кортикостерона снижалась на 70% на 10 сутки после сочетанного облучения на фоне снижения концентрации рецепторов глюкокортикоидов в цитозоле печени крыс (Ладутько Е.И., 2000).

1.6.2 Кортикостерон как индикатор стресса

Процесс адаптации к различным повреждающим факторам-стрессорам в организме осуществляется на всех уровнях интеграции – от молекулярного и клеточного до системного. Своё регулирующее действие на ткани, органы и системы организма эндокринная система осуществляет за счет синтеза, секреции, транспорта и воздействия на клетки-мишени гормонов. В ответ на действие экстремальных факторов различной природы отмечается комплекс гормональных и метаболических изменений, характерных для общего адаптационного синдрома.

При этом изменения метаболизма опосредованы первичными нейроэндокринными реакциями (Игнатов А.А. и др., 2007).

Гормоны глюкокортикоиды, к которым, в частности, относятся кортизол (у человека) и кортикостерон (у грызунов), в первую очередь вовлекаются в процессы изменения функционального состояния организма под действием стрессирующего фактора. Они являются универсальными регуляторами метаболизма, производящими в организме человека и животных переключение пластических процессов на энергетические. Установлено, что ускорение глюконеогенеза в печени под влиянием глюкокортикоидов обуславливает значительно меньшую потерю гликогена (Лушникова Е.Л. и др., 2009). Глюкокортикоиды, продуцируемые пучковой зоной коры надпочечников, как гормоны адаптации, играют ключевую роль в подготовке организма к предстоящим стрессорным воздействиям. Эти гормоны являются мощными контринсулярными гормонами, понижая чувствительность тканей к инсулину. Повышение секреции глюкокортикоидов в ответ на гипогликемию или в ответ на гиперинсулинемию при нормальном уровне глюкозы крови является одним из физиологических механизмов быстрой коррекции гипогликемии или предотвращения гипогликемии при гиперинсулинемии.

У мышей и крыс кортикостерон является основным глюкокортикоидом (Концевая Г.В., 2013). Кортикостерон принимает участие в увеличении глюконеогенеза из аминокислот в печени, тормозит захват и утилизацию глюкозы клетками периферических тканей, угнетает активность ключевых ферментов гликолиза, повышает синтез гликогена в печени и скелетных мышцах, усиливает катаболизм белков и уменьшает их синтез, повышает анаболизм жиров в подкожной жировой клетчатке и других тканях. Кроме того, кортикостерон обладает разносторонним регулирующим действием на организм, оказывая мощное антистрессовое, противошоковое действие (Давыдов Б.И. и др., 1984). Поэтому кортикостерон считается индикатором развития стресса в организме облученных лабораторных животных. Изменение его уровня у мышей после

воздействия ИПМИ или ИПРИ может быть основанием для заключения о возможности развития стресса в организме.

Таким образом, в экспериментальных исследованиях установление причинно-следственных связей электромагнитного излучения с обнаруженными реакциями облученного животного чрезвычайно сложно. Поэтому многие косвенные показатели (изменение морфологических, биохимических и функциональных составляющих внутренних органов, поведенческой и двигательной активности) связывают с нарушением эндокринных функций (Давыдов Б.И. и др., 1984). Эндокринная система, являясь составной частью нейроэндокринной регулирующей системы организма, выполняет функции регуляции и координации деятельности внутренних органов и систем, обеспечивая их адаптацию к меняющимся условиям внешней и внутренней среды организма. Это является основным условием сохранения гомеостаза и защиты организма от эндогенных и экзогенных факторов. Электромагнитные излучения – один из многих факторов, которые при определенной силе и длительности могут нарушать нейроэндокринные корреляции и вызывать состояние стресса (Давыдов Б.И. и др., 1984).

Заключение. Необходимость нейрофизиологического исследования действия ИП ЭМИ

Анализ литературных данных выявил отсутствие работ, посвященных исследованию нейрофизиологических эффектов наносекундных ИПМИ и ИПРИ. В то же время уже известен целый ряд биологических эффектов влияния ИПМИ и ИПРИ на объекты разных уровней организации. Согласно имеющимся данным, результат влияния ИПМИ и ИПРИ существенно зависит от частоты повторения импульсов и от интенсивности/дозы воздействия, что является характерной особенностью такого влияния. Тем не менее, нейрофизиологические механизмы действия ИПМИ и ИПРИ, обусловленные воздействием данных факторов на ЦНС или жировую ткань, в настоящее время не изучены.

Обзор литературы по исследованиям влияния модулированных ЭМИ с импульсами длительностью большей, чем наносекундная (мили- и микросекундные) на ЦНС демонстрирует, что под воздействием указанных факторов могут происходить различные структурные, функциональные и физиологические изменения в центральной нервной системе. В свою очередь, эти изменения отражаются на показателях в поведенческой активности, деятельности различных структур мозга, а также органов и систем, находящихся под контролем ЦНС, в частности, жирового и энергетического обмена. Поэтому представляется чрезвычайно актуальным как в теоретическом, так и в прикладном аспектах, установление общих закономерностей реализации нейрофизиологических и метаболических эффектов влияния наносекундных импульсно-периодических микроволнового и рентгеновского излучений. Использование этих излучений может быть потенциально полезным для медицины, ветеринарии, биотехнологии и сельского хозяйства и может представлять значительную актуальность в плане эколого-гигиенического нормирования и уточнения безопасных уровней воздействия на живые системы.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1 Общее описание объектов исследования

Работа выполнена на 544 беспородных половозрелых белых мышах-самцах массой 25–30 г, их органах и тканях. Животные содержались в клетках при световом режиме освещения 12:12 при комнатной температуре и постоянной влажности, на стандартном рационе питания со свободным доступом к воде. Опыты проводились в одно и то же время суток (с 9–00 до 11–00 часов). Все экспериментальные процедуры осуществлялись согласно правилам и рекомендациям гуманного обращения с животными, используемыми для экспериментальных и иных научных целей («Правила проведения работ и использования экспериментальных животных», 12.08.1977 г.; Хельсинская Декларация Всемирной Медицинской Ассоциации, 1964 г., дополненная в 1975, 1983 и 1989 гг; Euro guide on the accommodation and care of animals used for experimental and other scientific purposes; Правила Европейской конвенции по защите позвоночных животных, 2007 г.). При проведении исследований формировались группы облученных и контрольных, т.е. ложнооблученных (ЛО) животных. Выборки мышей составляли не менее 6 животных в группе для каждого из режимов воздействия.

2.2 Источники наносекундного импульсно-периодического электромагнитного излучения

Источником наносекундного импульсно-периодического микроволнового излучения (ИПМИ) служил лабораторный импульсный генератор на основе магнетрона МИ-505 (Россия) с несущей частотой 10 ГГц, выходной пиковой мощностью 180 кВт, длительностью импульсов 100 нс. Облучение проводилось из открытого конца волновода сечением 10×33 мм с частотами повторения импульсов от единиц до десятков импульсов при пиковой плотности потока

мощности (пППМ) 1500 Вт/см^2 , что соответствует среднему значению ППМ от 0,9 до $3,8 \text{ мВт/см}^2$ в зависимости от частоты повторения импульсов.

В ходе исследования влияния ИПМИ на деятельность головного мозга мышей, животные в пластиковых контейнерах диаметром 3 см помещались в дальней зоне рупора антенны на расстоянии 20 см. Для обеспечения локального воздействия на головной мозг и устранения возможности облучения всего организма тело животных (кроме головы) на время облучения покрывалось радиопоглощающим материалом (Рисунок 1).



Рисунок 1. Стенд облучения головного мозга мышей ИПМИ. 1 – мыши, помещенные в контейнеры; 2 – радиопоглощающий материал, экранирующий тело животного от воздействия ИПМИ

Голова животного в течение 10 дней подвергалась ежедневному однократному воздействию ИПМИ (4000 импульсов за сеанс), с пППМ 1500 Вт/см^2 и частотами повторения 6, 8, 13, 16 и 22 имп./с. Эти частоты по результатам ранее проведенных исследований показали наибольшую биологическую эффективность. Кроме того, они соответствуют основным

частотам спектра электроэнцефалограмм мозга, и, как полагают некоторые авторы (Chizhenkova R.A., 2003; Жаворонков Л.П. и др., 2011), воздействие с такими частотами может наиболее эффективно влиять на деятельность мозга.

В экспериментах по изучению влияния ИПМИ на состояние эпидидимальной жировой ткани, животные в пластиковых контейнерах паховой областью, где сосредоточена вся масса эпидидимальной жировой ткани, располагались над открытым концом волновода на расстоянии 20 см от края рупора антенны (Рисунок 2). Остальная часть тела животных также покрывалась радиопоглощающим материалом.



Рисунок 2. Воздействие ИПМИ на область расположения эпидидимальной жировой ткани у мышей. 1 – область расположения эпидидимальной жировой ткани, 2 – открытый конец рупора волновода

Мыши аналогичным образом в течение 10 дней подвергались ежедневному однократному воздействию ИПМИ (4000 импульсов за сеанс), с пППМ 1500 Вт/см² и частотами повторения импульсов 8, 13, 16, 22, 25 имп./с.

Для оценки интенсивности воздействия, пППМ измерялась с помощью антенны и детектора, описанных в работе (Klimov A.I. et al., 2008). Текущий

контроль мощности излучения осуществлялся по сигналу с детектора на экране осциллографа (Tektronix TDS 644 A, 500 MHz), (Рисунок 1). В соответствие с калибровочным графиком значение амплитуды сигнала с детектора соответствовало величине пППМ, которая переводилась в единицы и поддерживалась постоянной по ходу облучения. При проведении экспериментов животные располагались на расстоянии 20 см от выходного окна рупора волновода, что обеспечивало воздействие с фиксированным значением пППМ 1500 Вт/см^2 . Кроме того, интенсивность ИПМИ оценивалась величиной удельной поглощенной мощности (УПМ, Вт/кг), которая рассчитывалась по скорости нагрева образца в соответствие с уравнением:

$$\text{УПМ} = 4,2 \cdot c \cdot (\Delta T/t), \quad (1)$$

где c – удельная теплоёмкость ткани, $(\Delta T/t)$ – скорость повышения температуры в объекте во время облучения (Алексеев С.И. с соавт., 1978; Уилл К.М., Кинн Дж.Б., 1983). Повышение температуры образцов во время облучения измерялось с помощью волоконно-оптического термометра МТ-4МО-1 (Россия).

В качестве источника рентгеновского излучения использовался высокопоточный ускоритель электронов «Синус 150» (Россия) (Рисунок 3). Тормозное излучение электронов электронного пучка на аноде при ускоряющем напряжении 240 кВ с током электронного пучка 2,5 кА и длительности импульса на полувывоте 4 нс с частотами повторения до 100 имп./с, обеспечивало энергию рентгеновских фотонов с максимумом 90–120 кЭв (Артемов К.П. и др., 2004).



Рисунок 3. Источник наносекундного импульсно-периодического рентгеновского излучения Синус-150 (1) и мыши (2), помещенные в свинцовый экран на время облучения для обеспечения локального воздействия на мозг

Экспозиционные дозы ИПРИ измерялись с помощью термолюминесцентных LiF-детекторов в комплекте метрологически поверенного дозиметра «КДМ-02М». В экспериментах использовались импульсные дозы рентгеновского излучения 0.5 и 2.5 мР/имп. Текущий контроль осуществляли с помощью дозиметров с кварцевым волокном «Arrow-Tech 138» («Arrow-Tech, Inc», США) и постоянной регистрацией импульсов ускоряющего напряжения и тока пучка электронов. Облучению ИПРИ подвергалась только область головы животных, остальная часть тела размещалась в защитных свинцовых экранах (Рисунок 3). Ежедневный сеанс облучения включал в себя воздействие 4000 импульсов ИПРИ для каждой группы животных с частотами повторения импульсов 6, 8, 13, 16, 22 имп./с, соответствующими основным ритмам ЭЭГ мозга (Зенков Л.Р., 2004). Суммарные поглощенные дозы за 10 дней облучения составили 0,2 и 1.0 Гр.

2.3 Исследование поведения мышей по методу «Открытое поле»

Метод «Открытое поле» относится к обще-поведенческим тестам, основанным на помещении животного в незнакомую ситуацию нового открытого пространства – открытого поля (Буреш Я. и др., 1991; Габай И.А. и др., 2011). Данный метод позволяет оценить реактивность или устойчивость ЦНС к воздействию какого-либо фактора, в том числе стрессирующего. Поведение в открытом поле обычно используют в качестве простого теста на эмоциональность, для исследования общей двигательной активности, исследовательского поведения (Hall C.S., 1934). Тест активно используется для изучения тревожности и памяти у лабораторных крыс и мышей (Худякова Н.А., Баженова Т.В., 2012). Новизна среды активизирует сложный набор интегрированных поведенческих реакций, отражающих тревожность и стремление исследовать новую территорию. Баланс оборонительных и исследовательских тенденций определяет текущее поведение животного в «Открытом поле», изменяющееся по времени тестирования. Согласно классическим представлениям, в «Открытом поле» проявляются ориентировочно-исследовательская и защитно-оборонительная поведенческие реакции (Буреш Я. и др., 1992). Как правило, ориентировочно-исследовательская реакция крыс оценивается по горизонтальной и вертикальной составляющим двигательной активности, времени реакции обнюхивания. Эмоциональное состояние животного оценивают по числу уринаций, дефекаций и груминговой активности (Буреш Я. и др., 1992; Родина В.И. и др., 1993; Шаляпина В.Г. и др., 2005; Hall S.C., 1934).

Использованная установка «Открытое поле» представляла собой круглую камеру с основанием 50 см в диаметре и бортами высотой 25 см, расчерченную на сектора. В местах пересечений линий секторов в полу имелись отверстия – «норки» (16 штук) (Рисунок 4).

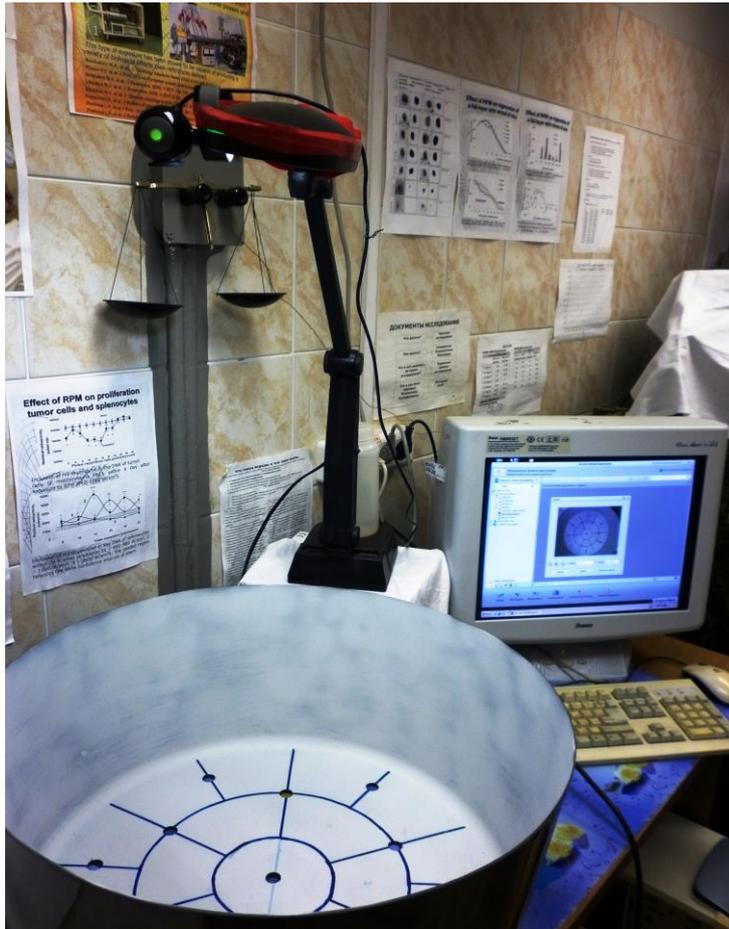


Рисунок 4. Общий вид установки «открытое поле» для оценки поведенческой активности лабораторных мышей

Для изучения пространственного перемещения животных в последнее время распространение получили системы цифрового видеонаблюдения (Куликов А.В., Куликов В.А., 2009; Суханов Д.Я. и др., 2010). Это обеспечивает автоматизацию процесса видеонаблюдения, увеличение точности и объективности фиксации двигательной активности у лабораторных животных. Принцип эксперимента с использованием таких устройств заключается в помещении испытуемого животного на арену под объектив цифровой видеокамеры, которая осуществляет запись и оцифровку видеокadra и передает видеоинформацию в компьютер. В данной работе поведенческая активность мышей в «открытом поле» фиксировалась с помощью цифровой веб-камеры (Icam 7120, Taiwan) и

записывалась на компьютер в реальном времени тестирования. Тестирование животных проводилось при уровне освещенности арены «открытого поля» 180 лк, что оценивалось с помощью измерителя потока света (Pocket light meter 8581, Тайвань). Непосредственно перед проведением тестирования мышей в соответствие с общепринятыми технологиями (Буреш Я. и др., 1991; Габай И.А. и др., 2011), они предварительно выдерживались в течение 3 минут в затемненном пространстве клеток, в которых животные содержались. Затем животное помещалось в центр «открытого поля» и в течение 5 минут отслеживалось их поведение. В качестве мониторинговых показателей были выбраны горизонтальная активность (количество пересеченных секторов), вертикальная активность (стойки на задних лапах), норковый рефлекс (количество заглядываний в норки), эмоциональность (количество дефекаций и уринаций), груминг. После завершения процедуры тестирования мышей, записанные видеофайлы просматривались для количественного оценивания вышеприведенных показателей в открытом поле. Количество пересеченных секторов, вертикальных стоек и заглядываний в норки характеризовали двигательную активность и исследовательское поведение животных, количество дефекаций/уринаций и груминг – эмоциональную составляющую поведения (Симонов П.В., 1981). При изучении эффектов воздействия наносекундных ИПМИ и ИПРИ на деятельность головного мозга тестирование по методике «Открытое поле» проводилось у экспериментальных и ложнооблученных животных дважды – за день до начала облучения и на следующий день после окончания воздействия.

2.4 Оценка общей двигательной активности мышей с использованием программы «Mouse Express»

Данные о поведенческой активности мышей, полученные по методике «Открытое поле» не позволяли оценивать динамику формирования эффектов

воздействия, в частности, суточную и общую динамику развития эффектов двигательной активности, индуцированных ИПМИ и ИПРИ в течение 10 дней. Для решения этой задачи в отдельной серии экспериментов в течение всего времени их проведения (10 суток) круглосуточно регистрировалась общая двигательная активность, включающая количество межиндивидуальных взаимодействий, горизонтальную и вертикальную активности животных облученных и ложнооблученной групп. Для этого использовалась фиксированная сетевая видеочкамера (AXIS P1344), сопряженная с ПК, в поле доступности которой были мыши, размещенные в клетках по 6 особей (Рисунок 5).

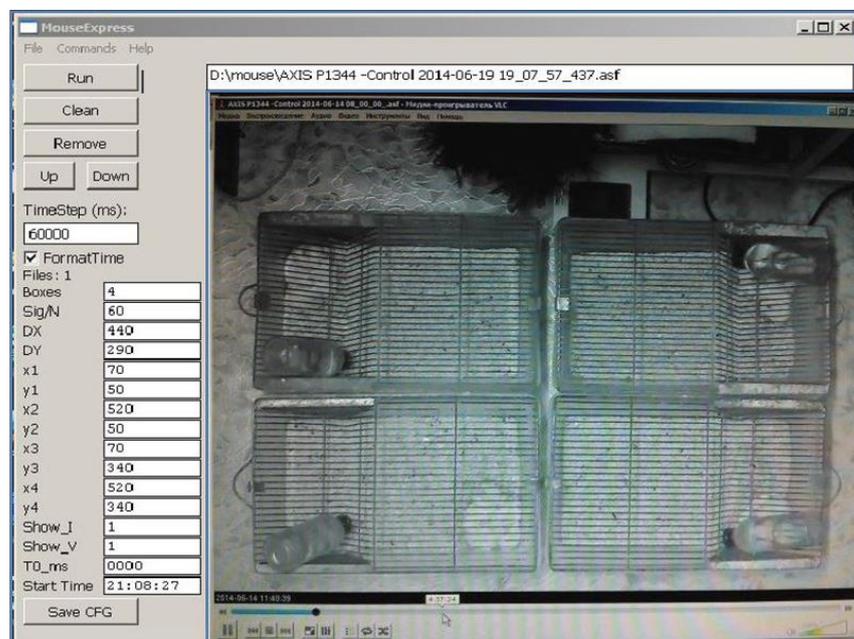


Рисунок 5. Кадр записи круглосуточного видеонаблюдения во время обработки в программе «Mouse Express»

В ночное время суток видеосъемка велась в инфракрасном свете. После завершения эксперимента и обработки видеозаписей с помощью программы «Mouse Express» формировался файл результатов (Суханов Д.Я. и др., 2010; Кривова Н.А. и др., 2011). Программа основывалась на принципе покадровой оценки изменения видеоизображения и оценивала суммарное количество движений животных в клетках в условных единицах за единицу времени. Сумма

длин векторов движения рассматривалась как интегральная двигательная активность мышей в текущем кадре. При полном отсутствии движения (статичная картинка) программа приравнивала количество движений к нулю. Преимуществом «Mouse Express» является независимость типов кодирования видеоданных, устойчивость к шумам и неравномерности освещения, возможность исключения влияния незначительных движений. Полученные таким образом результаты двигательной активности подвергались соответствующим статистическим процедурам.

2.5 Оценка уровня нейрональной активации в различных структурах мозга

2.5.1 Методика получения срезов мозга и иммуногистохимического окрашивания

Для выявления структур мозга, изменяющих свою нейрональную активацию после воздействия ИПМИ и ИПРИ, использовался метод иммуногистохимического окрашивания срезов мозга. Для этого мозг облученных и ложнооблученных мышей подвергался через систему кровообращения перфузии для доставки фиксатора мозга формалина. Далее образцы мозга мышей извлекались, последовательно выдерживались сначала в 10% сахарозе на натрий-фосфатном буфере (PBS), затем в 20% сахарозе на PBS. Выдерживание проводилось в каждом растворе сахарозы до осаждения мозга на дно флакона, после чего образцы замораживались в парах жидкого азота и помещались на хранение при температуре -75°C .

Срезы головного мозга толщиной 20 мкм были получены с помощью криостата Thermo HM 525 (Германия) при температуре -26°C . Для окраски срезов использовался непрямой иммуногистохимический «сэндвич» метод, основанный на способности немеченых первичных антител связываться с искомым антигеном белка раннего ответа c-fos и далее выявляться при помощи вторичных меченых

антител. Преимуществом данного метода является повышение чувствительности реакции и более интенсивная флуоресценция. Для выявления антигена необходимы два типа антител: первичные (специфически связывающиеся с антигеном) и вторичные (ассоциированные с флуорохромом). Первичные антитела сначала связываются с антигеном, а затем выявляются с помощью антител, ассоциированных с флуорохромом. В качестве первичных и вторичных антител использовали антитела к белкам c-fos (sc-52, Rabbit, фирма Santa Cruz Biotechnology (США); Alexa Fluor® 488, A-21206, donkey anti-rabbit (фирма Jackson ImmunoResearch Labourite (Великобритания)). В проведенной работе были изучены состояния моторной коры, гипоталамуса и ретикулярной формации. Для определения уровня нейрональной активации структур мозга проводился анализ микрофотографий срезов мозга (Рисунок 6), полученных с помощью флуоресцентного микроскопа Axio Imager Z1 («CarlZeiss», Германия).

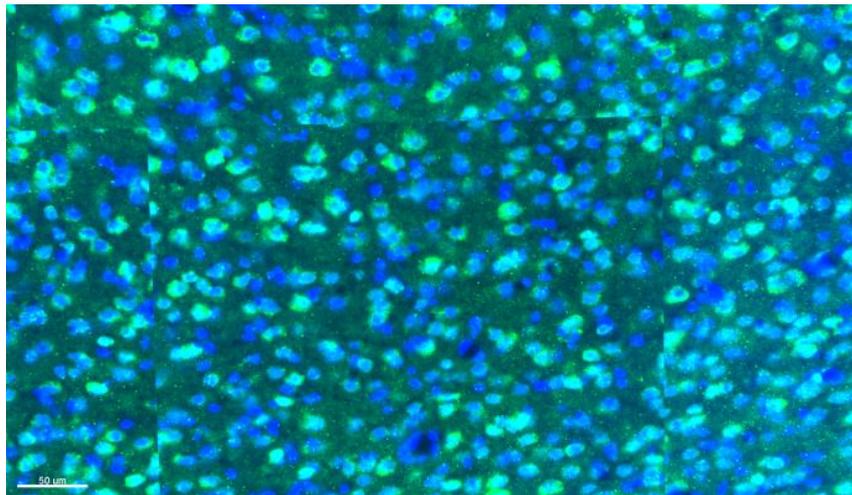


Рисунок 6. Микрофотографии срезов мозга мышей с нейронами, маркированными белком c-fos в ретикулярной формации. Примечание: зелёным цветом показаны нейроны, активированные белком c-fos

При анализе уровень нейрональной активации в указанных областях головного мозга оценивался как процент активированных (экспрессирующих c-fos белок) нейронов по отношению к общему количеству нейронов в области микрофотографии 500×500 мкм.

2.6 Измерение массы мышей и их внутренних органов с учетом потребления пищи

При изучении эффектов воздействия наносекундных ИПМИ и ИПРИ на деятельность головного мозга проводилось определение морфометрических параметров у мышей. Для определения общего прироста массы тела за все 10 дней эксперимента мыши ежедневно взвешивались с точностью измерения до 0,1 г на электронных весах ANDHR-200 (Япония). Общий прирост массы тела рассчитывался как разность конечной и исходной масс животного. Далее проводилась оценка удельного (относительного) прироста массы тела животных (μ) за период исследования, который рассчитывался по формуле:

$$\mu = \frac{1}{M} * \frac{dM}{dt}, \quad (2)$$

где μ – удельный прирост массы тела, dM/dT – прирост массы тела за период времени t (10 дней эксперимента), M – исходное значение массы тела. Для корректной оценки прироста массы тела животных учитывалось количество потребленного корма в течение всех серий экспериментов. По аналогии с удельным приростом массы тела рассчитывались коэффициенты удельного потребления пищи (i):

$$i = \frac{1}{M} * \frac{dI}{dt}, \quad (3)$$

где i – удельное потребление пищи, dI/dT – количество пищи, потребленное за период времени t для каждой группы мышей (10 дней эксперимента), M – исходное значение массы тела животного (Никоноров А.А. и др., 2013). Исследование внутренних органов для определения значений масс печени, селезенки и эпидидимального жира у мышей, проводилось путем их извлечения

из организма и взвешивания с точностью до 100 мг на электронных весах ANDHR-200 (Япония) с паспортной точностью измерения до 0.1 мг.

2.7 Методика морфометрической оценки состояния эпидидимальной жировой ткани

После десятидневного воздействия наносекундным микроволновым излучением непосредственно на эпидидимальную жировую ткань, которая локализована на гонадах мышей-самцов в области головки, тела и хвоста придатка семенников, ткань отделялась и взвешивалась на аналитических весах ANDHR-200 (Япония) с точностью до 0.1 мг. Для приготовления срезов и морфометрического исследования кусочки жировой ткани фиксировались в 10% нейтральном забуференном формалине (Biovitrum, Россия), обезвоживались в изопропиловом спирте – раствор IsoPrep (Biovitrum, Россия) и заливались в парафин (Histomix, Россия) по методике (Osman O.S. et al., 2013). На микротоме МЗП – 01 (Техном, Россия) изготавливались срезы толщиной 5–7 мкм, которые затем монтировались на предметные стекла и окрашивались гематоксилином и эозином. Полученные микропрепараты просматривались в проходящем свете на микроскопе Биомед-3М (Россия) совмещенном с компьютером. Изображения срезов оцифровывались для последующей оценки размеров адипоцитов. Оцифрованные фотографии (Рисунок 7) с хорошо выявленными границами клеток подвергались морфометрической обработке с использованием компьютерной программы ImageJ 1.46 (Collins T.J., 2007). Размеры адипоцитов оценивались с помощью метода точечного счета (Автандилов Г.Г., 1990), который заключался в измерении минимального и максимального диаметра клеток и нахождения их полусуммы.

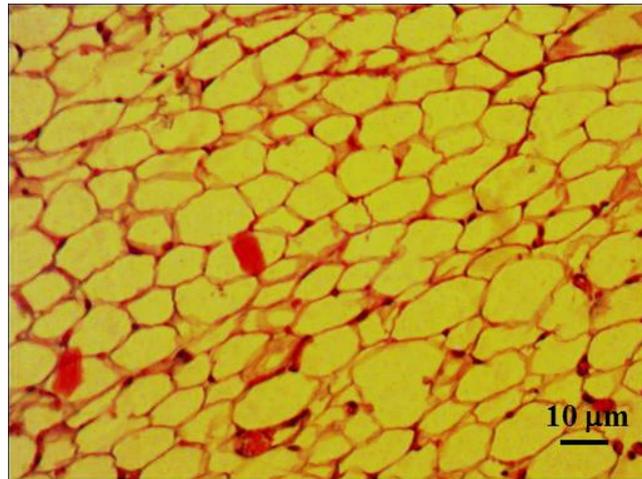


Рисунок 7. Микрофотография гистологического среза эпидидимальной жировой ткани

Всего было получено и проанализировано 523 оцифрованные фотографии срезов облученной и ложнооблученной эпидидимальной жировой ткани. У каждой мыши на срезах определялся средний диаметр 100 адипоцитов. Величина эффекта воздействия оценивалась: а) по изменению удельной массы жира; б) по изменению среднего диаметра адипоцитов и в) по изменению распределения адипоцитов по размеру. Эффект оценивался по соотношению указанных величин у облученных животных по отношению к ложнооблученным.

2.8 Методики определения уровня гормонов в сыворотке крови

Для установления возможного развития стресса, как реакции на воздействие, а также выявления возможных путей влияния мозга на организм животных после облучения ИПМИ и ИПРИ, измерялся уровень гормонов кортикостерона и лептина в сыворотке крови.

При получении образцов крови лабораторных мышей, животные декапитировались, отбирались пробы крови 1–1.5 мл без добавления антикоагулянта. Кровь центрифугировалась без охлаждения при 2000 об/мин в течение 15 минут, полученная сыворотка собиралась в пробирки Eppendorf и замораживалась. Содержание исследуемых гормонов в сыворотке крови

облученных и ложнооблученных мышей после размораживания сыворотки определялось с помощью твердофазного иммуноферментного «сэндвич» метода (ELISA) (Tijssen P., 1985). Процедура выполнения иммуноферментного анализа проводилась по инструкциям, предлагаемым производителями тест-систем («DRG», Германия, «IDS», Великобритания). Перед использованием все реагенты прогревались до комнатной температуры. Каждый флакон с реагентом аккуратно перемешивался, избегая образования пены.

2.8.1 Определение уровня кортикостерона

В ячейки микропланшета добавлялись по 100 мкл исследуемой сыворотки крови, стандартов кортикостерона с известными концентрациями и контрольного раствора из набора. Затем в каждую лунку вносились по 100 мкл ферментного конъюгата и инкубировались 16–20 ч при 2–8 °С. После трехкратной автоматической промывки буфером в каждую ячейку вносились по 200 мкл раствора субстрата с красителем и инкубировались при комнатной температуре. Через 30 мин добавлялись по 50 мкл стоп-реагента. Уровень кортикостерона в сыворотке определялся спектрофотометрически путем измерения оптической плотности проб с помощью планшетного фотометра «StatFax 303 Plus» (США) при длине волны 450 нм. Концентрация гормона вычислялась по калибровочной кривой из набора.

2.8.2 Определение уровня лептина

В ячейки микропланшета добавлялись по 15 мкл исследуемой сыворотки крови, стандартов лептина с известными концентрациями и контрольного раствора из набора. Затем в каждую лунку вносились по 100 мкл буфера и инкубировались 120 мин при комнатной температуре. После трехкратного промывания буфером в каждую ячейку добавлялись по 100 мкл антисыворотки к

лептину и инкубировались 30 мин при комнатной температуре. После трехкратного промывания буфером в каждую ячейку добавлялись по 100 мкл ферментного комплекса и инкубировались 30 мин при комнатной температуре. После трехкратной промывки буфером в каждую ячейку вносились по 100 мкл раствора субстрата с красителем и инкубировались при комнатной температуре. Через 15 мин добавлялись по 50 мкл стоп-реагента. Уровень лептина в сыворотке крови определялся спектрофотометрически путем измерения оптической плотности проб с помощью планшетного фотометра «StatFax 303 Plus» (США) при длине волны 450 нм. Концентрация гормона вычислялась по калибровочной кривой из набора.

2.9 Биохимический анализ крови

2.9.1 Определение концентрации триглицеридов в сыворотке крови

Определение концентрации триглицеридов в сыворотке крови у животных проводилось с использованием набора реагентов «High Technology Ins» (USA). В данном методе триглицериды гидролизуются липазой. Концентрация высвобождающегося глицерина определялась ферментной реакцией, в результате которой образовывался хинониминный краситель. Концентрация образующегося красителя определялась по поглощению света на длине волны 520 нм. Величина поглощения была прямо пропорциональна концентрации триглицеридов в образце. Оптическая плотность опытной и калибровочной проб против контрольной пробы из набора определялась при длине волны 520 нм с помощью биохимического анализатора «Biochem SA» («High technology», США).

2.9.2 Определение концентрации глюкозы в сыворотке крови

Определение концентрации глюкозы в сыворотке крови у животных проводилось с использованием набора реагентов «High Technology Inc» (USA). Гексокиназа катализировала реакцию фосфорилирования глюкозы посредством

АТФ. Продукт реакции глюкозо-6-фосфат впоследствии окислялся, при этом НАД превращался в НАДН. Реакция катализировалась глюкозо-6-фосфат дегидрогеназой. Образование НАДН приводило к повышению поглощения света, что было прямопропорционально концентрации глюкозы в исследуемом образце. Оптическая плотность опытной и калибровочной проб против контрольной пробы из набора определялась при длине волны 340 нм с помощью биохимического анализатора «Biochem SA» («High technology», США).

2.10 Статистическая обработка результатов

Полученные результаты подвергались статистической обработке с помощью пакета прикладных программ Statsoft STATISTICA for Windows 8.0. Эффект влияния ИПМИ и ИПРИ на поведенческую активность мышей по методике «открытое поле», рассчитывался по формуле $(M_{\text{после}} - M_{\text{до}}) / M_{\text{до}}$, где $M_{\text{после}}$ – средняя арифметическая величина соответствующего показателя после облучения животного, $M_{\text{до}}$ – средняя арифметическая величина соответствующего показателя у животного до облучения (Маркель А.Л. и др., 1988).

Эффект влияния ИПМИ и ИПРИ на общую двигательную активность, рассчитанную в программе «Mouse Express», оценивался по суммарной активности мышей в каждой группе. Сравнение показателей общей двигательной активности между облученными и ложнооблученными животными проводилось с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни. При сопоставлении изменений суточной двигательной активности в каждой группе мышей применялся парный тест Вилкоксона. Оценка влияния учитываемых факторов «частота повторения импульсов» и «время суток» проводилась с помощью дисперсионного анализа, значимыми считались значения критериев при уровне статистической значимости различий меньше 5% ($p \leq 0,05$). Для выявления нормальности распределения данных двигательной активности в сравниваемых

группах использовался критерия Шапиро-Вилка. В случае отсутствия нормальности распределения использовалось логарифмирование.

При определении уровня нейрональной активации проводился автоматический подсчет общего количества нейронов в программе «Imaris» на микрофотографиях срезов головного мозга в квадратах 500*500 нм, затем при визуальном контроле подсчитывались клетки, активированные белком c-fos. Всего было проанализировано 678 микрофотографий структур срезов мозга, после облучения ИПМИ и 445 микрофотографий после облучения ИПРИ.

При анализе масс тела, органов, концентраций гормонов, глюкозы и триглицеридов рассчитывалась средняя арифметическая величина соответствующего показателя и ошибка среднего.

Для выявления связей между разными показателями использовался ранговый коэффициент корреляции Спирмена (Лакин Г.Ф., 1990; Ефимов В.М., Ковалева В.Ю., 2008).

Статистическая значимость различий между анализируемыми показателями животных из облученных и ложнооблученных выборок определялась с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни при уровне значимости $p \leq 0.05$.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Исследование влияния наносекундных ИПМИ и ИПРИ на деятельность головного мозга мышей

Как уже упоминалось в литературном обзоре, в условиях электромагнитного воздействия существенно затруднена или невозможна регистрация электрической активности мозга у животных. Поэтому в настоящей работе в качестве индикаторов влияния ИПМИ и ИПРИ на головной мозг мышей были использованы поведенческие реакции мышей в «открытом поле», а так же динамика общей двигательной активности.

3.1.1 Поведение мышей в «Открытом поле» после воздействия ИПМИ

Для воздействия на головной мозг использовалось ИПМИ с частотами повторения импульсов, соответствующих основным ритмам ЭЭГ мозга животных (Зенков Л.Р., 2004; Жаворонков Л.П. и др., 2011). Кроме того, эти частоты попадают в диапазон биологически эффективных частот, обнаруженных Эйди (Adey W.R., 1981).

Проведенные в рамках диссертационной работы эксперименты показали, что после облучения в течение 10 дней головного мозга мышей (ежедневно по 4000 импульсов ИПМИ с пППМ 1500 Вт/см^2) обнаруживается изменение протекания ряда поведенческих реакций у животных в «открытом поле». Анализ активно-поискового и ориентировочно-исследовательского поведения животных показал, что воздействие ИПМИ с частотами повторения 6 и 22 имп./с вызывало снижение на 68% и 10% соответственно норковой активности (Рисунок 8 А), а также уменьшение на 61% горизонтальной компоненты поведения, но только после воздействия с частотой 22 имп./с (Рисунок 8 Б).

Анализ вертикальной активности у мышей не выявил статистически значимых различий между облученными и ложнооблученными животными.

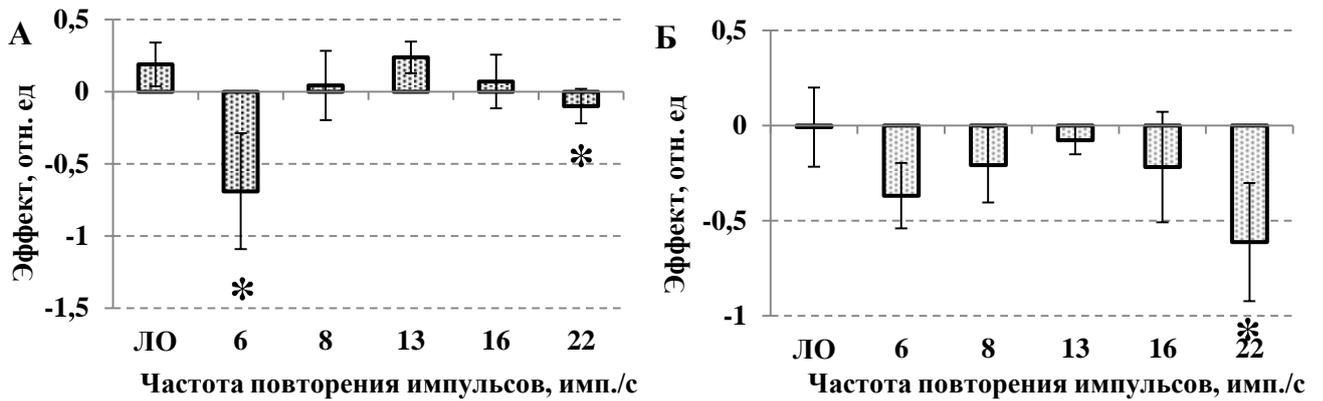


Рисунок 8. Норковая (А) и горизонтальная (Б) активности мышей в «открытом поле» после облучения ИПМИ головного мозга. Примечание: представлены среднеарифметические значения показателя \pm ошибка среднего; * – различия статистически значимы по отношению к показателям ЛО животных ($p \leq 0,05$)

Для оценки эмоционального статуса мышей в «открытом поле» учитывалась пассивно-оборонительная компонента поведения, характеризующаяся актами груминга (количество умываний и почесываний) и количеством дефекаций/уринаций. Оказалось, что после воздействия ИПМИ с частотой повторения 6 имп./с происходило увеличение на 62% актов груминга (Рисунок 9 А) и на 50% количества дефекаций/уринаций (Рисунок 9 Б).

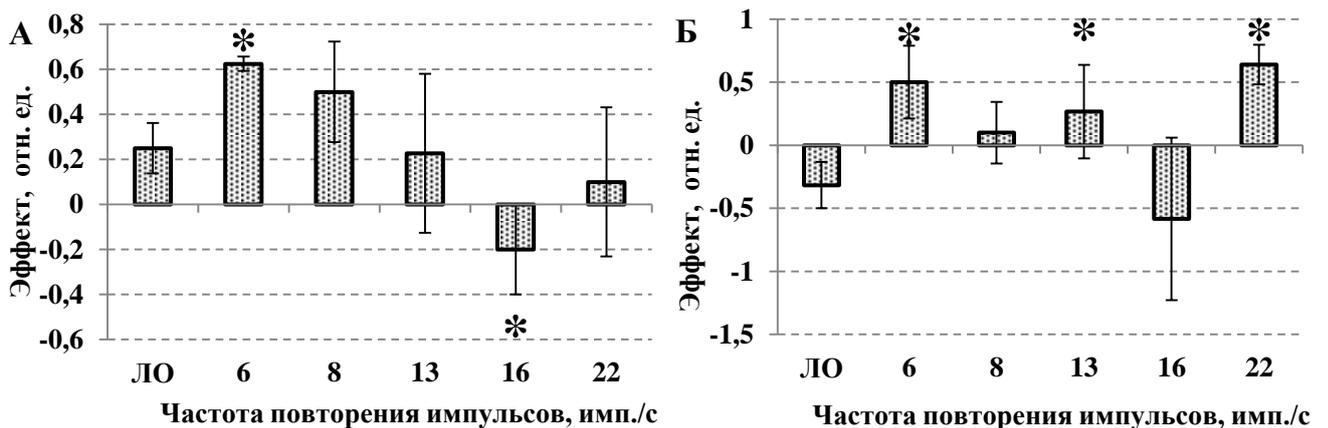


Рисунок 9. Акты груминга (А) и дефекаций/уринаций (Б) у мышей в «открытом поле» после облучения головного мозга ИПМИ. Примечание: обозначения те же, что и к рисунку 8

Между этими показателями установлена статистически значимая положительная корреляционная зависимость (ранговый коэффициент Спирмена $R_s = 0.89$) (Таблица 1).

В то же время, после воздействия с частотой повторения 22 имп./с груминг у облученных и ЛО животных значимо не отличался, но имело место увеличение на 64% количества дефекаций/уринаций (Рисунок 9 Б). Также наблюдалось снижение на 20% актов груминга после воздействия с частотой повторения 16 имп./с (Рисунок 9 А) и увеличение на 27% дефекаций/уринаций после воздействия с частотой 13 имп./с (Рисунок 9 Б).

Таблица 1. Коэффициенты корреляции Спирмена по поведенческим реакциям мышей после облучения ИПМИ с пППМ 1500 Вт/см²

1.0 Гр	6 имп./с	8 имп./с	13 имп./с	16 имп./с	22 имп./с
Горизонтальная/Вертикальная	0.15	0.14	0.25	0.28	0.36
Горизонтальная/Норковая	0.60	0.58	-0.36	0.27	0.68
Горизонтальная/Груминг	-0.45	0.36	0.55	0.18	0.60
Горизонтальная/Дефекации	-0.15	0.18	0.66	0.47	0.40
Норковая/Вертикальная	0.36	0.44	0.55	0.21	0.17
Норковая/Груминг	-0.69	0.42	0.45	0.39	0.25
Норковая/Дефекации	-0.67	0.58	0.48	0.52	0.18
Вертикальная/Груминг	0.22	0.30	0.37	0.33	0.36
Вертикальная/Дефекации	0.38	0.29	0.64	0.52	0.41
Груминг/Дефекации	0.89	0.48	0.41	-0.58	0.50

Примечание: в таблице жирным шрифтом выделены статистически значимые коэффициенты корреляции ($p < 0,05$)

Результаты исследования поведения мышей в «открытом поле» после воздействия ИПМИ с пППМ 1500 Вт/см² на мозг в целом продемонстрировали, что облучение со всеми частотами повторения импульсов, кроме 8 имп./с, вызывает изменения в протекании поведенческих реакций. Происходили

активация пассивно-оборонительной составляющей поведения, которая характеризуется увеличением актов груминга и количества дефекаций/уринаций, и ослабление активно-поисковой компоненты – снижение норковой и горизонтальной активностей. Наиболее четко эти эффекты проявились после воздействия с частотами повторения 6 и 22 имп./с. Такой характер реагирования, по-видимому, обусловлен тем, что у животных после облучения мозга частотами Θ - и γ -ритмов развивается депрессивное состояние, на что указывает высокое положительное значение коэффициента корреляции Спирмена между показателями актов груминга и количества дефекаций-уринаций (Таблица 1).

То есть, у животных после облучения мозга развивается повышенная эмоциональная реактивность и депрессивное состояние, что указывает на возможность развития стресса в организме. При этом отсутствие значимых изменений в поведении после воздействия с частотой повторения 8 имп./с (α -ритм) не означает отсутствие эффекта, а может быть результатом компенсации между пассивно-оборонительной и активно-поисковыми составляющими поведения, индуцированными ИПМИ.

3.1.2 Поведение мышей в «Открытом поле» после воздействия ИПРИ

Как ранее было показано (Bolshakov M.A. et al., 2000), эффекты воздействия ИПРИ могут быть аналогичны эффектам ИПМИ. В частности, они сходным образом зависят от частоты повторения импульсов и интенсивности/дозы излучения. Основываясь на этом, были проведены эксперименты по воздействию ИПРИ на головной мозг мышей с частотами повторения в диапазоне 6 – 22 имп./с в дозе 0.2 Гр, не превышающей области малых доз ионизирующего излучения, и 1.0 Гр, пятикратно ее превышающей.

Эксперименты показали, что облучение в течение 10 дней мозга мышей ежедневно по 4000 импульсов ИПРИ приводит к изменению поведенческих компонент у животных в «открытом поле». Степень и направленность

реагирования при этом определяются как дозой облучения, так и частотой повторения импульсов.

Эффекты облучения в дозе 0.2 Гр. Из полученных результатов следовало, что облучение в течение 10 дней головного мозга мышей (накопленная доза 0.2 Гр) с частотой повторения 22 имп./с сопровождалось у животных повышением на 30% вертикальной активности в «открытом поле» (Рисунок 10). Остальные компоненты активно-поискового и ориентировочно-исследовательского поведения у облученных животных (горизонтальная и норковая активности) не имели статистически значимых различий от аналогичных у ЛО животных.

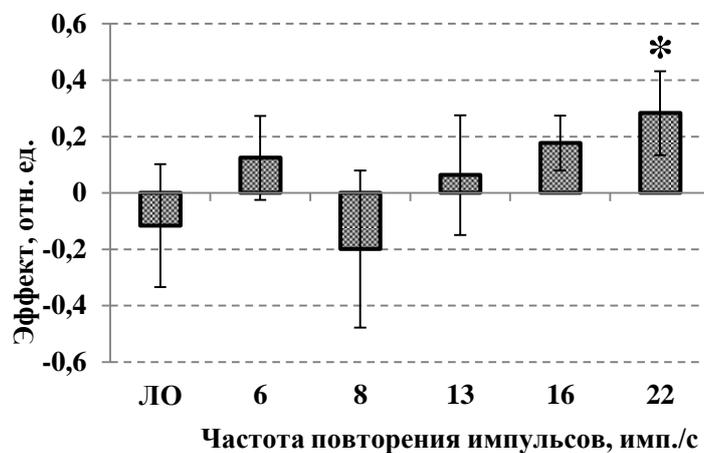


Рисунок 10. Вертикальная активность мышей в «открытом поле» после облучения головного мозга ИПРИ в дозе 0.2 Гр. Примечание: обозначения те же, что и к рисунку 8

Анализ эмоциональной составляющей поведения у мышей после облучения рентгеновскими импульсами в той же дозе, но с частотами повторения 13 и 16 имп./с позволил выявить только уменьшение на 50 и 58% соответственно актов груминга (Рисунок 11 А).

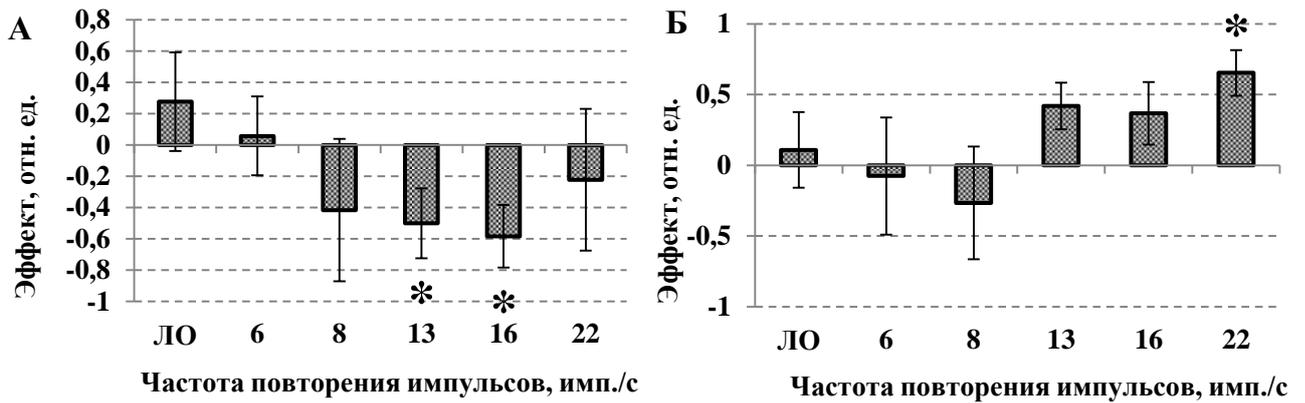


Рисунок 11. Акты груминга (А) и дефекаций/уринаций (Б) у мышей в «открытом поле». Примечание: обозначения те же, что и к рисунку 8

Количество дефекаций/уринаций у животных статистически значимо увеличивалось на 65% только после воздействия с частотой 22 имп./с (Рисунок 11 Б).

Таким образом, после облучения ИПРИ в дозе 0.2 Гр наиболее эффективными по изменению поведения мышей оказались частоты повторения 13, 16 и 22 имп./с. При этом, воздействие с частотой 22 имп./с инициировало повышение вертикальной активности у животных, что характеризует ориентировочно-исследовательское поведение. Кроме того, такое воздействие вызывало рост количества дефекаций/уринаций, что указывает на доминирование пассивно-оборонительной составляющей поведения. Другими словами, после облучения в указанном режиме у животных одновременно присутствовали и состояние страха, и любопытство. Это активировало обе компоненты поведения, что нашло отражение в высоком положительном значении коэффициента корреляции Спирмена (R_s между вертикальной активностью и грумингом = 0.71) (Таблица 2). Конкуренция мотивов между скоррелированными состоянием страха и любопытства может создавать ситуацию напряжения и дезадаптации в организме у животных (Батуев А.С., 1991). Это указывает, что такое воздействие в малой дозе является функционально значимым.

Таблица 2. Коэффициенты корреляции Спирмена по поведенческим реакциям мышей после облучения ИПРИ в дозе 0.2 Гр

0.2 Гр	6 имп./с	8 имп./с	13 имп./с	16 имп./с	22 имп./с
Горизонтальная/Вертикальная	0.83	0.83	0.86	0.38	0.94
Горизонтальная/Норковая	0.49	-0.14	0.6	0.71	0.31
Горизонтальная/Груминг	0.58	0.43	0.29	-0.6	-0.29
Горизонтальная/Дефекации	-0.64	0.29	-0.52	-0.52	0.71
Норковая/Вертикальная	0.6	0.26	0.6	0.75	0.37
Норковая/Груминг	0.58	-0.81	0.68	-0.14	-0.78
Норковая/Дефекации	-0.55	0.06	-0.72	-0.14	-0.03
Вертикальная/Груминг	0.58	0.14	0.71	0.03	-0.14
Вертикальная/Дефекации	-0.70	0.29	-0.23	-0.09	0.6
Груминг/Дефекации	-0.95	0.16	-0.2	0.77	-0.06

Примечание: в таблице жирным шрифтом выделены статистически значимые коэффициенты корреляции ($p < 0,05$)

Облучение головного мозга в дозе 1.0 Гр. В отличие от результатов экспериментов с воздействием в дозе 0.2 Гр, облучение головного мозга мышей в пятикратно большей дозе 1.0 Гр оказалось биологически более эффективным при всех частотах повторения импульсов (Рисунки 12, 13). Основной эффект воздействия ИПРИ проявлялся в снижении норковой и горизонтальной активностей (Рисунок 12 А, Б). Вертикальная активность имела неоднозначный характер изменения, так как после воздействия с частотами 13 и 16 имп./с происходило ее увеличение, а после воздействия с частотой 6 имп./с – увеличение (Рисунок 13). В целом результаты указывают на подавление активно-поискового и ориентировочно-исследовательского поведения, что отражается в высоком положительном значении коэффициента корреляции Спирмена (R_s горизонтальная/норковая активности = 0.8) (Таблица 3).

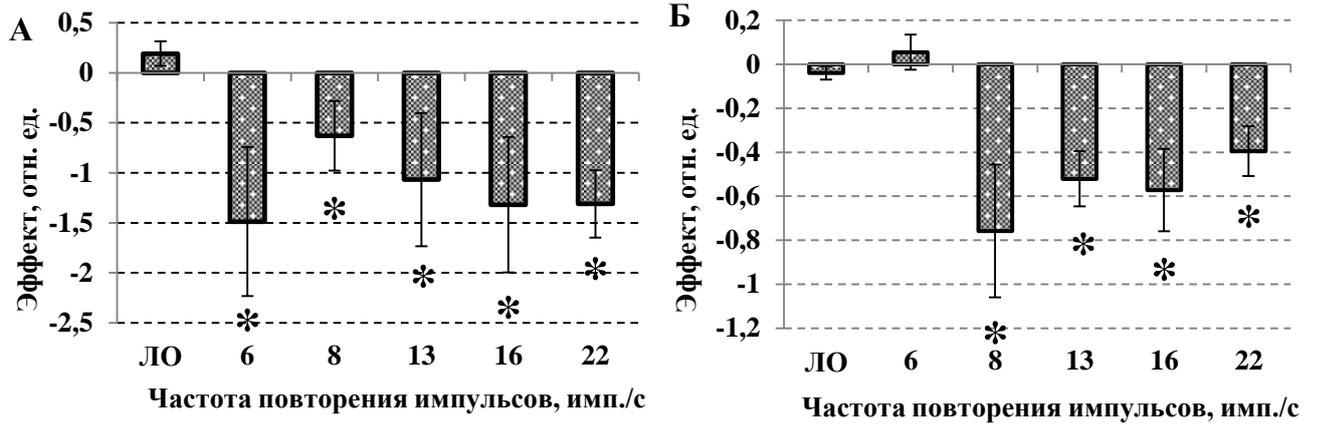


Рисунок 12 Норковая (А), горизонтальная (Б) активности мышей в «открытом поле» после облучения ИПРИ в дозе 1 Гр. Примечание: обозначения те же, что и к рисунку 8

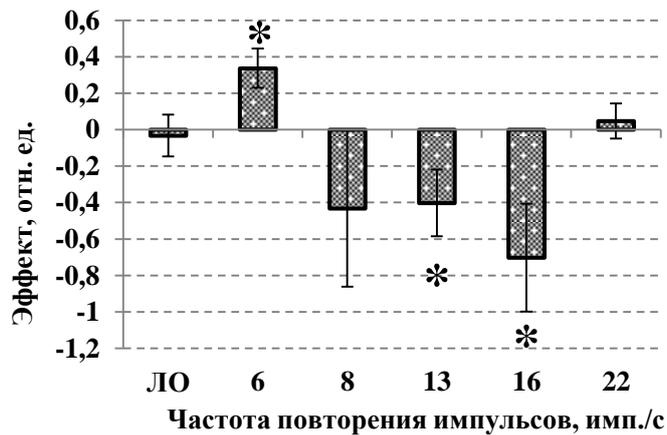


Рисунок 13. Вертикальная активность мышей в «открытом поле» после облучения ИПРИ в дозе 1 Гр. Примечание: обозначения те же, что и к рисунку 8

При этом пассивно-оборонительная составляющая поведения оставалась неизменной, что выразалось в отсутствии значимых различий в количестве актов груминга и дефекаций/уринаций при всех частотах воздействия, кроме 6 имп./с (Рисунок 14 А, Б).

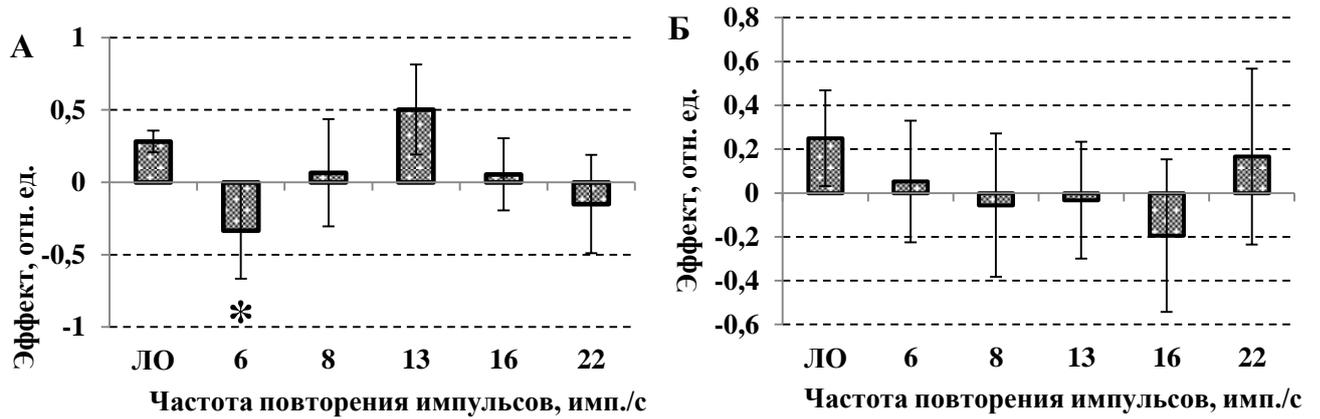


Рисунок 14. Акты груминга (А) и дефекации/уринации (Б) после облучения ИПРИ в дозе 1.0 Гр. Примечание: обозначения те же, что и к рисунку 8

Таблица 3. Коэффициенты корреляции Спирмена по поведенческим реакциям мышей после облучения ИПРИ в дозе 1.0 Гр

1.0 Гр	6 имп./с	8 имп./с	13 имп./с	16 имп./с	22 имп./с
Горизонтальная/Вертикальная	0.69	0.55	0.69	0.73	0.46
Горизонтальная/Норковая	0.45	0.89	0.88	0.71	0.80
Горизонтальная/Груминг	-0.54	0.3	-0.52	-0.37	0.71
Горизонтальная/Дефекации	0.35	0.46	0.21	0.15	0.13
Норковая/Вертикальная	0.42	0.57	0.17	-0.11	0.48
Норковая/Груминг	0.41	0.63	-0.69	0.27	0.39
Норковая/Дефекации	0.55	0.15	0.09	0.49	0.54
Вертикальная/Груминг	0.27	0.53	0.45	0.36	0.16
Вертикальная/Дефекации	0.36	0.41	0.28	0.38	0.21
Груминг/Дефекации	0.38	0.49	0.64	0.35	0.19

Примечание: в таблице жирным шрифтом выделены статистически значимые коэффициенты корреляции ($p < 0,05$)

Такой эффект может свидетельствовать либо об угнетении процессов возбуждения, либо активации процессов торможения в ретикуло-корковых структурах головного мозга у мышей после облучения. Тем не менее, облучение с частотой повторения 6 имп./с оказывало активирующее действие на

вертикальную активность (Рисунок 13), одновременно снижая акты груминга (Рисунок 14 А). Такое реагирование после облучения с частотой Θ -ритма, возможно, наоборот, свидетельствует о повышении возбудимости гиппокампа, ответственного за процессы торможения других отделов мозга, например, моторной коры, ретикулярной формации и гипоталамуса.

Полученные результаты свидетельствуют о влиянии наносекундного ИПРИ на деятельность головного мозга мышей, поскольку наблюдалось изменение как активно-поискового, так и пассивно-оборонительного поведения мышей в «открытом поле». Это согласуется с данными других исследователей, в частности, о влиянии неимпульсного рентгеновского излучения в дозе 0.5 Гр на поведение животных (Смирнова Н.П., 1969). Характер влияния ИПРИ указывает на зависимость наблюдаемых эффектов от частоты повторения импульсов и дозы излучения, аналогично тому, как было продемонстрировано в ранее проведенных исследованиях на гепатоцитах и митохондриях печени мышей (Князева И.Р., 2013; Жаркова Л.П., 2012). В целом можно констатировать, что поведенческие эффекты после воздействия в дозе 1.0 Гр более выражены по сравнению с дозой 0.2 Гр.

3.1.3 Динамика общей двигательной активности мышей после облучения наносекундным ИПМИ

Результаты предыдущего этапа исследования выявили факт влияния наносекундных ИПМИ и ИПРИ на деятельность головного мозга. Однако, характер изменения поведенческой активности мышей после электромагнитных воздействий по методике «открытое поле» не позволял проследить динамику формирования эффектов облучения, в частности, суточную и общую динамику развития поведенческих эффектов. Поэтому на данном этапе исследовалась динамика общей двигательной активности в процессе облучения ИПМИ головного мозга с частотами повторения 6, 13, и 16 имп./с. Режимы воздействия

были выбраны по результатам полученных в экспериментах с «открытым полем» (наиболее или наименее эффективные в реализации эффектов). Проведенные эксперименты показали, что ежедневное воздействие 4000 импульсов ИПМИ в течение 10 дней влияет на динамику общей двигательной активности мышей, что может отображать влияние на деятельность головного мозга. При этом динамика развития эффекта имеет немонотонный, полифазный характер, что проявляется в чередовании усиления и ослабления общей двигательной активности (Рисунок 15 А, Б, В). В течение десятисуточного эксперимента с облучением ИПМИ мозга животных суточная двигательная активность мышей в целом немонотонно менялась в сравнении с ЛО животными. После воздействия с частотой повторения 6 имп./с (Рисунок 15 А) статистически значимые различия наблюдались на 3, 4, 6, 7 и 8 сутки облучения. После воздействия ИПМИ с частотой повторения 16 имп./с эффект (повышение двигательной активности) был менее выражен, поскольку отличия наблюдались только на 3 и 9 сутки облучения (Рисунок 15 Б). Облучение с частотой повторения 13 имп./с оказывало еще менее существенное влияние на динамику, снижая статистически значимо количество движений мышей только на 5 сутки облучения (Рисунок 15 В).

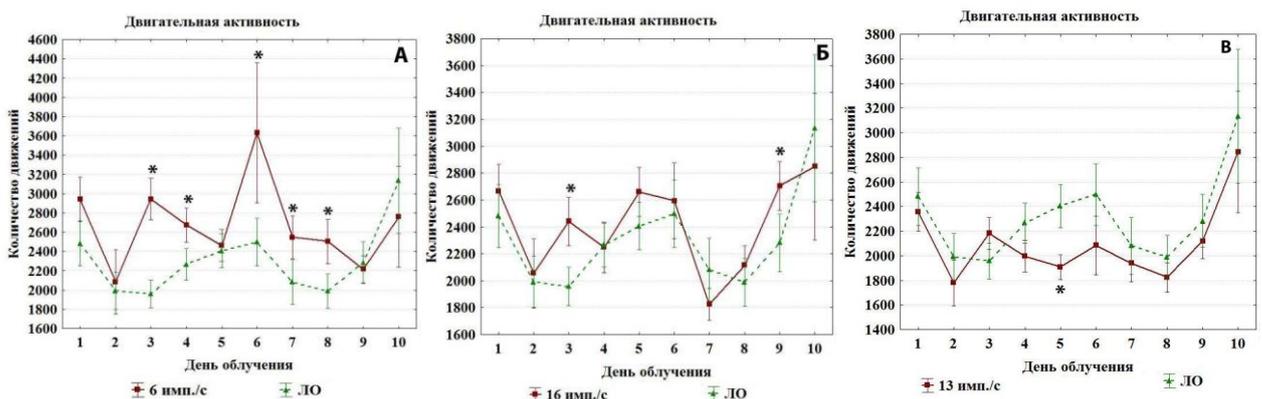


Рисунок 15. Динамики изменения суточной двигательной активности мышей в течение 10 дней облучения ИПМИ с пППМ 1500 Вт/см² и частотами 6, 16 и 13 имп./с. Примечание: * – различия статистически значимы по отношению к показателям ЛО животных ($p \leq 0,05$)

Для уточнения характера влияния ИПМИ на динамику двигательной активности был проведен дисперсионный анализ (Рисунок 16).

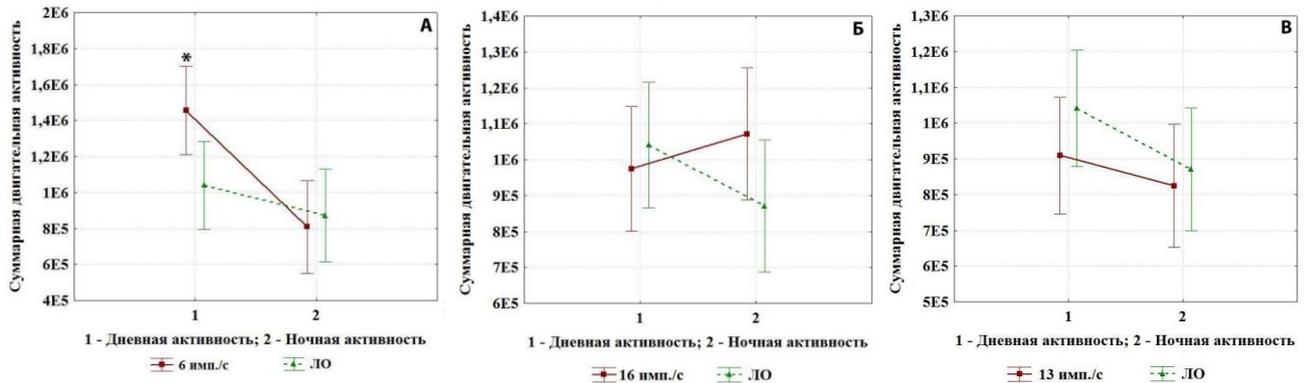


Рисунок 16. Результат дисперсионного анализа изменения суммарной двигательной активности мышей после облучения ИПМИ с пППМ 1500 Вт/см² и частотами 6, 16 и 13 имп./с. Примечание: обозначения те же, что и к рисунку 15

Результаты анализа, в котором учитывались факторы «частота повторения импульсов ИПМИ» и «время суток» показали, что значимость различий в двигательной активности в разный период времени суток (день-ночь) между облученными и ЛО животными преимущественно обусловлена дневной активностью, которая увеличивалась относительно ЛО только после воздействия с частотой 6 имп./с ($p \leq 0,05$) (Рисунок 16).

3.1.4 Динамика общей двигательной активности мышей после облучения наносекундным ИПРИ в дозе 1.0 Гр

В экспериментах с поведенческими реакциями мышей в «открытом поле» облучение в дозе 1.0 Гр оказало более эффективное влияние. Поэтому именно такой режим воздействия был выбран для оценки динамики общей двигательной активности.

После облучения мозга мышей наносекундным ИПРИ наиболее выраженный эффект изменения динамики суточной двигательной активности наблюдался при воздействиях с частотами повторения 13 и 22 имп./с. Статистически значимое снижение двигательной активности наблюдалось на 7, 8,

9 и 10 сутки (13 имп./с). Наоборот, увеличение динамики двигательной активности наблюдалось при облучении с частотой повторения 22 имп./с на 1, 2, 3 и 4 сутки (Рисунок 17 А, Б).

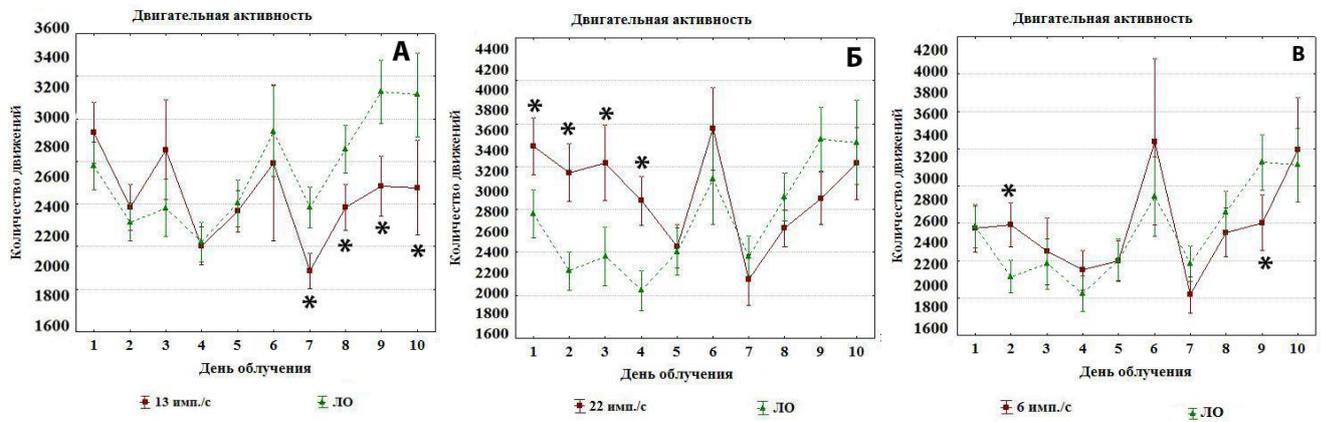


Рисунок 17. Динамики изменения суточной двигательной активностей мышей в течение 10 дней облучения ИПРИ в дозе 1.0 Гр и частотами 13, 22 и 6 имп./с. Примечание: обозначения те же, что и к рисунку 15

Наименее эффективное влияние оказывало воздействие с частотой повторения 6 имп./с, так как наблюдалось увеличение двигательной активности только на 2 сутки и незначительное снижение на 9 сутки эксперимента (Рисунок 17 В).

Результаты дисперсионного анализа показали отсутствие статистически значимых различий в динамике суммарной двигательной активности в разное время суток (день-ночь) между облученными и ЛО животными (Рисунок 18).

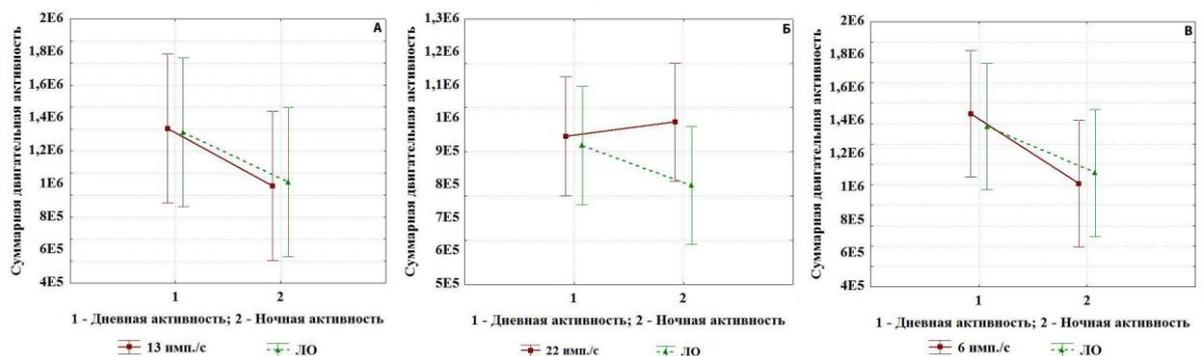


Рисунок 18. Результаты дисперсионного анализа изменения суммарной двигательной активности мышей после облучения ИПРИ в дозе 1.0 Гр с частотами повторения 13, 22 и 6 имп./с

Полученные результаты свидетельствуют о том, что воздействие ИПМИ и ИПРИ на мозг изменяет поведение животных в «открытом поле» и влияет на суммарную двигательную активность в динамике по ходу эксперимента.

3.1.5 Анализ и краткое резюме эффектов влияния наносекундных ИПМИ и ИПРИ на поведение и двигательную активность мышей

Проведенные эксперименты показали, что воздействие на мозг наносекундными ИПМИ и ИПРИ влияет на поведенческие реакции в «открытом поле» и динамику общей двигательной активности у лабораторных мышей. Выявленные эффекты при этом зависят от вида ЭМИ (ИПМИ или ИПРИ), частоты повторения импульсов и времени суток оценки двигательной активности. Характер динамики двигательной активности мышей, по-видимому, является результатом взаимоотношения процессов возбуждения и торможения в структурах головного мозга, которые контролируют поведенческую активность (Замощина Т.А. и др., 2012; Павлова Л.Н. и др., 2010). Такое контролирующее влияние приобретает сложный характер. В частности, как оказалось, в результате воздействия ИПМИ с частотой повторения 6 имп./с, соответствующей диапазону Θ -ритма электроэнцефалограммы, у животных изменялся характер динамики дневной суммарной двигательной активности. Можно предположить, что это происходило за счет активирующего влияния ИПМИ на гиппокамп. Активация этой структуры приводит к изменению поведения животных и увеличению эмоциональной составляющей, что согласуется с результатами экспериментов в «открытом поле», когда возникало увеличение интенсивности груминга у мышей, за счёт чего их двигательная активность в «поле» возрастала.

В отличие от эффектов ИПМИ, облучение ИПРИ с частотой повторения 6 имп./с оказалось неэффективным, поскольку ни суточная, ни суммарная двигательная активности у облученных и ЛО животных статистически не отличались. То есть ИПРИ с частотой повторения 6 имп./с, в отличие от ИПМИ, с

этой же частотой повторения, по-видимому, не оказывает влияние на деятельность гиппокампа. Воздействие ИПРИ с частотами 13 и 22 имп./с вызывало статистически значимое изменение двигательной активности у мышей в динамике десятидневного облучения. Эти эффекты были неоднозначными и наблюдались в разные дни воздействий. При облучении с частотой 13 имп./с происходило снижение показателя активности относительно ЛО животных только в последние дни эксперимента. Воздействие с частотой повторения 22 имп./с, напротив, увеличивало двигательную активность, но в первые несколько дней облучения.

Такой разнонаправленный и разновременной характер реагирования на ИПРИ позволяет допустить, что рентгеновское излучение с разной частотой повторения может оказывать влияние как минимум на две различные системы головного мозга, противоположным образом изменяющие двигательную активность. Можно предположить, что при воздействии ИПРИ на головной мозг происходило инициирование и активация мотивационной составляющей компоненты поведения в виде активно-поискового поведения в структурах гипоталамуса. Не исключено, что облучение с частотой 13 имп./с вызывало усиление β_1 -ритма в гипоталамусе, что сопровождалось «отсроченной реакцией» в виде снижения двигательной активности в последние дни облучения. При облучении с частотой 22 имп./с, по-видимому, также происходило усиление, но уже β_2 -ритма, что сопровождалось повышением двигательной компоненты поведения в первые дни облучения. Отсутствие значимых различий в динамиках дневной и ночной двигательной активностей между облученными ИПРИ и ЛО животными, выявленное при дисперсионном анализе полученных результатов, может не означать, что мозг не реагирует на воздействие. Это может означать, что структуры, ответственные за усиление и ослабление двигательной активности компенсируют друг друга, тем самым «маскируя» итоговый индикаторный эффект. Аналогичная ситуация наблюдалась при изучении действия радиочастотного импульсного электромагнитного излучения на электрическую

активность нейронов моллюсков (Большаков М.А., Алексеев С.И., 1987). Выявленная способность ИПМИ и ИПРИ изменять деятельность головного мозга соответствует ранее полученным результатам исследований влияния на мозг микроволн с другими характеристиками, в частности, более длительными импульсами (Rakhomov A.G. et al., 2000), а также низкодозовым рентгеновским излучением (Нягу А.И., Логановский К.Н., 1997). При этом характер реагирования мозга на ИПРИ отличается от эффектов непрерывного хронического воздействия рентгеновским излучением в низких дозах менее 1.0 Гр (Martin C. et al., 2001; Севериновская Е.В. и др., 2006).

3.2 Оценка уровня нейрональной активации структур мозга с помощью белков раннего ответа c-fos

Результаты исследования воздействия ИПМИ и ИПРИ на головной мозг мышей продемонстрировали изменения ряда поведенческих реакций и общей двигательной активности животных. Этому должны были способствовать изменения электрической активности в соответствующих структурах мозга. Поэтому исследование нейрональной активации в областях мозга, имеющих отношение к регуляции этих реакций, таких как гипоталамус, ретикулярная формация и моторная кора после облучения мозга могло бы уточнить природу наблюдаемых поведенческих эффектов.

Белок раннего ответа c-fos является одним из популярных современных нейробиологических индикаторов отображения функциональной активности головного мозга (Sundquist S.J., Nisenbaum L.K., 2005). Кроме того, активация белка c-fos рассматривается как один из основных сохранившихся в эволюции компонентов нейронального ответа на повреждение. В спокойном состоянии клетки он показывает небольшой фоновый уровень активности, но активируется в ответ на какие-либо новые информационные процессы при самых разнообразных влияниях на нервную клетку (Dragunow M., Faull R., 1989; Sheng M., Greenberg M.E., 1990; Сварник О.Е. и др., 2001). По этой причине он представляет интерес и для оценки эффектов влияния импульсных микроволнового и рентгеновского излучений. Поэтому было проведено исследование уровня нейрональной активации в указанных областях головного мозга, что оценивалось по количеству активированных, то есть экспрессирующих c-fos белок нейронов, по отношению к общему их количеству нейронов на микрофотографии структуры мозга размером 500×500 мкм.

3.2.1 Нейрональная активация в структурах мозга после воздействия ИПМИ

Иммуногистохимический анализ срезов головного мозга позволил установить эффект изменения в содержании клеток, экспрессирующих белок c-fos после облучения в течение 10 дней ИПМИ (пППМ 1500 Вт/см²) с частотами 13 и 16 имп/с. Эффекты изменения уровня нейрональной активации оказались зависимыми от частоты повторения импульсов и исследуемых структур мозга.

На рисунке 19 представлены примеры микрофотографий гистологических срезов головного мозга в области ядер гипоталамуса.

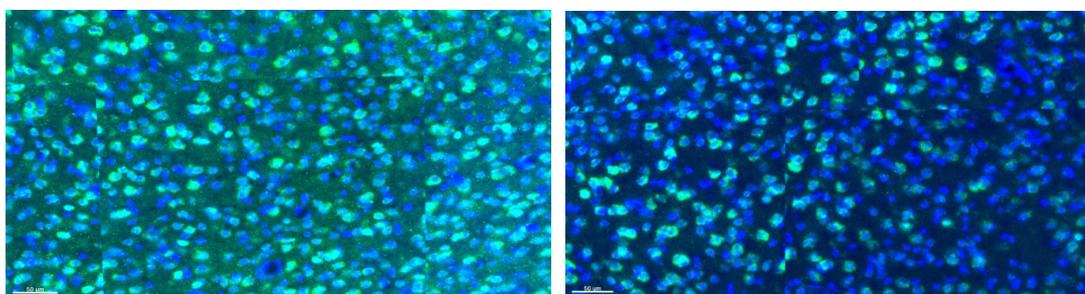


Рисунок 19. Микрофотографии срезов ядер гипоталамуса мозга мышей, демонстрирующие клетки с экспрессией белка c-fos (зеленый цвет) у облученных ИПМИ с частотой 16 имп./с (слева) и ложнооблученных (справа)

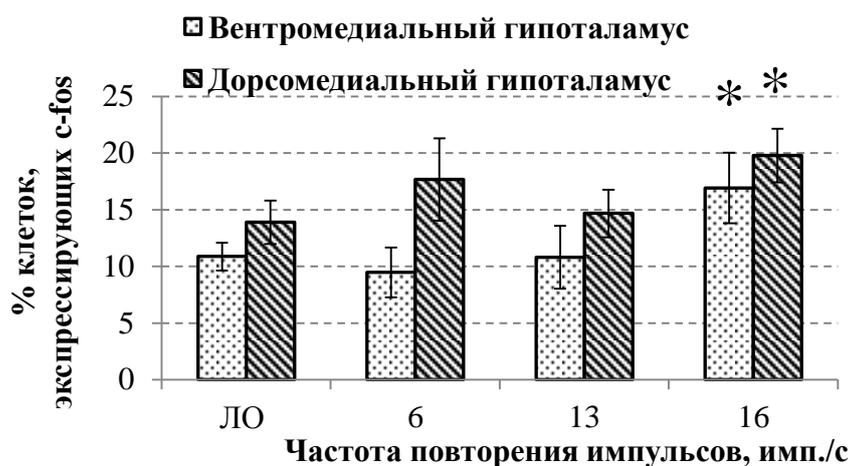


Рисунок 20. Процент клеток, экспрессирующих белок c-fos в ядрах гипоталамуса. Примечание: * – различия статистически значимы по отношению к показателям ЛО животных ($p \leq 0,05$)

Установлено, что воздействие на мозг с частотой повторения 16 имп./с вызывало увеличение количества активированных клеток c-fos в вентромедиальном и дорсальном ядрах гипоталамуса (Рисунок 20), в то время как после воздействия с частотами повторения 6 и 13 имп./с значимого изменения уровня активированных нейронов в гипоталамусе не наблюдалось.

Было установлено, что после облучения мозга с частотой повторения 13 имп./с в ретикулярной формации наблюдается увеличение процента клеток с повышенной экспрессией белка c-fos (Рисунок 22).

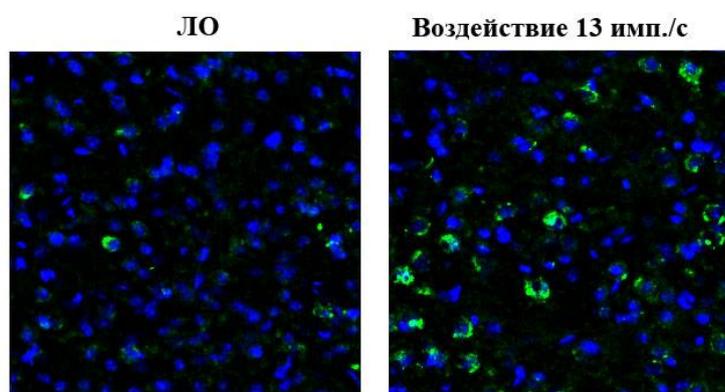


Рисунок 21. Микрофотографии срезов ретикулярной формации, демонстрирующие клетки с экспрессией белка c-fos (зеленый цвет) у ложнооблученных (ЛО) и облученных животных ИПМИ с частотой 13 имп./с



Рисунок 22. Процент клеток, экспрессирующих белок c-fos в ретикулярной формации. Примечание: обозначения те же, что и к рисунку 20

Весьма неожиданным оказалось то, что облучение головного мозга мышей не вызывало статистически значимого изменения уровня нейрональной активации в моторной коре головного мозга (Рисунок 23). Отсутствие значимого эффекта повышения нейрональной активации в моторной коре наблюдалось после десяти дней облучения. Это происходило на фоне отсутствия различий в общей двигательной активности в конце облучения животных, что представлено в разделе 3.1.3.



Рисунок 23. Процент клеток, экспрессирующих белок c-fos в моторной коре после облучения головного мозга ИПМИ

Можно предположить, что уровень нейрональной активации моторной коры мог быть повышен в ходе облучения только в те дни, когда изменялась динамика общей двигательной активности мышей (Рисунок 15), однако такой эффект в условиях проведенных экспериментов установить не было возможности.

3.2.2 Нейрональная активация в структурах мозга после воздействия ИПРИ в дозах 0.2 и 1.0 Гр.

Анализ срезов головного мозга после облучения ИПРИ также показал наличие активации нейронов в структурах мозга, как и после воздействия ИПМИ. Эффекты реагирования подкорковых структур определялись дозой и частотой повторения наносекундных импульсов рентгеновского излучения.

После облучения головного мозга ИПРИ в гипоталамусе наблюдалось значимое увеличение нейрональной активации, но только после воздействия в дозе 1.0 Гр с частотой повторения 13 имп./с (Рисунок 24).

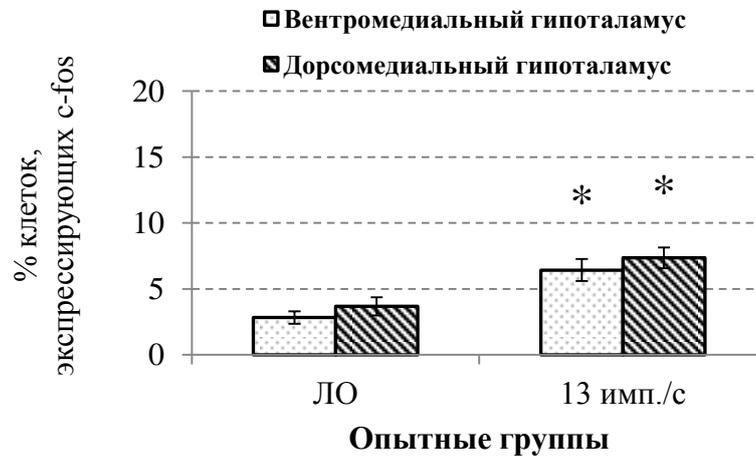


Рисунок 24. Процент клеток, экспрессирующих белок c-fos в ядрах гипоталамуса после облучения головного мозга мышей ИПРИ в дозе 1.0 Гр. Примечание: * – различия статистически значимы по отношению к показателям ЛО животных ($p \leq 0,05$)

Параллельно этому облучение в обеих дозах (0.2 и 1.0 Гр) с частотами повторения 6 и 13 имп./с вызывало статистически значимое увеличение процента нейронов, активированных белком c-fos в ретикулярной формации (Рисунок 25).

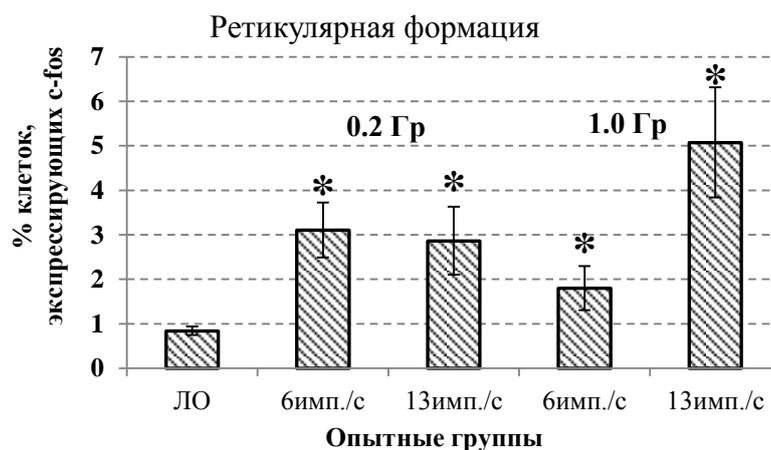


Рисунок 25. Процент клеток, экспрессирующих белок c-fos в ретикулярной формации после облучения головного мозга мышей ИПРИ в дозах 0.2 и 1.0 Гр.

Примечание: обозначения те же, что и к рисунку 24

Это указывает на то, что десятидневное воздействие ИПРИ на мозг формирует устойчивое возбуждение в ретикулярной формации.

В отличие от подкорковых структур, в моторной коре мозга мышей экспрессия белка *c-fos* у облученных и ложнооблученных мышей статистически значимо не отличалась (Рисунок 26), хотя после воздействия с частотой 13 имп./с наблюдалась некоторая тенденция увеличения нейрональной активации.

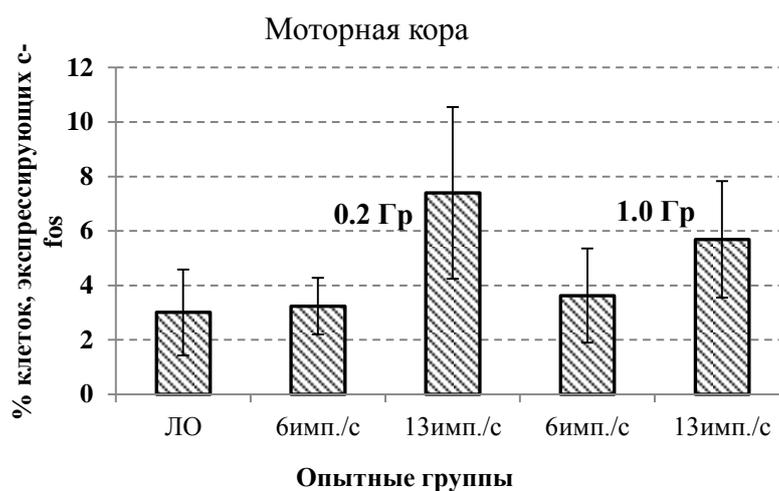


Рисунок 26. Процент клеток, экспрессирующих белок *c-fos* в моторной коре после облучения головного мозга мышей ИПРИ в дозах 0.2 и 1.0 Гр

Отсутствие реакций в моторной коре после облучения головного мозга мышей ИПМИ и ИПРИ может быть обусловлено своеобразной нейрональной организацией этой структуры. Согласно М.Н. Жадину (Жадин М.Н., 1984), 96–98% корковых нейронов не обладают спонтанной активностью. Кроме того, для нейронов коры характерен очень низкий уровень межимпульсной корреляции. Четкий ритмический рисунок, по-видимому, вообще не свойственен спонтанной активности клеток коры спокойного бодрствующего животного. Как ранее было показано, радиочастотное импульсно-модулированное ЭМИ оказывает влияние только на спонтанно активные нейроны (Большаков М.А., Алексеев С.И., 1987; Захарова Н.М., 1998). Поэтому возможным вариантом объяснения отсутствия эффектов в моторной коре после облучения ИПМИ и ИПРИ, может быть то, что влияние оказывается только на спонтанно активные клетки, которых, как

выясняется в коре очень мало, порядка 2–4%. Помимо этого, как уже отмечалось, уровень нейрональной активации в моторной коре мог быть повышенным только в те дни, когда наблюдалось изменение (увеличение или уменьшение) динамики общей двигательной активности у животных, но исследовать уровень нейрональной активации структур в эти дни эксперимента не было возможности.

Таким образом, результаты исследования нейрональной активации в вентромедиальном и дорсальном ядрах гипоталамуса и ретикулярной формации головного мозга после воздействия на него ИПМИ и ИПРИ, продемонстрировало в ряде случаев повышение экспрессии белка *c-fos*, что указывает на увеличение нейрональной активации и соответствующее увеличение процессов возбуждения в этих структурах. Это подтверждает факт того, что ИПМИ и ИПРИ влияет на деятельность головного мозга.

3.3. Масса тела и внутренних органов мышей с учетом потребления пищи после воздействия наносекундных ИПМИ и ИПРИ на головной мозг

3.3.1 Влияние ИПМИ на массу тела мышей и внутренних органов с учетом потребления пищи

Как было показано в предыдущих разделах, после облучения головного мозга мышей наблюдалось изменение поведенческих реакций и общей двигательной активности, а также изменение нейрональной активации в гипоталамусе и ретикулярной формации. Поэтому не исключалось, что изменение в деятельности головного мозга, контролирующего жизненные функции организма, может оказать влияние на состояние различных внутренних органов и тканей. В частности, возможные изменения функционирования центров голода-насыщения в гипоталамусе могли повлиять на аппетит животных и соответственно, на изменение массы их тела и органов в течение эксперимента. Кроме того, реакция вентромедиального гипоталамуса и ядер, секретирующих Y-пептид, может оказывать влияние на липидный обмен и изменение массы жировой ткани. Поэтому представлялось важным исследовать массу тела, а также состояние печени, селезенки и эпидидимальной жировой ткани после облучения мозга мышей ИПМИ и ИПРИ.

Прирост массы тела рассчитывался как разность масс тела животных между конечной и исходной величинами, т.е. показатели веса животных в начале и в конце эксперимента. Для корректной оценки относительного прироста массы тела животных также измерялось количество потребленного корма в течение всех серий экспериментов, в соответствии с рекомендацией (Никоноров А.А. и др., 2013).

Анализ полученных результатов воздействия наносекундного ИПМИ на деятельность головного мозга позволил установить, что десятидневное облучение мозга сопровождалось изменением прироста массы облученных мышей и количества потребленной ими пищи.

Десятидневное воздействие ИПМИ при всех частотах повторения импульсов статистически значимо снижало потребление пищи животными относительно такового у ложнооблученных животных (Рисунок 27 А). Априори, это должно было сопровождаться снижением прироста масс тела у всех облученных животных.

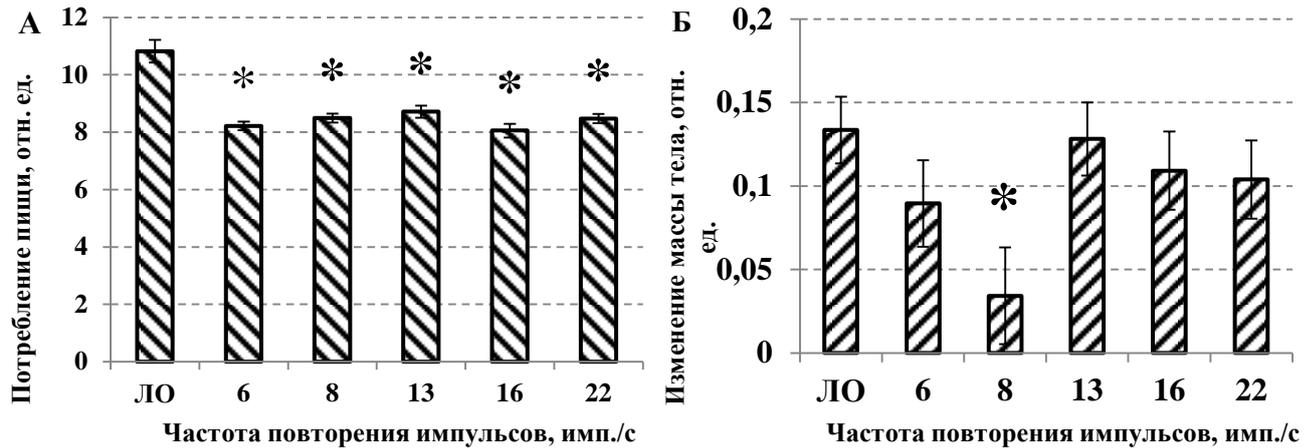


Рисунок 27. Относительное потребление пищи и прирост массы тела относительно показателя у ЛО мышей. Примечание: представлены среднеарифметические значения показателя \pm ошибка среднего; * – различия статистически значимы по отношению к показателям ЛО животных ($p \leq 0,05$)

Однако, оказалось, что изменение прироста массы тела (снижение) наблюдалось только после облучение с частотой 8 имп./с (Рисунок 27 Б). Остальные режимы воздействия оказались неэффективны относительно этого показателя.

При этом также оказалось, что в результате воздействия на головной мозг наблюдалось статистически значимое уменьшение массы печени после облучения с частотой 8 имп./с (Рисунок 28 А), а увеличение массы селезенки – после воздействия с частотами 6, 13, 16 и 22 имп./с (Рисунок 28 Б).

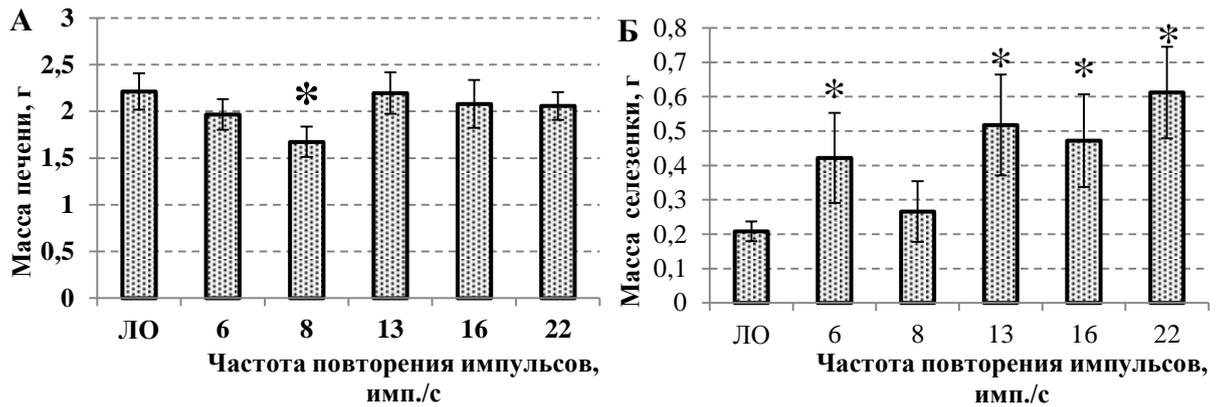


Рисунок 28. Массы печени и селезенки после облучения ИПМИ головного мозга с пППМ 1500 Вт/см^2 относительно показателя у ЛО мышей. Примечание: обозначения те же, что и к рисунку 27

На фоне таких изменений масса эпидидимальной жировой ткани осталась неизменной после воздействия со всеми частотами повторения относительно показателей ложнооблученных животных (Рисунок 29).

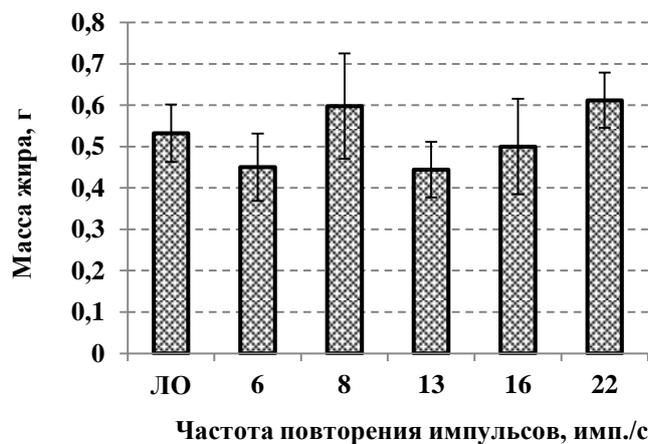


Рисунок 29. Масса эпидидимального жира мышей после облучения ИПМИ головного мозга с пППМ 1500 Вт/см^2 относительно показателя у ЛО мышей.

Примечание: обозначения те же, что и к рисунку 27

Таким образом, полученные результаты экспериментов позволяют считать, что воздействие ИПМИ на головной мозг инициирует в организме животных метаболические сдвиги, зависящие от частоты повторения импульсов, которые сопровождаются снижением прироста массы тела, массы печени и увеличением массы селезенки. Предположительно такие сдвиги могут определяться

несколькими причинами. В частности, снижение темпа прироста массы тела может быть обусловлено либо подавлением центра голода, либо активацией центра насыщения в гипоталамусе, что снижает потребление пищи. Снижение массы печени после воздействия с частотой 8 имп./с на 10–20% может быть обусловлено компенсирующим выбросом гликогена из печени. Согласно литературным данным (Безбородкина Н.Н. и др., 2009), гепатоциты способны накапливать до 8% своего веса в виде гликогена. Увеличение массы селезенки после воздействия с частотами повторения 6, 13, 16 и 22 имп./с, по-видимому, может быть объяснено уменьшением выхода депонированных эритроцитов в кровяное русло. Масса эпидидимальной жировой ткани после облучения головного мозга ИПМИ со всеми использованными режимами значимо не изменялась.

3.3.2 Влияние ИПРИ на массу тела мышей и внутренних органов и тканей с учётом потребления пищи

Облучение головного мозга мышей ИПРИ, также как и ИПМИ, оказывало влияние на прирост массы тела животных, и потребление пищи, а также на массу печени, селезенки и эпидидимальной жировой ткани.

Эффекты облучения в дозе 0.2 Гр. Облучение мозга ИПРИ в течение 10 дней (накопленная доза 0.2 Гр) не оказывало статистически значимого влияния на прирост массы тела животных (Рисунок 30 А). Однако, при этом после воздействия со всеми исследуемыми частотами происходило статистически значимое снижение потребления пищи мышами (Рисунок 30 Б).

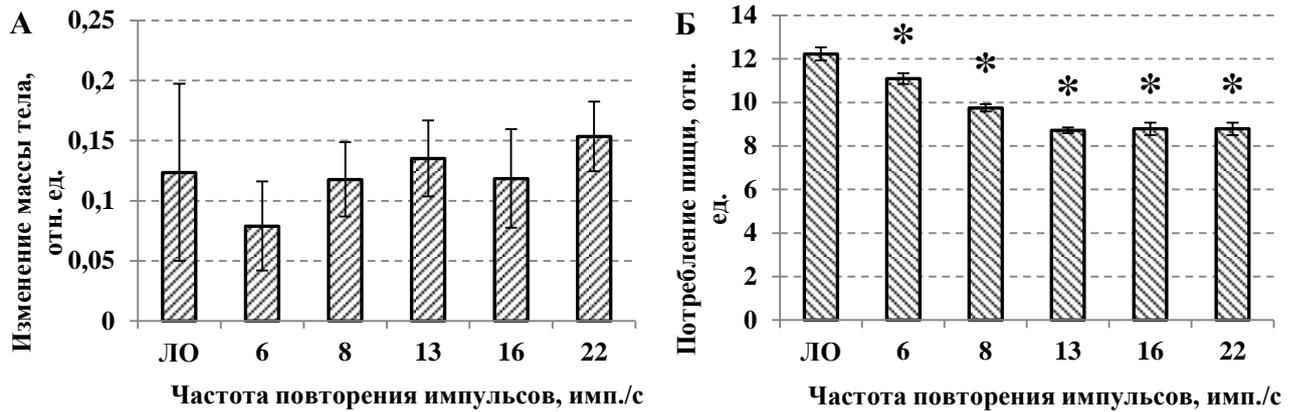


Рисунок 30. Прирост массы тела (А) и относительное потребление пищи (Б) после облучения ИПРИ головного мозга в дозе 0.2 Гр относительно показателя у ЛО мышей. Примечание: представлены среднеарифметические значения показателя \pm ошибка среднего; * – различия статистически значимы по отношению к показателям ЛО животных ($p \leq 0,05$)

На фоне этого происходило снижение массы печени (Рисунок 31 А) при всех частотах повторения импульсов и селезенки (Рисунок 31 Б) при всех частотах повторения импульсов, кроме 22 имп./с.

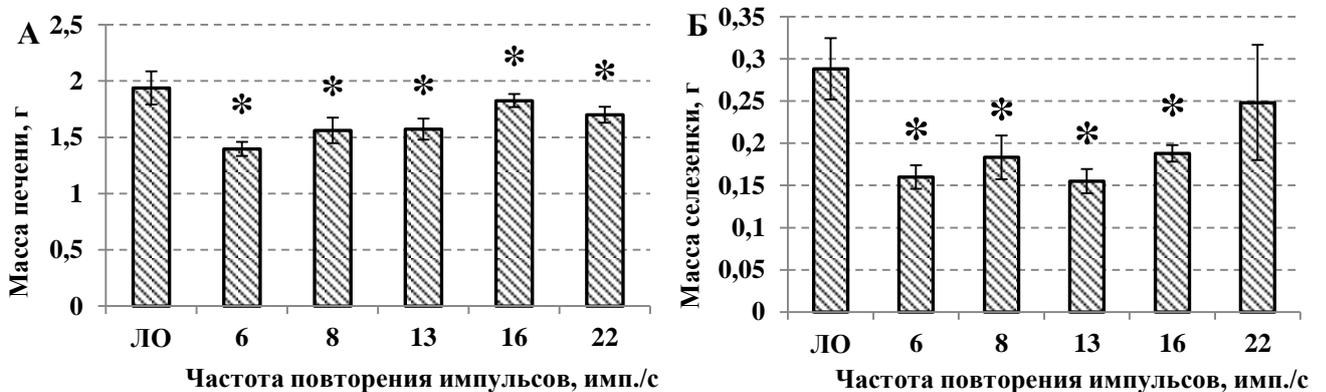


Рисунок 31. Масса печени и селезенки после облучения ИПРИ головного мозга в дозе 0.2 Гр относительно показателя у ЛО мышей. Примечание: обозначения те же, что и к рисунку 30

Кроме этого, после воздействия ИПРИ с частотами повторения 16 и 22 имп./с наблюдалось статистически значимое увеличение массы эпидидимальной

жировой ткани (Рисунок 32), что не согласуется с фактом снижения потребления пищи животными.

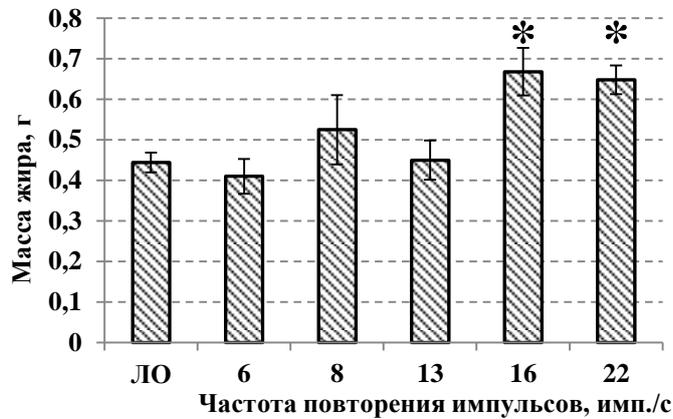


Рисунок 32. Масса эпидидимального жира мышей после облучения ИПРИ головного мозга в дозе 0.2 Гр относительно показателя у ЛО мышей. Примечание: обозначения те же, что и к рисунку 30

Возможно, это обусловлено тем, что воздействие ИПРИ на головной мозг влияет на жировой обмен в организме мышей, при котором либо увеличивается липогенез, либо снижается липолиз, обеспечивающие увеличение массы жировой ткани.

Эффекты облучения в дозе 1.0 Гр. Воздействие ИПРИ в большей дозе (накопленная доза за 10 дней 1.0 Гр) сопровождалось изменением всех исследуемых показателей, то есть оказалось более эффективным по сравнению с дозой 0.2 Гр. Наиболее выраженное и однозначное действие оказывало облучение с частотой 6 имп./с. Оно сопровождалось снижением прироста массы тела у животных (Рисунок 33 А), потребления пищи (Рисунок 33 Б), а так же уменьшением массы печени и селезенки (Рисунок 34 А, Б). Снижение массы печени и селезенки при остальных частотах воздействия происходило аналогично тому, как и после облучения в дозе 0.2 Гр.

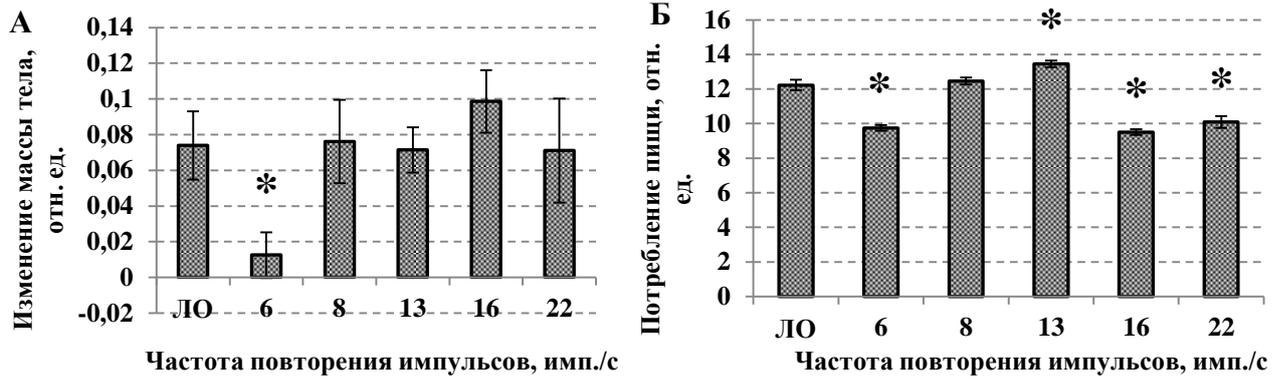


Рисунок 33. Прирост массы тела (А) и относительное потребление пищи (Б) после облучения ИПРИ головного мозга в дозе 1 Гр относительно показателя у ЛО мышей. Примечание: представлены среднеарифметические значения показателя \pm ошибка среднего; * – различия статистически значимы по отношению к показателям ЛО животных ($p \leq 0,05$)

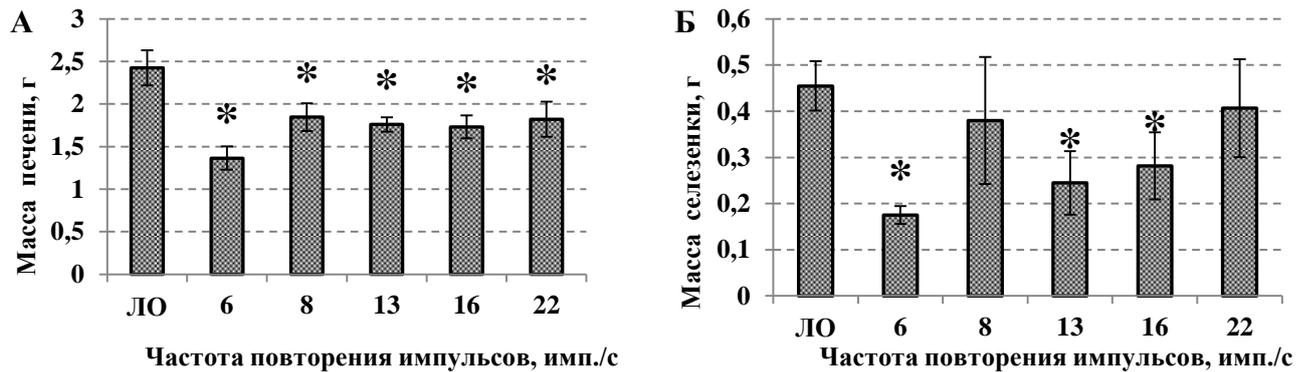


Рисунок 34. Масса печени и селезенки после облучения ИПРИ головного мозга в дозе 1.0 Гр относительно показателя у ЛО мышей. Примечание обозначения те же, что и к рисунку 33

Изменение массы жировой ткани не всегда было скоррелировано с потреблением пищи. В частности, на фоне снижения потребления пищи после воздействия с частотой 6 имп./с наблюдалось увеличение массы жира. И, наоборот, после облучения с частотой 13 имп./с параллельно с увеличением потребления пищи масса жировой ткани также увеличивалась (Рисунок 35).

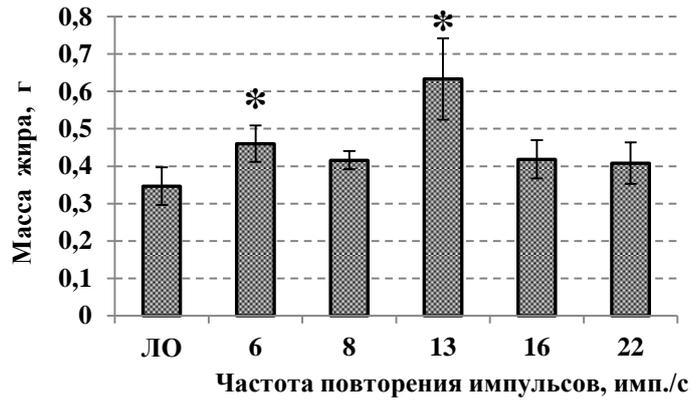


Рисунок 35. Масса эпидидимального жира мышей после облучения ИПРИ головного мозга в дозе 1.0 Гр относительно показателя у ЛО мышей. Примечание: обозначения те же, что и к рисунку 33

Это указывает на сложный и неоднозначный характер изменения жирового обмена после облучения ИПРИ головного мозга, причиной чему могут быть изменения в процессах липолиза и липогенеза.

Таким образом, из анализа полученных результатов следует, что облучение головного мозга наносекундным ИПРИ влияет на протекание метаболических процессов в организме мышей и характер такого влияния имеет достаточно сложную неоднозначную картину. Наблюдавшиеся эффекты зависят, прежде всего, от частоты повторения импульсов, и в меньшей степени от величины поглощенной дозы. Это свидетельствует об участии в формировании эффектов нескольких областей головного мозга, в первую очередь гипоталамуса, которые либо активируются, либо тормозятся под влиянием ИПРИ, что находит свое отображение в метаболических процессах, контролируемых головным мозгом.

3.4 Содержание гормонов кортикостерона и лептина после облучения головного мозга ИПМИ и ИПРИ

Поскольку облучение головного мозга мышей ИПМИ и ИПРИ изменяло поведенческие реакции, массу тела и другие метаболические показатели, объективно появилась необходимость в определении каналов связи между изменённой деятельностью мозга и метаболизмом организма. Как известно, для управления функциями и состоянием организма мозг использует нервный и гуморальные каналы связи. Нервная регуляция осуществляется с помощью электрических импульсов, идущих по нервным клеткам. Химическая (гуморальная) регуляция процессов жизнедеятельности осуществляется адресно за счет гормонов и различных метаболитов, выделяемых во внутреннюю среду организма. Хорошо известно (Кондашевская М.В. и др., 2013), что энергетическое и функциональное состояние всего организма мышей во многом определяется гормональным статусом. Кроме того, одной из интегральных характеристик какого-либо влияния, реализуемых посредством гормонов, является стресс, в реализации которого у мышей важная роль принадлежит кортикостерону. Ранее высказывалось предположение, что облучение мышей ИПМИ и ИПРИ может вызывать стресс-реакцию в организме, а уровень кортикостерона в крови будет выступать универсальным индикатором наличия или отсутствия стресса (Zharkova L.P., 2010). Этот гормон относится к глюкокортикоидам, которые являются универсальными регуляторами метаболизма, производящими переключение пластических процессов на энергетические. Установлено, что ускорение глюконеогенеза в печени под влиянием глюкокортикоидов обуславливает значительно меньшую потерю гликогена (Лушникова Е.Л. и др., 2009). Помимо этого, депрессивное состояние у животных после облучения ИПМИ может свидетельствовать о развитии стресса в организме. Радиобиологические исследования показывают (Poglio, S., 2009), что увеличение массы жировой ткани после радиационного воздействия, аналогично тому, как

наблюдалось после воздействия ИПРИ, также является результатом развития стресса.

Гормон лептин секретируется в адипоцитах, свободно циркулирует в крови, и его синтез определяется количеством потребляемой пищи. По современным представлениям, как уже отмечалось, лептин участвует в нейроэндокринных процессах, в которых гормон подает сигнал в гипоталамус через активацию локализованных в нём специфических лептиновых рецепторов. Таким образом он участвует в снижении аппетита и увеличении расхода энергии (Schwartz M.W., 1997). За счет этого он также участвует в регуляции скорости липолиза и уменьшении содержания триглицеридов в белой жировой ткани. Параллельно лептин имеет ЦНС-опосредованное влияние на метаболизм и содержание глюкозы в крови (Jenkins A.V. et al., 1997). Поэтому в проводимых экспериментах с целью установления картины метаболических перестроек в энергетическом и жировом обмене была проведена серия экспериментов, в которых с помощью иммуноферментного «сэндвич»-метода определялось содержание гормонов кортикостерона и лептина, а также регулируемых ими глюкозы и триглицеридов в сыворотке крови облученных и ложнооблученных мышей.

Было установлено, что после десятидневного воздействия ИПМИ и ИПРИ с частотами повторения 6, 13 и 16 имп./с происходило значимое увеличение концентрации кортикостерона в сыворотке крови в 3.3, 3.2 и 2.7 раза соответственно (Таблица 7). Это свидетельствует в пользу того, что воздействие ИПМИ способствует развитию стресса в организме животных. Однако, после воздействия с частотой 22 имп./с (Таблица 7) происходило статистически значимое уменьшение содержания кортикостерона в 4.9 раза по отношению к ложнооблученным животным. Это указывает на сложный и неоднозначный характер влияния ИПМИ на головной мозг и контролируемые им метаболические процессы. При этом не исключено, что уменьшение содержания является результатом истощения естественного пула этого гормона в результате развития очень сильного стресса.

Таблица 7. Влияние ИПМИ и ИПРИ на содержание кортикостерона в сыворотке крови мышей после облучения головного мозга

Режим воздействия	ИПМИ		ИПРИ	
	1500 Вт/см ²		Доза 0.2 Гр	Доза 1.0 Гр
	Концентрация гормона, нг/мл			
Интактная группа	28.61 ± 2.8	28.61 ± 2.8	28.61 ± 2.8	28.61 ± 2.8
ЛО	21.06 ± 4.7	19.96 ± 9.4	19.96 ± 9.4	19.96 ± 9.4
6 имп./с	69.31 ± 16.2 * ↑	29.71 ± 8.6	24.40 ± 11.2	
8 имп./с	11.90 ± 7.2	Не определялось	Не определялось	
13 имп./с	66.96 ± 12.8 * ↑	14.91 ± 8.1	26.90 ± 6.7	
16 имп./с	57.22 ± 15.3 * ↑	Не определялось	Не определялось	
22 имп./с	4.32 ± 0.3 * ↓	Не определялось	27.51 ± 9.3	

Представлены среднеарифметические значения показателя ± ошибка среднего; * – различия статистически значимы по отношению к показателям в группах ложного облучения ($p \leq 0,05$)

В отличие от результатов воздействия ИПМИ после облучения мозга ИПРИ в дозах 0.2 и 1.0 Гр при исследуемых частотах повторения импульсов в крови облученных животных не наблюдалось статистически значимых изменений уровня кортикостерона по отношению к ложнооблученным (Таблица 7). Это означает, что воздействие ИПРИ не способствует формированию стресса и указывает на определенные физиологические отличия влияния ИПМИ и ИПРИ на деятельность головного мозга. Такой результат не позволяет говорить о развитии стресса в организме, согласуется с поведенческими эффектами в «открытом поле» и литературными данными, что для развития радиационно индуцированного стресса необходимы более высокие дозы облучения 4–5 Гр (Гулик Е.С., Костеша Н.Я., 2004).

Анализ концентрации лептина в сыворотке крови показал, что облучение ИПМИ с частотой 16 имп./с не оказывало влияние на уровень лептина, в то время как воздействие с частотами повторения 6, 8, 13 и 22 имп./с приводило к разнонаправленному статистически значимому изменению его концентрации в крови (Таблица 8). Это отображает факт влияния ИПМИ на жировой обмен в организме животных после облучения головного мозга. Именно это может быть причиной снижения массы тела и органов, а также потребления пищи животными в результате облучения. Взаимоотношение между мозгом и жировой тканью имеет неоднозначный характер, поскольку уменьшение содержания

триглицеридов в крови, как следствие активации липолиза, произошло только после воздействия на мозг с частотой 6 имп./с.

Таблица 8. Влияние ИПМИ на содержание в сыворотке крови лептина, глюкозы и триглицеридов после облучения головного мозга

Режим воздействия	Лептин, нг/мл	Глюкоза, ммоль/л	Триглицериды, ммоль/л
Интактная группа	1.96 ± 0,54	5.98 ± 0.5	2.2 ± 0.1
ЛО	2.51 ± 0.15	5.34 ± 0.2	2.36 ± 0.1
6 имп./с	0.21 ± 0.2 *↓	5.5 ± 0.1	2.03 ± 0.1 *↓
8 имп./с	4.65 ± 1.9 *↑	4.58 ± 0.2	Не определялось
13 имп./с	1.12 ± 0.5 *↓	5.75 ± 0.5	2.27 ± 0.02
16 имп./с	1.98 ± 1.5	5.81 ± 0.4	2.33 ± 0.1
22 имп./с	5.44 ± 2.5 *↑	5.58 ± 0.2	Не определялось

Представлены среднеарифметические значения показателя ± ошибка среднего; * – различия статистически значимы по отношению к группе ложного облучения ($p \leq 0,05$)

Неизменный уровень глюкозы позволил предположить, что в организме мышей, облученных с частотой повторения 6 имп./с возможно переключение энергетического обмена с углеводного на липидный, а глюкоза, по-видимому, поддерживается за счет извлечения гликогена из печени, что согласуется с уменьшением ее массы после аналогичного облучения.

Облучение головного мозга ИПРИ в дозе 0.2 Гр с частотой повторения 6 имп./с увеличивало концентрацию лептина в сыворотке крови. Воздействие с частотой 13 имп./с, напротив, снижало уровень лептина (Таблица 9).

Воздействие в дозе 1.0 Гр и с частотами повторения 6 и 22 имп./с вызывало только снижение концентрации лептина в крови. При этом уровень глюкозы после воздействия в обеих дозах статистически значимо не изменялся, что можно трактовать, по-видимому, переключением энергетического метаболизма на липидный (Таблица 9).

Таблица 9. Влияние ИПРИ на содержание в сыворотке крови лептина и глюкозы после облучения головного мозга

Режим воздействия		Лептин, нг/мл	Глюкоза, ммоль/л
Доза 0.2 Гр	Интактная группа	1.96 ± 0.5	5.98 ± 0.5
	ЛО	2.91 ± 0.8	4.72 ± 0.3
	6 имп./с	10.20 ± 1.8 *↑	6.01 ± 0.8
	13 имп./с	0.79 ± 0.3 *↓	5.45 ± 0.2
	22 имп./с	Не определялось	Не определялось
Доза 1.0 Гр	Интактная группа	1.96 ± 0.5	5.98 ± 0.5
	ЛО	2.91 ± 0.8	4.72 ± 0.3
	6 имп./с	1.22 ± 0.2 *↓	5.95 ± 0.4
	13 имп./с	2.48 ± 1.0	5.43 ± 0.2
	22 имп./с	1.38 ± 0.18 *↓	5.48 ± 0.3
Представлены среднеарифметические значения показателя ± ошибка среднего; * – различия статистически значимы по отношению к группе ложного облучения ($p \leq 0,05$)			

Сравнительный анализ гормональных и биохимических показателей в сыворотке крови после воздействия ИПРИ на мозг отображает меньшую степень его влияния на организм, по сравнению с ИПМИ.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют, что эффекты воздействия на головной мозг реализуются с помощью системы молекулярной сигнализации посредством гормонов и регулируемых ими веществ углеводно-жирового обмена. При этом нельзя исключать, что регулирующее влияние мозга на ткани и органы может быть опосредованно также каналами электрической сигнализации, но этот аспект в работе не исследовался. Тем не менее, неоднозначный характер реакций как тканей и органов, так и содержания гормонов и биологически активных веществ в крови не исключают такую возможность. При этом реагирование организма на воздействие ИПМИ на мозг может существенно быть связанным с развивающимся стрессом у животных, в то время как реакции на ИПРИ реализуются по другому физиологическому механизму, не опосредованному стрессом.

3.5 Влияние импульсно-периодического микроволнового излучения непосредственно на жировую ткань

3.5.1 Масса эпидидимальной жировой ткани и размеры адипоцитов после их непосредственного облучения ИПМИ

Из результатов, изложенных ранее, следовало, что жировая ткань мышей после воздействия на головной мозг может реагировать изменением массы эпидидимального жира. В связи с этим объективно возникает вопрос: может ли реагировать сама жировая ткань на прямое импульсно-периодическое электромагнитное воздействие. Ранее было показано (Poglio S. et al., 2009), что после прямого воздействия на эпидидимальную жировую ткань рентгеновским излучением такая реакция есть. Она проявляется в изменении массы ткани и размеров адипоцитов. Относительно влияния микроволн на жировую ткань имелись классические данные Х.П. Швана (Schwan H.P., 1980) о физической стороне такого взаимодействия, в результате чего ткань определенным образом поглощает микроволновую энергию. В доступной литературе, однако, не удалось обнаружить данных о влиянии модулированных ЭМИ на биологические характеристики жировой ткани. Тем не менее, не исключено, что жировая ткань реагирует на воздействие микроволновым излучением. Результат такого влияния должен проявиться в широком спектре реакций всего организма, исходя из роли жировой ткани как важного нейроэндокринного органа-регулятора (Fruhbeck G. et al., 2001). Эпидидимальная жировая ткань составляет существенную часть всей белой жировой ткани ($45\pm 3\%$) и является удобным модельным объектом при изучении различных свойств жировой ткани (Komarek V., 2004). При этом поверхностная локализация эпидидимального жира, благодаря его прямой доступности для облучения и поглощения микроволновой энергии, обеспечивает очевидное преимущество при изучении реакций облученной ИПМИ жировой ткани.

Исходя из этих рассуждений, в работе была проверена возможность биологического действия ИПМИ на жировую ткань после непосредственного воздействия на нее. Оценка проводилась по двум вариантам реагирования: а) по изменению удельной массы облученной эпидидимальной жировой ткани; б) и изменению среднего диаметра адипоцитов и их распределения по размерам – у облученной ткани по отношению к ложнооблученной.

Ткань облучалась ИПМИ с пППМ 1500 Вт/см^2 и с частотами повторения 8, 13, 16, 22 и 25 имп./с. Выбор частот повторения ИПМИ обусловлен не ритмами ЭЭГ, как это проводилось в эксперименте с облучением мозга, а результатами ранее проведенных экспериментов с воздействием на митохондрии печени. Тогда было показано, что воздействие ИПМИ может сопровождаться усилением дыхания митохондрий печени мышцей с повышенной утилизацией субстратов окисления, в том числе липидов (Князева И.Р. и др., 2012). Есть данные, что нарушение работы митохондрий влияет на размеры и дифференцировку адипоцитов за счет изменения уровня АФК, которые участвуют в модуляции количества белой жировой ткани и ингибировании липогенеза или превращения преадипоцитов во взрослые формы адипоцитов (Pauw A.D. et al., 2009). В совокупности это может быть причиной как уменьшения, так и увеличения массы жировой ткани, в зависимости от степени протекания вышеперечисленных процессов, которые могут запускаться АФК, индуцированными в результате воздействия ИПМИ (Князева И.Р. и др., 2013).

Проведенные эксперименты показали, что воздействие 4000 наносекундных импульсов ИПМИ с пППМ 1500 Вт/см^2 ежедневно в течение 10 дней на эпидидимальную жировую ткань оказывает влияние на ее массу и размер адипоцитов. Наблюдавшиеся эффекты при этом зависели от частоты повторения импульсов. Воздействие с частотами 13 и 16 имп./с не меняло значимо удельную массу ткани (Таблица 4), в то время как, после облучения ИПМИ с частотами повторения 8, 22 и 25 имп./с происходило ее снижение (Таблица 4).

Таблица 4. Усредненные значения удельной массы эпидидимальной жировой ткани мышц после десятикратного воздействия ИПМИ

Частота повторения импульсов, имп./с	ЛО (n=6)	8 (n=6)	13 (n=6)	16 (n=6)	22 (n=6)	25 (n=6)
Удельная масса жира, мг/г веса мышцы	19.7 ± 2.4	12.3 ± 0.9*↓	17.1 ± 4.9	21.6 ± 4.3	15.4 ± 1.5*↓	14 ± 1.6*↓
Примечание – Представлены среднеарифметические значения показателя ± ошибка среднего; * – различия статистически значимы по отношению к группе ложного облучения, $p \leq 0,05$, n–число животных в группе						

Чем может быть обусловлено изменение массы жировой ткани? Структурной единицей жировой ткани являются клетки – адипоциты, их размеры являются биологической характеристикой состояния жировой ткани (Pauw A.D. et al., 2009). Поскольку масса жировой ткани во многом определяется размерами адипоцитов (Poglio S. et al., 2009), можно полагать, что изменение массы ткани обусловлено именно изменениями размеров жировых клеток.

В проведенном исследовании у ложнооблученных животных (в контроле) средний размер адипоцитов (полусумма минимального и максимального диаметров клеток) эпидидимальной жировой ткани варьировал в интервале от 21 до 80 мкм (Рисунок 36) со средней величиной 47.6 ± 1.6 мкм и выраженной модовой величиной в пределах от 41 до 50 мкм, что соответствует имеющимся литературным данным (Hara-Chikuma M. et al., 2005).

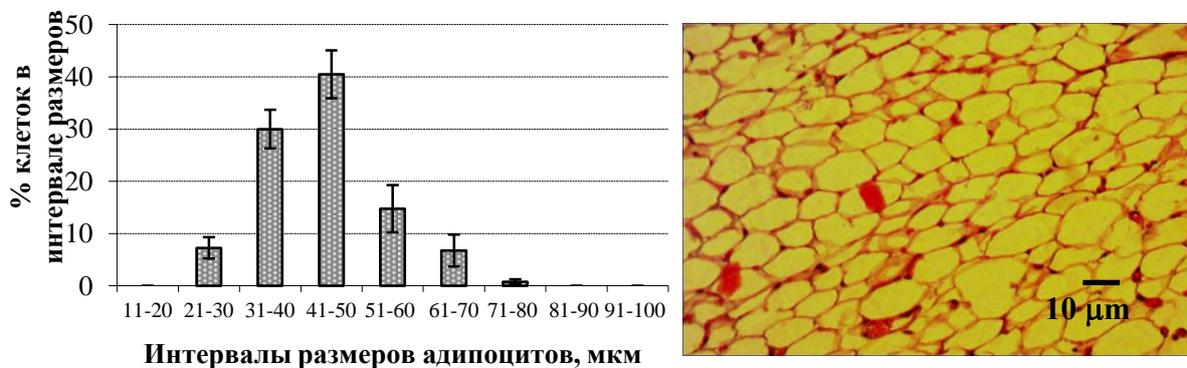


Рисунок 36. Гистограмма распределения по размерам адипоцитов в жировой ткани ложнооблученных (контроль) животных (n=400 клеток) и микрофотография среза эпидидимальной жировой ткани (средний размер 47.6 ± 1.6 мкм)

Анализ морфометрических параметров жировых клеток после воздействия показал, что облучение ткани сопровождалось изменением как среднего размера адипоцитов, так и распределения их по размерам. Эффект зависел от частоты повторения импульсов. После воздействия с частотами 8 и 25 имп./с значимых изменений в среднего размера адипоцитов не было выявлено. Однако, воздействие ИПМИ с частотой повторения 22 имп./с вызывало уменьшение среднего размера клеток, в то время как воздействие с частотами 13 и 16 имп./с, наоборот, приводило к увеличению среднего размера адипоцитов (Таблица 5).

Таблица 5. Влияние ИПМИ с пППМ 1500 Вт/см² на размер жировых клеток

Частота повторения импульсов, имп./с	ЛО (n=400)	8 (n=400)	13 (n=400)	16 (n=400)	22 (n=400)	25 (n=400)
Средние значения диаметров адипоцитов, мкм	47.6 ± 1.6	49 ± 1.6	54 ± 3.3 * ↑	51 ± 1.6 * ↑	41.2 ± 1.9 * ↓	45.1 ± 1.6
Примечание – Представлены среднеарифметические значения показателя ± ошибка среднего; * – различия статистически значимы по отношению к группе ложного облучения, p ≤ 0,05, n – число исследованных адипоцитов						

На рисунке 37 представлены примеры микрофотографий гистологических срезов эпидидимальной жировой ткани с адипоцитами меньшего и большего размеров относительно нормального среднего размера у ложнооблученных (контрольных) адипоцитов.

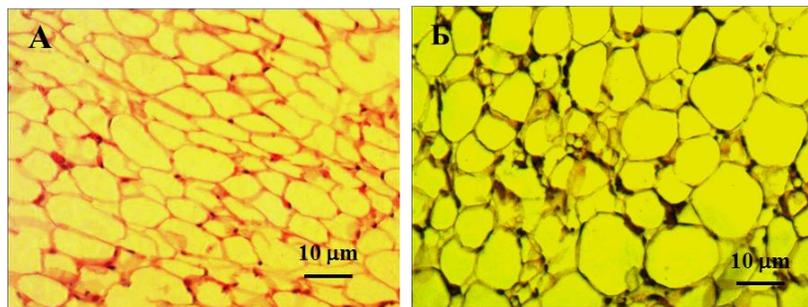


Рисунок 37. Микрофотографии гистологических срезов эпидидимальной жировой ткани с разными размерами адипоцитов: А – срез ткани с клетками меньшего размера после воздействия с частотой 22 имп./с (средний размер 41.2 ±

1.9 мкм); Б – срез ткани с клетками *б*ольшего размера после воздействия с частотой 13 имп./с (средний размер 54 ± 3.3 мкм)

Изменение средних размеров клеток после воздействия с частотами 13, 16 и 22 имп./с могло обеспечивать изменение массы жировой ткани или быть результатом изменения распределения клеток по размерам. В рамках такого рассуждения были построены гистограммы распределения адипоцитов по их размерам (Рисунок 38).

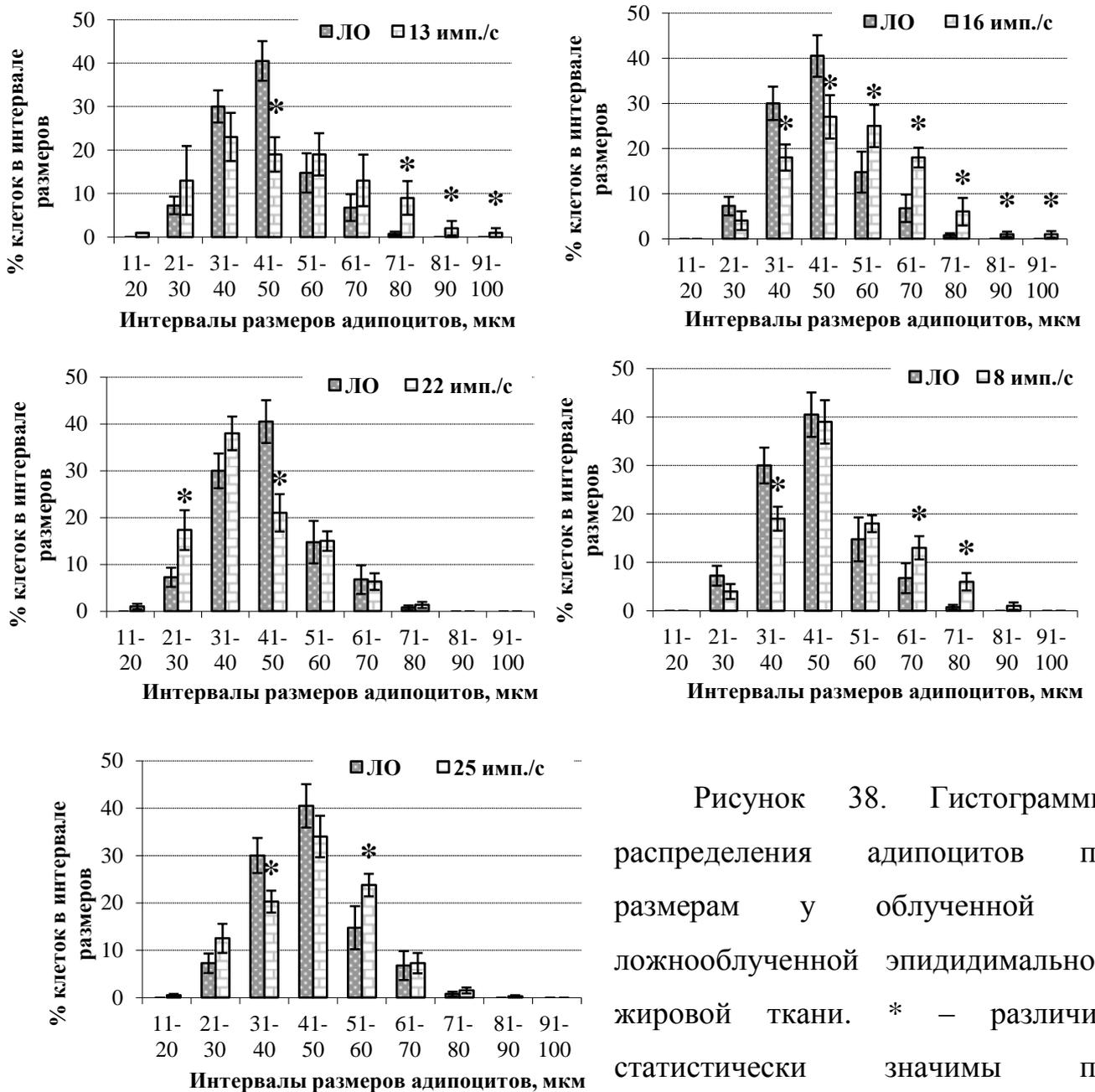


Рисунок 38. Гистограммы распределения адипоцитов по размерам у облученной и ложнооблученной эпидидимальной жировой ткани. * – различия статистически значимы по

отношению к группе ложного облучения, $p \leq 0,05$

Анализ гистограмм показал, что после облучения ИПМИ наблюдалось увеличение или уменьшение процента клеток большего либо меньшего размеров по сравнению со средней величиной их распределения в контроле. Распределение клеток по размерам наиболее эффективно изменялось после воздействия с частотами повторения 13 и 16 имп./с (появление клеток большего размера) (Рисунок 38). Воздействие с частотами 8, 22 и 25 имп./с вызывало менее значимые изменения в распределении клеток по размерам.

Для большей определенности зависимости эффектов от частоты повторения импульсов были рассчитаны разницы между процентом клеток облученных и ложнооблученных животных, попадающих в определенный интервал размеров. Результат преобразования представлен на рисунке 39.

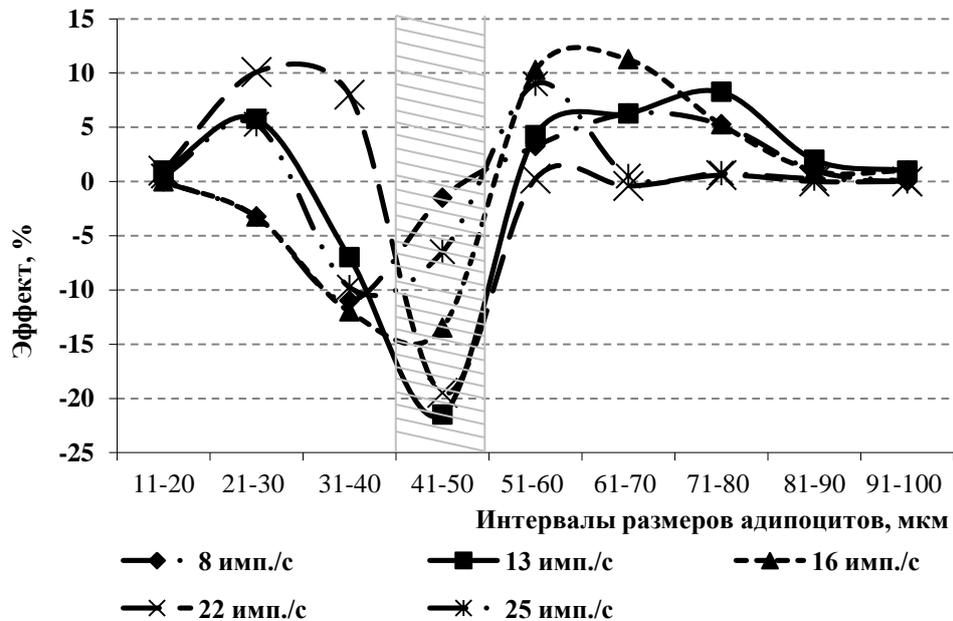


Рисунок 39. Эффект изменения распределения адипоцитов по размерам после воздействия ИПМИ. По оси ординат – эффект, рассчитанный как разность между облученными и ложнооблученными клетками (%), попадающими в конкретный интервал. Штриховкой выделен модовый диапазон размеров ложнооблученных (в контроле) адипоцитов

Рассчитанные величины показали, что после воздействия ИПМИ при всех частотах повторения импульсов, кроме 8 имп./с, произошло уменьшение процента клеток модового размера. При этом наибольшее уменьшение процента клеток

модовой величины наблюдалось после воздействия с частотой 13 имп./с (22%), а наименьшее – с частотой 25 имп./с (7%).

Из полученных результатов следует, что эпидидимальная жировая ткань реагирует на непосредственное воздействие наносекундным ИПМИ, и это оказывает на нее биологически значимое влияние. Такой факт позволяет допускать принципиальную возможность управления состоянием жировой ткани посредством ИПМИ с определенными параметрами и обеспечивать требуемую этой ткани коррекцию.

3.5.2 Поведенческие реакции в «Открытом поле» и общая двигательная активность мышей после воздействия ИПМИ непосредственно на эпидидимальную жировую ткань

Как уже отмечалось, жировая ткань может выполнять функцию нейроэндокринного органа, оказывая влияние, в том числе на информационную деятельность головного мозга (Fruhbeck G. et al., 2001; Шварц В., 2009). Считается, что передача нейроэндокринных сигналов, обусловленных состоянием и функционированием жировой ткани, будет влиять или изменять работу головного мозга (Чубриева С.Ю. и др., 2008). Основываясь на результатах предыдущих экспериментов, в которых было показано, что после облучения головного мозга мышей ИПМИ обнаруживается повышение нейрональной активации вентромедиального ядра гипоталамуса, можно было допустить, что воздействие ИПМИ способно вмешиваться в функциональную связь между мозгом и жировой тканью. Такой подход базируется на том, что связующим звеном в регуляции состояния жировой ткани и деятельности головного мозга выступает гормон лептин. Он продуцируется адипоцитами и участвует в нейроэндокринных процессах посредством лептиновых рецепторов, присутствующих в аркуатном и вентромедиальном ядрах гипоталамуса, в которых локализованы центры голода и насыщения (Schwartz M.W., 1996). При этом лептин участвует в подавлении синтеза нейропептида-Υ, продуцируемого

нейронами гипоталамуса, что приводит к снижению аппетита, повышению тонуса симпатической нервной системы и изменению обмена веществ в периферических органах и тканях, а также расходованию энергии (Leibowitz S.F., 1994). Известно, что облучение ионизирующим излучением может повреждать и изменять функциональное состояние гипоталамуса, включающее гиперинсулинизм и измененную чувствительность к лептину (Cohen L.E., 2003). В свою очередь, воздействие низкоинтенсивным микроволновым излучением влияет на импульсную активность нейронов в ядрах гипоталамуса (Minasyan S. M. et al., 2007), не повреждая при этом саму мозговую структуру в отличие от ионизирующего излучения. В связи с вышеизложенным, можно было ожидать, что облучение непосредственно эпидидимальной жировой ткани мышей ИПМИ должно сопровождаться изменением деятельности мозга или его отдельных структур. Соответственно, можно было ожидать изменения в поведении животных и их двигательной активности.

Поэтому, для уточнения возможной нейроэндокринной роли жировой ткани в формировании нейрофизиологических эффектов ИПМИ, были проведены проверочные эксперименты, в которых эпидидимальная жировая ткань в течение 10 дней локально подвергалась ежедневному воздействию 4000 импульсов ИПМИ с частотами повторения 6, 13 и 22 имп./с. Эффект оценивался по изменению поведения мышей в «открытом поле» и динамики общей двигательной активности, а также содержанию гормонов кортикостерона и лептина. Выбор частот повторения импульсов был обусловлен результатами предыдущих экспериментов, в которых воздействие на мозг с этими частотами наиболее эффективно изменяло как поведенческие реакции в «открытом поле», так и динамику общей двигательной активности.

Анализ поведения мышей в «открытом поле» после десятидневного воздействия на эпидидимальный жир позволил установить наличие изменений в ряде поведенческих компонент у животных. Вертикальная компонента поведения и акты груминга после облучения статистически значимо не изменялись. После

воздействия с частотами 6, 13 и 22 имп./с наблюдалось снижение горизонтальной активности у мышей (Рисунок 40 А), что соответствовало аналогичному снижению после облучения мозга (Рисунок 9 Б). Однако, изменения норковой активности и актов дефекации/уринации у мышей носили противоположный характер относительно аналогичных компонент в экспериментах с воздействием на головной мозг (Рисунки 9А и 10 Б). После облучения жировой ткани ИПМИ с частотой 22 имп./с происходило увеличение ориентировочно-исследовательского поведения (норковой активности) (Рисунок 40 Б), а также снижение количества актов дефекаций/уринаций у мышей (Рисунок 40 В). Последнее также снижалось после облучения с частотой повторения 6 имп./с (Рисунок 40 В).

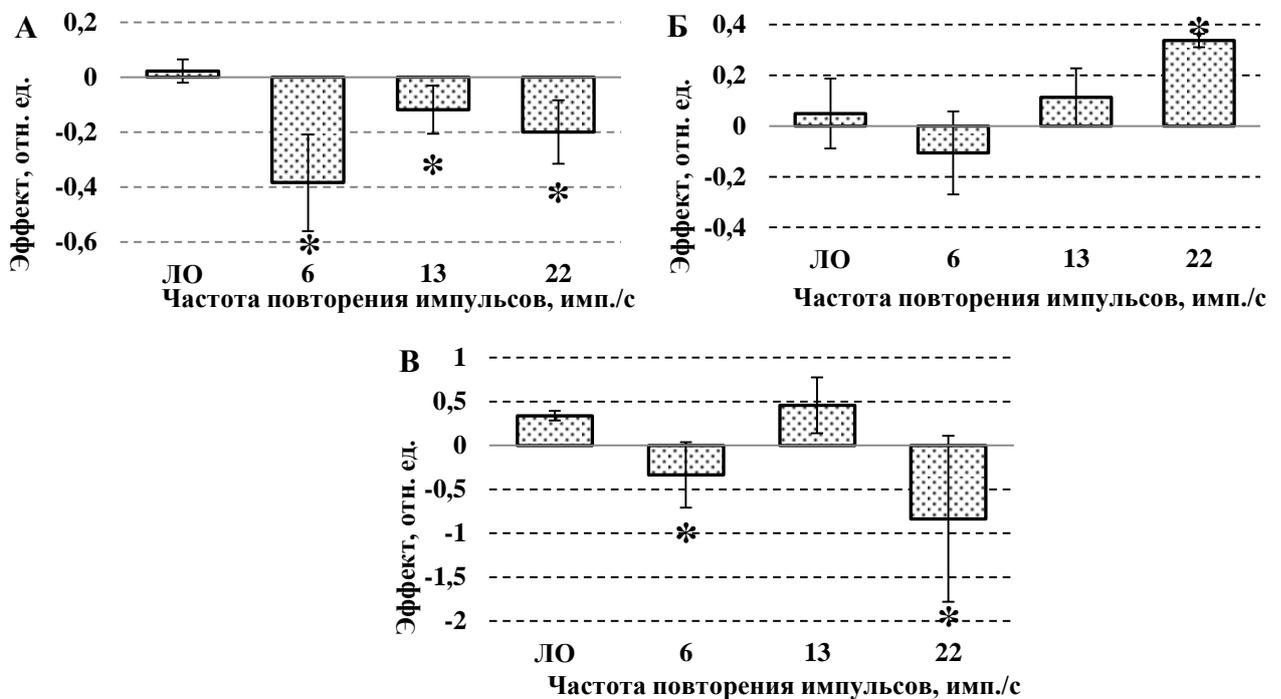


Рисунок 40. Горизонтальная (А), норковая (Б) активности, акты дефекации/уринации (В) у мышей в «открытом поле» после облучения ИПМИ эпидидимальной жировой ткани. Примечание: представлены среднеарифметические значения показателя \pm ошибка среднего; * – различия статистически значимы по отношению к показателям ЛО животных ($p \leq 0,05$)

Изменение динамики общей двигательной активности мышей в течение десятисуточного эксперимента имело менее выраженный характер в сравнении с эффектами воздействия на головной мозг. После облучения с частотой 6 имп./с

происходило начиная с 5-х суток облучения постепенное уменьшение количества актов движений у мышей (Рисунок 41 А). Воздействие с частотой 13 имп./с вызывало снижение динамики, которое наблюдалось только на 3 и 6 сутки (Рисунок 41 Б). Однако при облучении с частотой 22 имп./с на 5, 9 и 10 день эксперимента, напротив, наблюдался противоположный эффект, то есть увеличение суммарной двигательной активности (Рисунок 41 В).

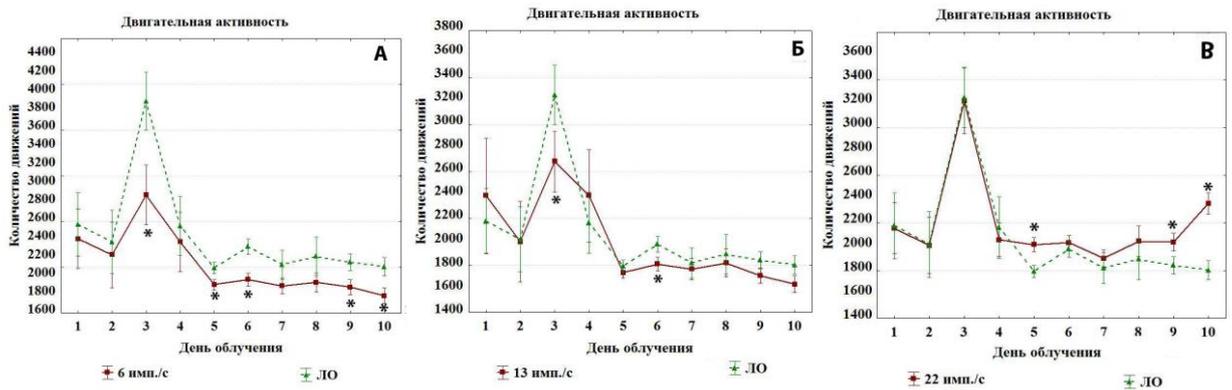


Рисунок 41. Динамики изменения общей двигательной активности мышей в течение 10 дней облучения эпидидимальной жировой ткани ИПМИ с пППМ 1500 Вт/см² и частотами 6, 13 и 22 имп./с; * – различия статистически значимы по отношению к показателям ЛО животных ($p \leq 0,05$)

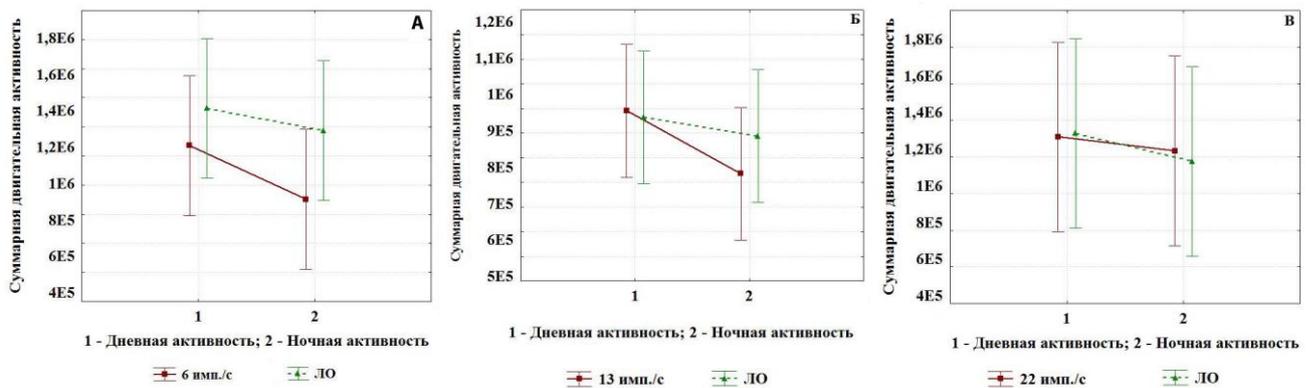


Рисунок 42. Результаты дисперсионного анализа изменения суммарной двигательной активности мышей после облучения ИПМИ эпидидимальной жировой ткани с пППМ 1500 Вт/см² и с частотами повторения 6, 13 и 22 имп./с. Дисперсионный анализ, проведенный для уточнения характера влияния ИПМИ на динамику двигательной активности после облучения жировой ткани, продемонстрировал отсутствие значимых различий в двигательной активности в

разный период времени суток (день-ночь) между облученными и ЛО животными (Рисунки 42 А, Б, В).

Поскольку, как уже отмечалось выше, лептин выступает ключевым агентом между жировой тканью и головным мозгом, был измерен его уровень в сыворотке крови мышей после непосредственного облучения эпидидимальной жировой ткани. Кроме того, из литературы известно, что на состояние жировой ткани влияет наличие или отсутствие стресса в организме (Schwartz M.W., Seeley R.J., 1997), поэтому было полезно уточнить, возможно ли развитие стресса у мышей при непосредственном воздействии на эпидидимальную жировую ткань. Для проверки этого предположения был измерен уровень кортикостерона в сыворотке крови мышей, как общепринятого индикатора развития стресса у мелких грызунов (Таблица 6).

Таблица 6. Влияние ИПМИ на содержание кортикостерона и лептина в сыворотке крови мышей после облучения эпидидимальной жировой ткани

Режим воздействия	ИПМИ 1500 Вт/см ²	
	Кортикостерон, нг/мл	Лептин, нг/мл
Интактная группа	28.61 ± 2.8	1.96 ± 0.54
ЛО	36.57 ± 9.0	3.75 ± 1.3
6 имп./с	69.27 ± 16.2 * ↑	4.88 ± 2.7
13 имп./с	55.95 ± 10.33 * ↑	1.54 ± 0.8 * ↓
22 имп./с	22.03 ± 2.7 * ↓	7.03 ± 3.6 * ↑
Представлены среднеарифметические значения показателя ± ошибка среднего; * – различия статистически значимы по отношению к показателям в группах ложного облучения ($p \leq 0,05$)		

Содержание гормонов лептина и кортикостерона в сыворотке крови мышей после облучения эпидидимальной жировой ткани изменялось, что зависело от частоты повторения импульсов (Таблица 6). При облучении с частотой 13 имп./с наблюдалось значимое снижение содержания лептина, но наблюдалась некоторая тенденция к увеличению его уровня после воздействия с частотами 6 и 22 имп./с. Воздействие с частотой повторения 22 имп./с значимо увеличивало уровень лептина в сыворотке крови (Таблица 6), что коррелирует со снижением массы эпидидимального жира после облучения с этой же частотой повторения (Таблица 4). После воздействия с частотами 6 и 13 имп./с уровень кортикостерона

увеличивался, что указывает на развитие стрессового состояния в организме животных (Таблица 6). После облучения с частотой 22 имп./с кортикостерон понижался, причем, как и в случае воздействия на головной мозг, снижение гормона после воздействия с частотой 22 имп./с могло указывать на истощение естественного пула этого гормона в состоянии стресса.

Таким образом, полученные результаты изучения поведенческой активности животных в «открытом поле», общей двигательной активности и уровня лептина и кортикостерона после облучения эпидидимальной жировой ткани в целом подтвердили предположение об участии жировой ткани как нейроэндокринного органа в реализации нейрофизиологических эффектов наносекундного ИПМИ. Разнонаправленное изменение уровня лептина в сыворотке крови предполагает возможность формирования противоположных эффектов. Повышение уровня кортикостерона относительно ложнооблученных животных указало на возможность развития стресса в организме после воздействия на эпидидимальную жировую ткань. Таким образом, характер влияния ИПМИ на взаимодействие головной мозг – жировая ткань имеет сложное и неоднозначное проявление.

3.6 Обсуждение полученных результатов. Эффекты воздействия наносекундных ИПМИ и ИПРИ на головной мозг и эпидидимальную жировую ткань

Проведенное исследование и анализ полученных результатов позволили установить, что воздействия наносекундными ИПМИ и ИПРИ непосредственно на головной мозг лабораторных мышей влияют на его деятельность. Эффекты проявляются в разнонаправленном изменении поведенческих реакций в «открытом поле», в динамике общей двигательной активности, увеличении нейрональной активации в гипоталамусе и ретикулярной формации, изменении потребления корма, массы животных и внутренних органов и эпидидимальной жировой ткани, а также содержания гормонов кортикостерона и лептина. Десятикратное воздействие ИПМИ непосредственно на эпидидимальную жировую ткань оказывает на нее биологически значимое влияние, которое проявляется в изменении морфометрических параметров самой ткани, изменяет содержание лептина и кортикостерона в плазме крови, а так же изменяет поведение животных.

Основными поведенческими эффектами, наблюдавшимися после воздействия ИПМИ на головной мозг, являлись снижение активно-поисковой компоненты на фоне увеличения пассивно-оборонительной составляющей поведения в «открытом поле» (физиологически наиболее эффективные частоты воздействия 6, 13 и 22 имп./с). Такие реакции указывают на развитие депрессивного состояния и повышенной эмоциональной реактивности у животных после десятиразового облучения. Увеличение количества актов груминга, который рассматривается как неспецифический показатель уровня эмоциональности и является механизмом снятия избыточной активности ЦНС, свидетельствует о появлении у мышей сильного эмоционального напряжения отрицательного характера – страха или беспокойства. Помимо этого, выраженная стрессорная активация груминга у экспериментальных животных, возможно, связана с адаптивной необходимостью (компенсаторная реакция) для снижения

уровня возбуждения, вызванного облучением (Буреш Я. и др., 1991; Калуев А.В., 2002; Титов С.А., Каменский А.А., 1980). Увеличение содержания кортикостерона в сыворотке крови мышей при частотах повторения 6, 13 и 16 имп./с, и уменьшение при 22 имп./с подтверждает возможность развития у животных реакции стресса в ответ на воздействие ИПМИ. У всех облученных животных регистрировалось снижение количества потребленного корма (при всех частотах воздействия) с сопутствующим снижением массы тела и печени при 8 имп./с, что указывает на возможные перестройки в энергетическом метаболизме. По-видимому, такой факт обусловлен тем, что под влиянием ИПМИ подавляется, прежде всего, мотивационная составляющая поведения, например, основополагающая пищевая доминанта, что происходит либо за счет подавления центра голода, либо активации центра насыщения в гипоталамусе. Содержание гормона жировой ткани лептина после воздействия с частотами 6 и 13 имп./с уменьшалось, что согласуется с уменьшением объема потребляемой пищи при этих же частотах воздействия. Однако, повышенный уровень лептина после облучения с частотами 8 и 22 имп./с на фоне снижения потребления пищи, по-видимому, может свидетельствовать о том, что после воздействия с этими частотами достигается максимальная компенсация поведенческих и метаболических сдвигов, что проявляется в ослаблении депрессивного поведения животных. Биохимический анализ сыворотки крови указывает на поддержание неизменным уровня глюкозы и триглицеридов. Не исключено, что глюкоза извлекается из внутренних резервов (например, из гликогена печени), на что указывает снижение массы этого органа, наиболее выраженное после облучения с частотой 8 имп./с. При этом масса тела также снижалась после воздействия с частотой 8 имп./с при неизменяющейся массе жировой ткани. По всей видимости, глюкоза, образуемая из гликогена, надежно обеспечивает липостат организма, поэтому уровень триглицеридов в крови остается неизменным. Нельзя исключать, что в организме животных после облучения головного мозга ИПМИ создавшаяся метаболическая ситуация является результатом изменения взаимодействия

гормонов с рецепторами нейронов в ядрах гипоталамуса (Рисунок 43, Dietrich M.O., Horvath T.L., 2010). Этому может способствовать: а) уменьшение лиганд-рецептор опосредованной реакции, б) изменение аффинности рецепторов к гормонам, обеспечивающим обратную связь между лептином, Y-пептидом центра голода и гормоном ЖКТ – грелином, в) уменьшение числа мембранных рецепторов нейронов гипоталамуса.

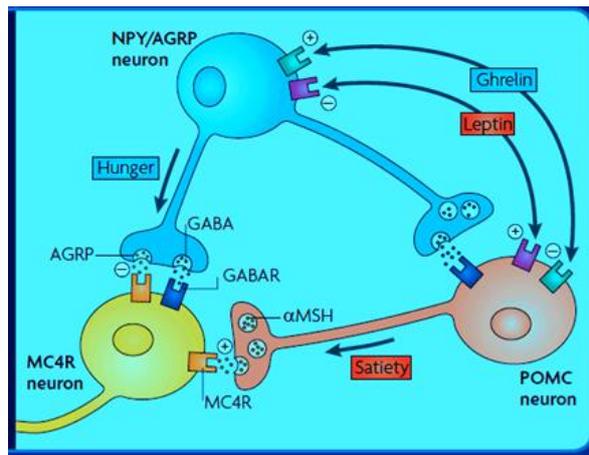


Рисунок 43. Взаимодействие гормонов лептина и грелина с рецепторами в ядрах гипоталамуса (Dietrich M.O., Horvath T.L., 2010)

Вышерассмотренные изменения рецепторных взаимодействий могут происходить в результате запуска процессов перекисного окисления липидов (Philippova T.M. et al., 1993), индуцируемых воздействием ИПМИ (Bolshakov M.A. et al., 2005). Окислительные процессы в головном мозге в совокупности с изменением гормон-рецепторных взаимодействий могут быть причиной развития стресса в организме мышей, на что указывает повышенное содержание кортикостерона в крови облученных животных. Кроме того, вышперечисленные изменения могут влиять на пищевое поведение животных, что в свою очередь отразится на состоянии других жизненно важных систем и органов.

Анализ эффектов облучения головного мозга ИПРИ в обеих дозах (0.2 и 1.0 Гр) показал, что облучение ИПРИ в дозе 0.2 Гр с частотами 13, 16 и 22 имп./с, вызывает рост ориентировочно-исследовательской компоненты поведения на

фоне увеличения пассивно-оборонительной составляющей. Это может означать наличие одновременного состояния и страха, и любопытства у мышей. Такая конкуренция противоположных по своему проявлению мотивов может создавать ситуацию напряжения и дезадаптации у животных (Батуев А.С., 1991), что, в свою очередь, может проявиться в функциональных изменениях состояния всего организма.

Воздействие в дозе 1.0 Гр более эффективно сказывалось на поведении мышей, так как изменения фиксировались после воздействия при всех частотах повторения. Основной эффект облучения проявлялся в подавлении активно-поискового и ориентировочно-исследовательского поведения при оставшейся неизменной пассивно-оборонительной составляющей поведения. Подобное реагирование может свидетельствовать об угнетении процессов возбуждения или активации процессов торможения в моторной коре и ретикуло-корковых структурах головного мозга у мышей после облучения. Однако, после воздействия с частотой повторения 6 имп./с происходило увеличение вертикальной активности при одновременном понижении актов груминга. Поскольку, вертикальная активность в тесте «открытое поле» в определенной степени зависит от эмоциональности животного (Буреш Я. и др., 1991; Калуев А.В., 2002), то наблюдаемое ее повышение после воздействия на мозг может указывать на повышение эмоциональной реактивности животных. Кроме того, такое реагирование после облучения с частотой 6 имп./с, соответствующей Θ -ритму, возможно, наоборот, свидетельствует о повышении возбудимости мозговых структур, ответственных за процессы торможения, например, гиппокампа. Помимо этого, литературные данные свидетельствуют, что такие структуры, как гиппокамп и префронтальная кора, способны выступать в качестве регуляторов баланса энергетического метаболизма, способных воспринимать и перекодировать метаболические сигналы в программы, обуславливающие адаптивные поведенческие ответы (Серкова В.В. и др., 2014). Исследования ряда авторов демонстрируют расстройство пищевого поведения и отсутствие

чувствительности в отношении сигналов голода и насыщения как у животных, так и у людей при различных нарушениях функционирования именно гиппокампа (Davidson T.L. et al., 2007, 2009; Schmelzeis M.C., Mittleman G., 1996). Также известно, что такие пептидные гормоны, как лептин и нейропептид Y, играющие важную роль в регуляции энергетического баланса, могут влиять на пластические свойства нейронов гиппокампа (Zhao Z. et al., 2014). В соответствие с этим в работе установлено, что после облучения ИПРИ у животных снижалось потребление пищи, а также наблюдалось снижение массы печени и селезенки, что косвенно указывает на участие гиппокампа в реализации влияния ИПРИ на головной мозг. Хотя при этом масса тела животных оставалась неизменной по отношению к ложнооблученным, однако облучение с частотой 6 имп./с снижало прирост массы тела на фоне увеличения массы эпидидимальной жировой ткани и, соответственно, снижения уровня лептина в крови. Можно предположить, что такие изменения энергетического метаболизма у животных связаны с измененным функциональным состоянием гиппокампа, который, в свою очередь, может оказывать влияние на протекание процессов в других структурах мозга. При этом на фоне перечисленных эффектов реагирования содержание гормона кортикостерона в крови облученных мышей оставалось неизменным, что может быть обусловлено отсутствием стресс-реакции на воздействие ИПРИ. По имеющимся литературным данным, стресс у мышей развивается после облучения рентгеновским излучением в существенно большей дозе- 4.5 Гр (Гулик Е.С., Костеша Н.Я., 2004).

Анализ динамики общей двигательной активности животных после облучения головного мозга ИПМИ и ИПРИ выявил разнонаправленный и разновременной характер реагирования. Происходило как увеличение двигательной активности (воздействие ИПМИ с частотой 6 имп./с) так и ее снижение (воздействие ИПРИ с частотой 13 имп./с). С одной стороны, снижение двигательной активности может указывать на уменьшение стрессированности животных, с другой – проявление защитного торможения, возникающего на

развивающийся стресс (Калуев А.В., 2002; Маркель А.Л. и др., 1981). В подтверждение этого есть данные, что изменение локомоторной активности животных, подвергавшихся воздействию вибрации, оказалось связано с нарушением процессов перестройки в ЦНС, развитием компенсаторно-приспособительных реакций, а также обусловлено приспособлением нервных центров к непривычным условиям среды (Атаева О.В., 1993) и это должно приводить к снижению двигательной активности. По аналогии можно предположить, что облучение ИП ЭМИ так же должно приводить к изменению двигательной активности. Наблюдаемый в изменении общей двигательной активности животных носит немонотонный, волнообразный (полифазный) характер реагирования организма в виде чередования усиления и ослабления поведенческих эффектов. Это может означать, что наносекундные ИПМИ и ИПРИ оказывают влияние как минимум на два разных физиологических процесса, которые обусловлены последовательным включением или доминированием в структурах головного мозга процессов возбуждения и торможения.

Полученные в работе результаты, показывающие увеличение нейрональной активации в гипоталамусе и ретикулярной формации после воздействия ИПМИ и ИПРИ указывают на прямое влияние этих факторов на головной мозг. В литературе имеется относительно мало работ, посвященных нейрональной активации головного мозга после воздействия ЭМИ. В исследовании экспрессии *c-fos* после воздействия на лабораторных животных микроволнами в области неокортекса, палеокортекса и в проекции гиппокампа, были продемонстрированы изменения нейрональной активации, которые, как полагают авторы, были вызваны стрессом нетеплового излучения (Carballo-Quintas M. et al., 2011). Эффекты влияния ИПМИ, в принципе, могут иметь аналогичный характер проявления. Что касается действия ионизирующего излучения, в литературе отсутствуют данные по эффектам нейрональной активации. Публикации посвящены в основном исследованиям изменения ЭЭГ, электрической активности

нейронов или их функционального состояния. В частности, эффекты малых доз рентгеновского излучения (4 сГр) проявлялись в изменении ЭЭГ и адаптации к повторяющимся воздействиям (Miyachi Y., Yamada T., 1994). Другое исследование (Silasi G. et al., 2004), в котором сравнивались эффекты хронического/повторяющиеся и острого воздействий низких доз ионизирующего излучения на мозг (0.5 Гр) показали, что повторяющиеся воздействия оказывают существенно большее влияние на выживание нейронов в гиппокампе и лобной коре мышей.

После воздействия ИПМИ и ИПРИ на головной мозг обнаружено отсутствие нейрональной активации в моторной коре. Такой эффект не вполне понятен, поскольку по имеющимся данным (Carballo-Quintas M. et al., 2011) показана увеличенная экспрессия c-fos спустя 1,5 ч после воздействия на лабораторных животных излучением 900 мГц в коре. В то же время (Ушаков Б.Н., Ильичева В.Н., 2012) показали, что моторная кора (кора верхней лобной извилины), прелимбическая кора, цитоархитектонические поля CA1–CA4 гиппокампа, зубчатая фасция и пириформная зона древней коры при однократном и фракционированном облучении реагирует на действие рентгеновского излучения в малых дозах. Облучение в дозе 0.2 Гр вызывало во всех перечисленных структурах однотипные морфофункциональные изменения нейронов, которые значительно отличаются интенсивностью проявления различных типов морфологической изменчивости. При этом фракционированное облучение в дозе 0,2 Гр вызывало более выраженные изменения в новой коре, чем при однократном облучении (Ушаков Б.Н., Ильичева В.Н., 2012). Возможным вариантом объяснения отсутствия эффектов в моторной коре, может быть то, что ИПМИ и ИПРИ оказывают влияние только на спонтанно активные клетки, которых в коре очень мало (Жадин М.Н., 1984). Еще одним гипотетическим объяснением отсутствия нейрональной активации коры может быть тормозящее влияние гиппокампа на кору. Но такое утверждение может оказаться голословным, так как исследование нейрональной активации гиппокампа не

проводилось. Увеличение нейрональной активации в ретикулярной формации и зонах гипоталамуса после облучения ИПМИ и ИПРИ подтверждают предположение о чувствительности указанных структур к действию ИП ЭМИ.

Результаты исследования продемонстрировали, что воздействие ИПМИ непосредственно на эпидидимальную жировую ткань способно оказывать значимое влияние на её состояние. Десятикратное облучение мышей непосредственно в области эпидидимального жира приводило к изменению его массы, среднего размера адипоцитов и перераспределению адипоцитов по размерам. Это означает, что ИПМИ оказывает влияние как минимум на два разных физиологических процесса, один из которых обеспечивает уменьшение размеров клеток, другой – их увеличение. Уменьшение адипоцитов может обеспечиваться повышением интенсивности липолиза (Poglio S. et al., 2009) регулируемого повышенным лептином в крови. Ускорение процесса созревания зрелых форм адипоцитов из преадипоцитов, запускаемое воздействием ИПМИ, может быть причиной появления клеток большого размера, что, по-видимому, индуцируется воздействием ИПМИ.

Полученные данные по изменениям поведенческой активности животных в «открытом поле» после непосредственного облучения эпидидимальной жировой ткани в целом подтвердили гипотезу об участии жировой ткани, как нейроэндокринного органа, в реализации нейрофизиологических эффектов наносекундного ИПМИ. Противоположные эффекты реагирования в «открытом поле» после воздействия на мозг по сравнению с воздействием на жировую ткань, меньшая степень выраженности эффекта общей двигательной активности и сопоставимое изменение уровня кортикостерона и лептина – все это определяет характер влияния ИПМИ на процессы взаимодействия «головной мозг – жировая ткань», как сложный и неоднозначный. Тем не менее, эффект такого взаимодействия выявляется, и это обстоятельство должно учитываться при исследовании реакций на воздействия ИП ЭМИ как ЦНС, так и жировой ткани.

Вышеприведенные рассуждения по совокупности полученных в работе результатов и имеющихся литературных данных позволяет предложить обобщенную схему реализации действия ИПМИ и ИПРИ на головной мозг животных, а так же непосредственного влияния ИПМИ на эпидидимальную жировую ткань (Рисунок 44).

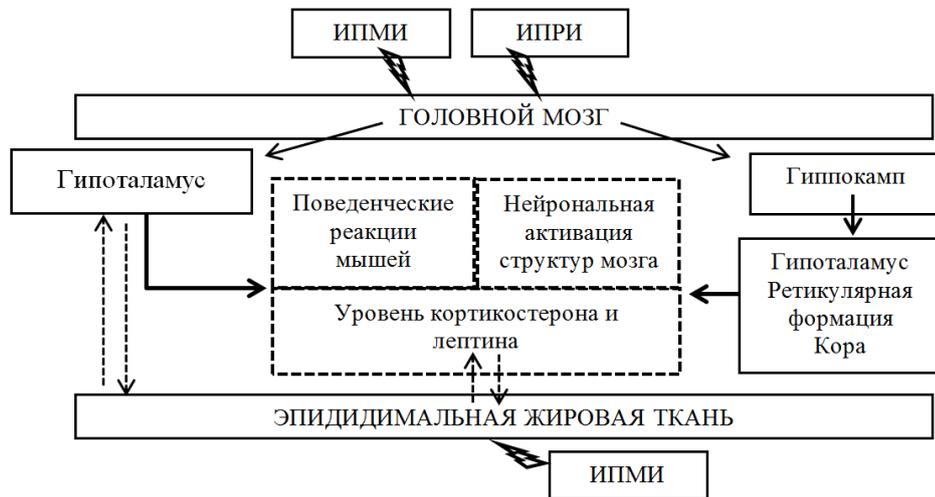


Рисунок 44. Схема предполагаемого влияния наносекундных ИПМИ и ИПРИ на головной мозг и ИПМИ на эпидидимальную жировую ткань мышей

По классическим представлениям принято считать, что биологическая эффективность ЭМИ во многом определяется его тепловым действием (Большаков М.А., 2002, Alekseev S.I. et al., 1997, 2005, 2009; Кудряшов Ю.Б., 2003), которое достаточно хорошо изучено и находит широкое применение в физиотерапии. Однако, взаимодействие ЭМИ с биологической средой, по-видимому, не ограничивается только тепловыми эффектами (Григорьев Ю.Г., 1996, 2005). Многочисленные исследования взаимодействия низкоинтенсивных ЭМИ с биообъектами свидетельствуют в пользу существования и нетепловой модели формирования биологических эффектов воздействия. Целый ряд ученых высказались в пользу нетеплового влияния электромагнитных излучений на ЦНС (Adey W.R., 1981; Frey A.H., 1985; Григорьев Ю.Г., 1999, 2000; Betskii O.V., 2000; Chizhenkova R.A., 2005). Поэтому, для идентификации возможных механизмов действия ИПМИ на головной мозг и жировую ткань в работе были

проанализированы возможные варианты как теплового, так и нетеплового влияний с точки зрения осмысления использованных режимов воздействия.

Облучение головного мозга и жировой ткани мышей ИПМИ проводилось при пППМ 1500 Вт/см^2 , что соответствует среднему значению ППМ 1.2 мВт/см^2 . Поскольку величина биологического эффекта определяется величиной поглощенной энергии, были рассчитаны значения удельной поглощённой мощности (УПМ, Вт/кг). УПМ рассчитывались по скорости нагрева тканей головного мозга и жировой ткани при разных частотах повторения импульсов, что позволяло оперировать и абсолютными величинами перегрева за время облучения (Таблица 10). Головной мозг и жировая ткань отличаются по своим электрическим характеристикам, обладают разными значениями относительной диэлектрической проницаемости, удельным сопротивлением и проводимостью. По данным (Shwan Н.Р., 1981), ткань головного мозга обладает большей диэлектрической проницаемостью ($\epsilon \approx 50\text{--}60$) и меньшим удельным сопротивлением (около $15 \text{ Ом}\times\text{см}$), так как содержит большое количество воды. Для жировой ткани характерно меньшее содержание воды, и, соответственно, ее диэлектрическая проницаемость будет меньше ($\epsilon \approx 4$), а удельное сопротивление больше ($350 \text{ Ом}\times\text{см}$). Поэтому поглощаемая микроволновая энергия в этих биологических средах во время облучения будет различной, и, соответственно, эти ткани будут нагреваться по-разному (Таблица 10).

Таблица 10. Значения средней удельной поглощённой мощности и повышения температуры в тканях, облученных ИПМИс пППМ 1500 Вт/см^2

Частота повторения импульсов, имп./с	Эпидидимальная жировая ткань		Головной мозг	
	УПМ, Вт/кг	Δt , $^{\circ}\text{C}$	УПМ, Вт/кг	Δt , $^{\circ}\text{C}$
6	1.8	0.09	3.6	0.18
8	2.4	0.13	4.8	0.26
13	3.9	0.21	7.8	0.42
16	4.8	0.26	9.6	0.52
22	6.6	0.36	13.2	0.72
25	7.5	0.41	15	0.82

Измерения температуры с помощью волоконно-оптического термометра МТ-4МО-1 (Россия) во время облучения жировой ткани 4000 импульсов ИПМИ при частотах повторения в пределах от 6 до 25 имп./с, величина перегрева варьировала от 0.1° до 0.41° соответственно. Жировая ткань поглощает меньше энергии, чем головной мозг соответственно, при этом величина нагрева оказывается меньше и локализуется в самых поверхностных структурах (1 мм – жировая ткань; 1.7 мм – головной мозг). Величины УПМ при воздействии на головной мозг мышей имели значения в 2 раза большие, чем у жировой ткани, и, соответственно, большую степень нагрева (0.18 – 0.82°). Исходя из таких оценок, возможный механизм действия на жировую ткань ИПМИ с указанными параметрами, скорее всего, имеет нетепловой характер. В доступной литературе не удалось обнаружить данных о реакциях адипоцитов на сопоставимые перегревы. Однако, известно, что значимая реакция жировых клеток на повышенную температуру реализуется только после перегрева их на 6.0° – 7.0° (Пономарева Е.Г. и др., 2012).

Природа влияния ИПМИ на головной мозг представляется более сложной по сравнению с реакциями только на повышение температуры. С одной стороны известно, что эффекты тепловой природы возникают при облучении организма мышей с ППМ 0.5 – 1.0 мВт/см² и выше (Савин Б.М., Рубцова М.Б., 1978). И, как полагают (Крылов О.А. и др., 1983), из структур ЦНС наиболее чувствительным и реактивным к тепловому действию является именно головной мозг. Индуцированные электромагнитным воздействием температурные сдвиги на десятые доли градуса являются достаточным температурным раздражителем. По этой причине возникающее нарушение теплового гомеостаза может рассматриваться как причина изменения функционирования ЦНС и организма в целом, в том числе и как причина стресса. Но, с другой стороны, выявленная в настоящей диссертационной работе зависимость эффектов ИПМИ от частоты повторения импульсов и, соответственно, от УПМ нелинейная, что указывает на возможный, нетепловой характер влияния. Импульсы ИПМИ имеют большую

амплитуду, которая определяет сильное электрическое поле (10^5 В/м). Благодаря этому возможно, что нетепловое действие реализуется в форме либо электропорации клеточных мембран, либо прямого действия электрического поля на протяженные внутриклеточные заряженные комплексы (элементы цитоскелета, дыхательную цепь митохондрий и др.) (Большаков М.А. и др., 2000) с последующими реакциями облучаемых тканей. Впрочем, не исключено, учитывая вышеизложенное, сочетанное действие механизмов тепловой и нетепловой природы на головной мозг, и это должно способствовать формированию сложного и неоднозначного характера реагирования.

Ионизирующее излучение, исходя из литературных данных, выступает как универсальный фактор, дестабилизирующий функциональные возможности ЦНС. Оно оказывает влияние на всех уровнях её организации: от функционирования отдельных нервных клеток до поведенческих реакций (Давыдов Б.И., Ушаков И.Б., 1987). ИИ влияют на функциональное состояние нервной системы и на поведение в результате как прямого воздействия на нервную систему, так и опосредованного, за счет реактивности нервной системы на лучевое поражение, вызываемое в других системах организма. В настоящее время основной концепцией, объясняющей радиационно обусловленные нарушения функций нервной системы, является так называемый полинейромедиаторный эффект облучения. Установлено, что любые функциональные изменения нервной системы, вызванные действием ИИ, происходят по причине структурных изменений на внутриклеточном уровне. В своей основе они имеют биохимические, ультраструктурные и другие изменения нейронов, то есть являются структурно-функциональными симптомами (Нягу А.И., Логановский К.Н., 1997).

Анализируя эффекты ИПРИ на головной мозг мышей, обнаруженные в работе, следует отметить, что при достаточно больших дозах в рентгеновских импульсах 0.5 и 2.5 мР/имп., накопленные за десятидневное облучение 0.2 и 1.0 Гр не превышают диапазона малых доз (0.2 Гр) или превышают его в 5 раз (1.0

Гр), оставаясь в пределах низких доз (Бурлакова Е.Б. и др., 1999; Богданов И.М. и др., 2005). По имеющимся данным малые и низкие дозы при многократном облучении могут представлять большую опасность вследствие кумулирования неблагоприятных эффектов (Нягу А.И., Логановский К.Н., 2009). Изменения в нервной системе и высшей нервной деятельности при повторяющихся облучениях легко компенсируются в начале, а позже наступает период истощения. Показано, что острое облучение в дозе 0.5 Гр, по сравнению с десятикратным облучением в дозах по 0.05 Гр, вызывало меньшие по распространенности и интенсивности структурные изменения в головном мозге, чем при фракционном облучении. Каждое в отдельности повторное облучение оказывает более слабое и менее длительное влияние на состояние нервной системы, что связано не с адаптацией, а с постепенно развивающимся снижением реагирования ЦНС из-за накопления радиационных нарушений. По-видимому, характер повторяющегося воздействия 4000 импульсов ИПРИ, может проявляться аналогичным образом. При этом не исключено, что однократное воздействие ИПРИ, не превышающее диапазона малых доз ионизирующего излучения, может быть в состоянии оказывать положительное влияние, поскольку, существуют данные о благоприятных эффектах малых доз радиации, трактуемых как «радиационно-адаптивный ответ» (Нягу А.И., Логановский К.Н., 2009).

Природа влияния ИПРИ на головной мозг, как представляется, достаточно сложна и неоднозначна, что может быть обусловлено импульсным характером воздействия. За время действия каждого отдельного импульса в структурах головного мозга успевают реализоваться физическая и физико-химическая стадии радиационно-индуцированных превращений. В результате возникают разнообразные активные продукты в виде ионов и радикалов с широким спектром химических свойств (Кудряшов Ю.Б., 2001, 2004). Последующая, химическая стадия, длящаяся $10^{-6} - 10^{-3}$ с, реализуется во время между импульсами, так как длительность рентгеновского импульса составляет всего 4×10^{-9} с. Именно в этот момент времени ионы и радикалы взаимодействуют друг с другом и

окружающими молекулами, формируя метаболические клеточные реакции системного характера, а также возможные структурные повреждения различного типа. В ходе повторяющихся воздействий ИПРИ вышеупомянутые процессы многократно повторяются, тем самым, усиливая или ослабляя эффекты. Потому они должны зависеть от частоты повторения импульсов, как это и наблюдалось в проведенных экспериментах.

По ходу исследования выяснилось, что воздействия ИПМИ и ИПРИ с разными частотами повторения импульсов оказывали со стороны головного мозга и эпидидимальной жировой ткани неодинаковые эффекты по величине реакции. Подобный характер реагирования ранее наблюдался на других органах и системах и, по-видимому, представляет общую закономерность живых систем реагировать на импульсно-периодические электромагнитные воздействия с частотами повторения единицы-десятки герц. Считается, что частота повторения импульсов является важнейшим биотропным фактором (Adey W.R., 1980, 1981; Большаков М.А., 2000, 2001, 2005; Григорьев Ю.Г., 1996, 1998, 2000). Целым рядом исследователей была обнаружена выраженная зависимость биологических эффектов от частоты модуляции и интенсивности воздействия для низкочастотных электрических, магнитных и модулированных радиочастотных излучений (Adey W.R., 1980, 1981; Bolshakov M.A. et al., 2000; Григорьев Ю.Г., 1995, 1999; Коровин М.С., 2004), а также для наносекундного импульсно-периодического рентгеновского излучения (Bolshakov M.A. et al., 2000; Buldakov M.A., 2004; Литвяков Н.В. и др., 2006). Такие зависимости позволяют рассматривать ИПМИ и ИПРИ как потенциально возможный фактор управления функциональным состоянием организмов. В частности, можно рассматривать вариант воздействия на головной мозг с частотами повторения, соответствующими основным ритмам ЭЭГ мозга. Как полагают (Жаворонков Л.П. и др., 2011; Жадин М.Н., 1984; Зенков Л.Р., 2004), такое воздействие более эффективно влияет на те структуры мозга, которые функционируют с соответствующими ритмами ЭЭГ. При сравнении ритмы ЭЭГ по частотному

диапазону совпадают с диапазоном так называемых биологически эффективных частот модуляции. Работами школы Эйди было показано, что нейрофизиологические эффекты модулированного ЭМИ реализуются в определенном интервале частот и интенсивностей, так называемых «частотном и энергетическом окнах» (Adey W.R., 1980, 1981). При этом воздействие ЭМИ в пределах «окна» характеризуется высокой биологической эффективностью (Adey W.R., 1980, 1981; Большаков М.А., 2000, 2001, 2005; Григорьев Ю.Г., 1998, 2000). В работе Л.П. Жарковой (2012) была предложена схема, согласно которой биологически активные частоты повторения импульсов и механизм, предложенный W.R. Adey (1980), могут быть ответственны за формирование клеточных реакций на облучение ИПМИ и ИПРИ. По механизму Эйди, облучение нервной ткани должно влиять на связывание ионов кальция с полианионным слоем мембран, в результате чего изменяется микроокружение белковых молекул, в частности, мембранных рецепторов и, соответственно, их функционирование. Связывание ионов кальция со слоем, по мнению Эйди, имеет кооперативный и обратимый характер, реализуется с частотами единицы-десятки герц. Поэтому внешнее воздействие с частотами, близкими к частотам обратимого связывания кальция, становится биологически эффективным и будет инициировать изменение состояния примембранных и мембранных структур, формируя реакцию клетки на облучение. Модель Эйди, как представляется, в настоящее время остается одной из наиболее убедительных, объясняющих зависимость эффектов воздействия от частоты модуляции или повторения импульсов.

Такая модель, возможно, справедлива и для эпидидимальной жировой ткани. Было показано (Туровский Е.А. и др., 2011), что в адипоцитах эпидидимальной ткани мышцей некоторые агонисты могут задействовать различные подсистемы кальциевой сигнализации, каждая из которых генерирует колебания, имеющие свой специфический временной ход. Если учесть наличие подобных процессов в жировой ткани, то ИПМИ и ИПРИ могут выступать частотно-зависимым образом в качестве модуляторов состояния рецепторов,

изменяющих кальциевые потоки, вызывая соответствующие изменения в функциональном состоянии адипоцитов.

Относительно ИПМИ и ИПРИ известно, что воздействие этими факторами приводит к изменению уровня АФК в гепатоцитах и митохондриях, изменению активности ферментов антиоксидантной защиты (Князева И.Р. и др., 2013), что должно влиять на сигнальные пути, которые включают в себя молекулы АФК или окислительно модифицированные ими продукты (Jones D.P., 2008). Поэтому, воздействие ИПМИ или ИПРИ может способствовать запуску или выключению такого сигнального пути в клетке (нейрон или адипоцит), приводящее к некоему измененному физиологическому ответу, и/или развитию окислительного стресса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты, полученные в проделанной работе, позволяют констатировать, что многократное воздействие ИПМИ и ИПРИ на головной мозг, равно как воздействие ИПМИ непосредственно на эпидидимальную жировую ткань, изменяют физиологические показатели организма. Величина и характер эффектов при этом зависят от параметров воздействующих ИП ЭМИ.

Представляется, что полученные данные являются полезными как в теоретическом, так и прикладном аспектах. В теоретическом плане принципиально важно, что:

- а) наносекундные ИПМИ влияют на деятельность головного мозга, аналогично тому, как действуют ИП ЭМИ с более длительными импульсами (мс), что было продемонстрировано ранее (Alekseev S.I. et al., 1997, 1999; Chizhenkova R.A., 2005);
- б) наносекундные ИПРИ в низких дозах, не превышающих 1 Гр, влияют на деятельность мозга, что подкрепляет немногочисленные, ранее полученные данные о влиянии на головной мозг неимпульсного рентгеновского излучения в аналогичных дозах (Нягу А.И., Логановский К.Н., 2009);
- в) впервые показано, что наносекундное ИПМИ оказывает влияние на состояние жировой ткани, ее биологические характеристики изменяются в зависимости от частоты повторения импульсов.

Поэтому результаты, полученные в работе, формируют представление об общих механизмах и закономерностях действия наносекундных ИПМИ и ИПРИ на головной мозг, метаболические процессы в организме и жировую ткань.

Зависимость эффектов от частоты повторения импульсов, по-видимому, отражает общую закономерность живых систем реагировать по схожей универсальной схеме на разнообразные внешние импульсно-периодические воздействия с частотами повторения единицы-десятки герц. Знание подобных закономерностей позволяет, варьируя параметрами воздействия (частота

повторения, доза/интенсивность, природа фактора), использовать импульсно-периодические излучения для управления функциональным состоянием клеток, тканей, организмов в целом и достигать желаемого эффекта, при необходимости усиливая или ослабляя его.

В целом можно констатировать, что воздействие наносекундным ИПМИ может быть неблагоприятным для организма, поскольку полученные результаты указывают на возможность развития стресса. В то же время, облучение ИПРИ не вызывает подобного развития событий и это можно трактовать как отсутствие явного неблагоприятного влияния.

В настоящее время существует достаточно определенный набор источников наносекундных ИПМИ и ИПРИ, которые используются в тех или иных сферах человеческой деятельности (Коровин С.Д. и др., 1996; Артемов К.П. и др., 2004; Соковнин С.Ю., 2008). Это в значительной мере определяет прикладной аспект полученных результатов. Наносекундные электромагнитные излучения, в частности, применяются для тестирования радиоэлектронной аппаратуры на ее устойчивость к факторам ядерного взрыва (импульсное микроволновое и рентгеновское излучение). Помимо этого ИПМИ используется в системах радиолокации, а ИПРИ находит применение в системах дефектоскопии и других способах контроля материалов и конструкций. Поэтому полученные в работе данные будут полезными при разработке или усовершенствовании гигиенических и экологических нормативов безопасного действия ИП ЭМИ. Поскольку обслуживающий персонал и природные комплексы могут подвергаться воздействию наносекундных электромагнитных излучений, необходимо знать характер, выраженность и особенности возможного неблагоприятного влияния источников ИП ЭМИ, например, развития стресса в организме, вероятность чего была показана в диссертационной работе.

Ближайшая перспектива такова, что в дальнейшем сфера использования наносекундных ИП ЭМИ будет расширяться, в том числе, в целях медицины, ветеринарии и, возможно, биотехнологии. Потенциально наносекундные ИПМИ

могут быть использованы при терапии рассеянного склероза, болезней Паркинсона и Альцгеймера, как это было продемонстрировано для слабых импульсных ЭМИ (Richter E.O, et al, 2004). Кроме того, наносекундные импульсные микроволны могут применяться в качестве модуляторов биоритмов и состояния головного мозга, а также в повышении эффективности протекания некоторых физиологических процессов.

Продемонстрированное в диссертационной работе изменение массы эпидидимального жира и размеров адипоцитов при непосредственном воздействии ИПМИ может оказаться полезным при снижении избыточной жировой ткани, а также, возможно, коррекции жирового обмена у людей. Прежде всего, это будет касаться лиц, ограниченных в физической подвижности, страдающих ожирением, у которых путем воздействия наносекундным ИПМИ на жировую ткань станет возможной требуемая коррекция.

Помимо этого, в настоящий момент также существует реальная перспектива для эффективного использования ИПРИ в медицине. Это излучение уже используется для стерилизации донорской крови, медицинских инструментов и больничного белья (Соковнин С.Ю., 2008). Потенциально возможно применение ИПРИ как фактора эффективного подавления роста опухолевых клеток при лучевой терапии. В этом плане известно, что воздействие низкодозового ИПРИ с частотами повторения импульсов в диапазоне 8–22 имп./с эффективно ингибирует пролиферацию опухолевых клеток (Litvyakov N.V. et al., 2005; Булдаков М.А., 2009). Поэтому низкодозовые наносекундные ИПРИ могут быть потенциально использованы в терапии опухолей головного мозга. Есть данные, что воздействие импульсного рентгеновского излучения в малых дозах оказывает выраженный седативный эффект в терапии у больных тяжелой формой шизофрении, не вызывая практически никаких изменений в психическом статусе в группе здоровых людей (Дутов В.Б. и др., 1989; Дудкин А.О. и др., 1993). Такой результат допускает полезность использования наносекундных ИПРИ в практике психиатрии.

Таким образом, полученные в работе результаты отображают наличие прямого влияния наносекундных ИПМИ и ИПРИ на головной мозг и ИПМИ на жировую ткань. При этом представляется необходимым:

- а) более детальное исследование влияния наносекундных ИП ЭМИ на нейрональную активацию различных структур головного мозга;
- б) проведение более полного анализа гормональных и биохимических показателей энергетического метаболизма в облученном ИПМИ и ИПРИ организме.

Это актуализирует дальнейшее изучение действия наносекундных ИП ЭМИ на головной мозг, метаболические процессы организма, в том числе, состояние жировой ткани с учетом ее статуса, как нейроэндокринного органа.

ВЫВОДЫ

1. Десятикратное облучение головного мозга мышей 4000 импульсов наносекундных ИП ЭМИ (микроволнового и рентгеновского) изменяет поведенческие реакции мышей в «Открытом поле» и динамику общей двигательной активности, что обусловлено влиянием этих факторов на деятельность головного мозга. Обнаруженные эффекты зависят от интенсивности/дозы, вида излучения и от частоты повторения импульсов. Наиболее эффективно ИП ЭМИ влияет с частотами повторения 6, 13 и 22 имп./с.

2. Воздействие наносекундными ИПМИ и ИПРИ на головной мозг мышей не изменяет уровень нейрональной активации в моторной коре, но повышает его в гипоталамусе (в 1,7 раза при частоте повторения 16 имп./с ИПМИ; в 1,9 раза в дозе 1.0 Гр при частоте 13 имп./с ИПРИ) и в ретикулярной формации (в 1,8 раза при частоте повторения 13 имп./с ИПМИ, а ИПРИ в 2,1 и 6,3 раза в дозах 0.2 и 1.0 Гр при частотах 6 и 13 имп./с соответственно). Это подтверждает наличие влияния ИП ЭМИ на деятельность головного мозга и участие этих структур в формировании реакций организма на воздействие.

3. В процессе десятикратного облучения головного мозга мышей ИПМИ и ИПРИ происходит снижение потребления пищи животными, изменение массы тела, печени, селезенки и эпидидимального жира, увеличение или уменьшение уровня лептина в сыворотке крови и снижение триглицеридов в зависимости от частоты повторения импульсов. В совокупности это указывает на перестройку в жировом обмене организма мышей в результате изменения деятельности мозга после облучения.

4. Воздействие ИПРИ на головной мозг не изменяет уровень кортикостерона в сыворотке крови, в то время как облучение мозга ИПМИ с частотами 6 и 13 имп./с сопровождается повышением уровня кортикостерона в 3.3 и 3.2 раза относительно ложнооблученных животных, что указывает на развитие стресса в организме мышей.

5. Повторяющееся воздействие наносекундного ИПМИ с пППМ 1500 Вт/см² непосредственно на эпидидимальную жировую ткань вызывает изменение поведения мышей в «Открытом поле» и динамики общей двигательной активности. Облучение на фоне изменения содержания лептина и кортикостерона в сыворотке крови вызывает снижение массы жировой ткани, снижение размеров адипоцитов (при частоте 22 имп./с) или способствует увеличению размеров адипоцитов без увеличения массы ткани (частоты 13 и 16 имп./с). Эти реакции отображают участие жировой ткани в формировании нейрофизиологических эффектов ИП ЭМИ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абелев Г.И. Моноклональные антитела // Соросовский образовательный журнал. 1998. Т.1. С. 16–20.
2. Автандилов Г.Г. Medical morphometry. М.: Medical, 1990. 384 с.
3. Аклеев А.В. Радиобиологические закономерности реакций нормальных тканей при лучевой терапии опухолей // Радиационная биология. Радиоэкология. 2014. Том 54. № 3. С. 241–255.
4. Акоев И.Г., Пашовкина М.С., Долгачева Л.П., Семенова Т.П. Ферментативная активность некоторых тканей и сыворотки крови животных и человека при воздействии микроволн и гипотеза о возможной роли свободнорадикальных процессов в нелинейных эффектах и модификации эмоционального поведения животных // Радиационная биология. Радиоэкология. 2002. Т.42. №3. С. 322–330.
5. Алабовский В.В. Влияние воздействия низкочастотным магнитным полем на содержание кортикостерона в сыворотке крови (экспериментальное исследование) (Электронный ресурс) / В.В. Алабовский, М.Ю. Готовский, А.А. Винокуров, О.В. Маслов // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. 2013. N 5. С.3–5. Режим доступа: <http://www.fesmu.ru/elib/Article.aspx?id=284695>.
6. Алексеев С.И., Тяжелов В.В., Ермишкин Л.Н. Влияние высокочастотного электромагнитного поля на проводимость одиночного канала, образуемого амфотерицином Б // Межсистемные взаимодействия при радиационном поражении. Пущино: ОНТИ НЦБИ, 1978, с. 123-126.
7. Амикишиева А. Поведенческое фенотипирование: современные методы и оборудование // Вестник ВОГиС. 2009. № 13. С. 529–542.
8. Анохин К.В. Принципы и механизмы деятельности мозга человека. Л.: Наука. 1989. С. 191–192.

9. Артемов К.П., Ельчанинов А.А., Кутенков О.П., Ростов В.В., Турчановский И.Ю. Импульсно-периодический источник рентгеновского излучения // Приборы и техника эксперимента. 2004. № 5. С. 166–167.
10. Атаева О.В. Локомоторное и пространственно-ориентировочное поведение крысят в норме и при экспериментальной патологии // Журнал высшей нервной деятельности. 1993. № 1. С. 150–156.
11. Байжуманов А.А., Беляев И.Я., Бойченко Е.А., Гончаренко Е.Н., Ушаков В.Л., Кудряшов Ю.Б. Влияние электромагнитного излучения GSM диапазона на двигательную активность, метаболизм ГАМК, гипофизо-адреналовую систему крыс / Научная сессия МИФИ-2009. Т. 4. С. 1–3.
12. Барабанова С.В., Головки О.И., Новикова Н.С., Носов М.А., Корнева Е.А., Казакова Т.Б. Влияние стресса на экспрессию индуцибельных генов c-fos и интерлейкина-2 в клетках нервной и иммунной систем // Нейрохимия. 1998. Т. 15 (4). С. 380–384.
13. Батуев А.С. Высшая нервная деятельность / Учебник. М.: Высш. шк., 1991. 256 с.
14. Безбородкина Н.Н., Вахтина А.А., Байдюк Е.В., Якупова Г.С., Кудрявцев Б.Н. Взаимосвязь между содержанием гликогена в гепатоцитах и их размером в нормальной и цирротической печени крыс // Цитология. 2009. Т. 51, № 5. С. 417–427.
15. Богданов И.М., Сорокина М.А., Маслюк А.И. Проблема оценки эффектов воздействия «малых» доз ионизирующего излучения. 2005. №2. С.145–151.
16. Большаков М.А., Алексеев С.И. Влияние импульсного микроволнового облучения на электрическую активность нейронов моллюсков // Известия АН СССР. Сер. биол., 1987. С. 312–314.
17. Большаков М.А., Бугаев С.П., Гончарик А.О., Гунин А.В., Евдокимов Е.В., Климов А.И., Коровин С.Д., Пегель И.В., Ростов В.В. Воздействие мощного микроволнового излучения наносекундной длительности на некоторые биологические объекты // Доклады академии наук. 2000. Т. 371. № 5. С. 691–695.

18. Большаков М.А. Физиологические механизмы действия радиочастотных электромагнитных излучений на биообъекты разных уровней организации: Диссертация ... доктора биологических наук: 03.00.13 / Сибирский государственный медицинский университет. 2002. 319 с.
19. Большаков М.А., Князева И.Р., Евдокимов Е.В. Эффект воздействия ЭМИ 460 МГц на эмбрионы дрозофил на фоне повышенной температуры // Радиационная биология. Радиоэкология. 2002. Т.42. № 2. С. 206–209.
20. Булдаков М.А. Влияние импульсно-периодического неионизирующего и ионизирующего излучений на нормальные и опухолевые клетки: автореферат дис. ... кандидата биологических наук: 03.00.13 / Институт физиологии СО РАМН. 2009. 24 с.
21. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д. П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. М.: Высшая школа. 1991. 399 с.
22. Бурлакова Е.Б., Голощанов А.Н., Жижина Г.П., Конрадов А.А. Новые аспекты закономерностей действия низкоинтенсивного облучения в малых дозах // Радиационная биология. Радиоэкология. 1999. Т.39. №1. С. 26–34.
23. Габай И.А., Мухачев Е.В., Михайлова К.А., Носов В.Н. Апробация метода оценки горизонтальной двигательной активности белых лабораторных крыс с помощью автоматизированной установки «Открытое поле» // Журнал общество, среда, развитие. Среда обитания. 2011. №3. С. 223–226.
24. Галль Л.Н. В мире сверхслабых. Нелинейная квантовая биоэнергетика: новый взгляд на природу жизни. 2009. 317 с.
25. Гамезо Н.В., Бокуть Т.В., Аверко Р.И. // Сб.: Всесоюзная конференция по действию малых доз ионизирующей радиации. Киев, 1984. С. 50–51.
26. Гапеев А.Б., Соколов П.А., Чемерис Н.К. Модельный анализ особенностей действия модулированных ЭМП на клеточном уровне при различных параметрах модулирующих сигналов // Биофизика. 2001. Т.46. №4. С.661–675.
27. Гапеев А.Б., Михайлик Е.Н., Рубаник А.В., Чемерис Н.К. Зависимость противовоспалительных эффектов импульсного электромагнитного излучения

крайне высокой частоты с большой пиковой мощностью от параметров воздействия // Биофизика. 2007. Т. 52 №5. С.947–952.

28. Григорьев Ю.Г. Роль модуляции в биологическом действии электромагнитного излучения // Радиационная биология. Радиоэкология. 1996. Т. 36. №5. С. 659–669.

29. Григорьев Ю.Г., Степанов В.С., Григорьев, О.А. Меркулов А.В. Электромагнитная безопасность человека / Справочно-информационное издание. Российский национальный комитет по защите от неионизирующего излучения. 1999. 148 с.

30. Григорьев Ю.Г. Отдаленные последствия биологического действия электромагнитных полей // Радиационная биология. Радиоэкология. 2000. Т. 40. №2. С. 217–225.

31. Григорьев Ю.Г. ЭМП и здоровье населения // Гигиена и санитария. 2003. С.14–16.

32. Григорьев Ю.Г., Шафиркин А.В., Васин А.Л. Биологические эффекты микроволнового излучения низкой нетепловой интенсивности (к обоснованию предельно допустимых уровней) // Авиакосмонавтика и экологическая медицина. 2005. Т.39. N 4. С. 3–18.

33. Григорьев Ю.Г. Возможность развития опухолей мозга у пользователей сотовыми телефонами (научная информация к решению международного агентства по исследованию рака (IARC) от 31 мая 2011 г.) / Григорьев Ю.Г. // Радиационная биология. Радиоэкология. 2011. Т. 51. № 5. С. 633–638.

34. Губский Ю.П., Беленичев И.Ф., Павлов С.В. и др. Роль гена раннего реагирования c-fos в норме и нейродеструктивной патологии. Возможности фармакокоррекции нейропептидными лекарственными средствами // Новости медицины и фармации. 2008. Т. 244. № 9. С. 16–19.

35. Гулик Е.С., Костеша Н.Я. Противолучевая активность хитозана, растворенного в экстракте пихты сибирской // Радиационная биология. Радиоэкология. 2004. Т. 44, вып. 5. С. 563–565.

36. Даренская Н.Г., Насонова Т.А., Алешин С.Л., Вайнер Е.А., Гринев М.П. Зависимость смертности и продолжительности жизни крыс от дозы излучения и частоты следования импульсов // Радиационная Биология. Радиоэкология. 1997. Т.37. №3. С. 328–336.
37. Давыдов Б.И., Тихончук В.С., Антипов В.В. Биологическое действие, нормирование и защита от ЭМИ / М.: Энергоатомиздат. 1984. С.175.
38. Давыдов Б.И., Ушаков И.Б. Ионизирующие излучения и мозг: поведенческие и структурно-функциональные паттерны // Итоги науки и техники. Радиационная биология. М: ВИНТИ, 1987. Т. 8. 336 с.
39. Девятков Н.Д., Голант Н.Б., Бецкий О.В. Миллиметровые волны и их роль в процессах жизнедеятельности. М.: Радио и связь, 1991. 168 с.
40. Дудкин А.О., Божко Г.Т., Дутов В.Б. Реакции нервной системы на импульсное рентгеновское облучение: Тез. докл. Радиобиологического съезда. 20-25 сентября 1993 г., Киев-Пушино, 1993. С. 328–329.
41. Дутов В.Б., Пеймер С.И., Свердлов А.Г. Ранние и отставленные психофизиологические реакции человека на действие малых доз импульсного рентгеновского излучения // 1-й Всесоюзный радиобиологический съезд. Москва – Пушино, 1989. С. 872–873.
42. Емельянов Н.А. Кортикостероиды и обмен веществ / Н.А. Емельянов, И.А. Герасимова. Л.: Наука, 1990. 150 с, с. 85.
43. Ефимов В.М., Ковалева В.Ю. Многомерный анализ биологических данных: учебное пособие / Научное издание. RIZO-печать, Санкт-Петербург, 2008. 102 с.
44. Жаворонков Л.П., Дубовик Б.В., Павлова Л.Н., Колганова О.И., Посадская В.М. Влияние широкополосного импульсно-модулированного ЭМП низкой интенсивности на общую возбудимость ЦНС // Радиация и риск. 2011. Т. 20. №2. С. 64–74.
45. Жадин М.Н. Биофизические механизмы формирования электроэнцефалограммы. М.: Наука, 1984. 196 с.

46. Жаркова Л.П. Реализация окислительных процессов в печени и крови после кратковременного воздействия наносекундных импульсно-периодических электромагнитных излучений: Диссертация ... кандидата биологических наук: 03.03.01 / Томский государственный университет. 2010. 124 с.
47. Жаркова Л.П., Мамонова Н.В., Князева И.Р., Кутенков О.П., Ростов В.В., Большаков М.А. Регенерация нейрогенных изъязвлений слизистой желудка после облучения импульсно-периодическим микроволновым излучением (Опыты на белых мышцах) // Вестник Томского государственного университета. Биология. Томск. 2010. N 2 (10). С. 112–122.
48. Жаркова Л.П., Князева И.Р., Иванов В.В., Большаков М.А., Кутенков О.П., Ростов В.В. Влияние импульсно-периодического рентгеновского и микроволнового излучений на уровень перекисей в изолированных гепатоцитах // Вестник Томского государственного университета. 2010. № 333. С. 161–163.
49. Журавлев В.Ф. Токсикология радиоактивных веществ. М.: Энергоатомиздат, 1990. 336 с.
50. Захарова Н.М. Влияние ЭМИ дециметрового диапазона на электрическую активность нейронов головного мозга морской свинки IN VITRO: автореферат дис. ... кандидата биологических наук: 03.00.02 / Институт биофизики клетки РАН, г. Пущино. 1998. 19 с.
51. 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.
52. Зенков Л.Р. Клиническая энцефалография (с элементами эпилептологии). Руководство для врачей / Л. Р. Зенков. 3-е изд. М.: МЕДпрессинформ, 2004. 368 с.
53. Игнатов А.А., Игнатова А.В., Пахомова Ю.В., Пустоветова М.Г. Самохин А.Г., Самсонов А.В. Изменение концентрации кортикостерона, инсулина и индекса гормональной адаптации в крови и лимфе крыс в остром периоде после

общей управляемой гипертермии // Вестник новых медицинских технологий. 2007. Т. 14. № 3. С. 48–49.

54. Изюмов Н.М., Линде Д.П. Основы радиотехники. М.: Радио и связь. 1983. 376 с.

55. Калуев А.В. Груминг и стресс. М.: Авикс, 2002. 161 с.

56. Карташёв А.Г. Электромагнитная экология / Изд. ТГУ, Томск. 2000. 275 с.

57. Князева И.Р., Большаков М.А., Линдт Т.А., Евдокимов Е.В. Воздействие импульсно-модулированного низкими частотами ЭМИ 460 МГц на эмбрионы дрозофил // Радиационная биология. Радиоэкология. 2001. Т.41. № 4. С. 399–402.

58. Князева И.Р., Медведев М.А., Жаркова Л.П., Афанасьев К.В., Большаков М.А., Ростов В.В. Воздействие импульсно-периодическим микроволновым и рентгеновским излучениями на эритроциты человека // Бюллетень сибирской медицины. 2009. № 1. С. 24–29.

59. Князева И.Р., Иванов В.В., Большаков М.А., Жаркова Л.П., Керя А.В., Кутенков О.П., Ростов В.В. Изменение активности антиоксидантных ферментов митохондрий печени мышей после воздействия наносекундного импульсно-периодического рентгеновского излучения // Радиационная биология. Радиоэкология. 2013. Т. 53. № 2. С. 183–190.

60. Кондашевская М.В., Мхитаров В.А., Никольская К.А., Серкова В.В., Диатроптов М.Е. Характеристика уровня гормонов и морфофункционального состояния коркового вещества надпочечников при пищевой депривации и когнитивном напряжении у мышей balb/c // Фундаментальные исследования. Биологические науки. 2013. №10. С. 776–780.

61. Концевая Г.В. Активация мукозального иммунитета легких неинфекционными стимулами: Диссертация ... кандидата биологических наук: 03.03.01 / Институт цитологии и генетики СО РАН. 2013. 134 с.

62. Коровин М.С. Изменение некоторых биохимических показателей крови белых крыс после кратковременного воздействия импульсно-периодического микроволнового и рентгеновского излучения // Ежегодник Российского

национального комитета по защите от неионизирующих излучений /Ред. Е.П. Бичелдей. М: изд. АЛЛАНА. 2004. С. 242–248.

63. Коровин С.Д., Полевин С.Д., Ростов В.В. Мощные черенковские СВЧ-генераторы на основе сильноточных наносекундных электронных пучков // Известия высших учебных заведений. Физика. 1996. №12. С.5–10.

64. Кривова Н.А., Ходанович М.Ю., Замощина Т.А., и др. Влияние диоксида титана на некоторые функции центральной нервной системы крыс // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2011. № 2 (14). С. 96–109.

65. 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.

66. Крылов О.А. Особенности соматических и вегетативных реакций на действие микроволн // Проблемы экспериментальной и практической электромагнитобиологии. Пущино: ОНТИ НЦБИ, 1983.-С. 57–71.

67. Кузнецов С.Л., Афанасьев М.А. Значение гена раннего реагирования *c-fos* и продуктов его экспрессии в нейронах при различных воздействиях // Биомедицина. Т. 1. № 1. С. 109–122.

68. Кудряшов Ю.Б. Основные принципы в радиобиологии // Радиационная биология. Радиоэкология. 2001. Т.41. №5. С.531–547.

69. Кудряшов Ю.Б. Радиационная биофизика (ионизирующие излучения) / Под ред. В.К. Мазурика, М.Ф. Ломанова – М.: ФИЗМАТЛИТ. 2004. 448 с.

70. Кудряшов Ю.Б., Перов Ю.Ф., Рубин А.Б. Радиационная биофизика: радиочастотные и микроволновые электромагнитные излучения / М.: ФИЗМАТЛИТ. 2008. 184 с.

71. Куликов А.В., Куликов В.А. Ethostudio – новый инструмент для точного и объективного фенотипирования признаков в генетике поведения // Вестник ВОГиС. 2009. Т. 13. № 3

72. Ладутько Е.И. Внутриклеточная рецепция глюкокортикоидов при малых дозах ионизирующего излучения и гипофункции щитовидной железы: автореф. дис. канд. биол. наук. М. 2000.
73. Лакин Г. Ф. Биометрия. Учебное пособие для биологических специальностей вузов / Г. Ф. Лакин, 1990. 245 с.
74. Ливанов М.Н., Кондратьева И.Н. О чувствительности нервной системы к слабым радиационным воздействиям // Мед. радиология. 1959. Т. 4. С. 3–13.
75. Литвяков Н.В., Булдаков М.А., Чердынцева Н.В., Ростов В.В., Климов А.И., Большаков М.А. Влияние импульсно-периодического СВЧ-излучения на синтез нуклеиновых кислот в опухолевых клетках // Радиационная биология. Радиозэкология. 2005. Т. 45, вып. 4. С. 460–463
76. Литвяков Н.В., Ростов В.В., Булдаков М.А., Чердынцева Н.В., Большаков М.А., Афанасьев К.В., Коровин С.Д., Кутенков О.П., Семенов С.Ю. Ингибирование пролиферации опухолевых клеток импульсно-периодическим рентгеновским излучением // Сибирский онкологический журнал. 2006. № 1 (17). С.24–31.
77. Лукьянова С.Н., Макаров В.М., Рынсков В.С. Зависимость изменений суммарной биоэлектрической активности головного мозга на низкоинтенсивное МКВ-облучение от плотности потока энергии // Радиационная биология. Радиозэкология. 1996. Т. 36. № 5. С. 706–709.
78. Лукьянова С.Н., Моисеева Н.В. К анализу импульсной биоэлектрической активности коры головного мозга кролика в ответ на низкоинтенсивное МКВ-облучение // Радиационная биология. Радиозэкология. 1998. Т. 38, вып. 5. С. 763–768.
79. Лушников К.В., Гапеев А.Б., Чемерис Н.К. Влияние электромагнитного излучения крайне высоких частот на иммунную систему и системная регуляция гомеостаза. // Радиационная биология. Радиозэкология. 2002 Т.42 №5. С. 533–545.
80. Лушников К.В., Гапеев А.Б., Шумилина Ю.В., Шибяев Н.В., Садовников В.Б., Чемерис Н.К. Снижение интенсивности клеточного иммунного ответа и

неспецифического воспаления при действии электромагнитного излучения крайне высоких частот // Биофизика. 2003. Т. 38. №5. С.918–925.

81. Лушникова Е.Л., Непомнящих Л.М., Колдышева Е.В., Молодых О.П. Надпочечники: Ультраструктурная реорганизация при экстремальных воздействиях и старении. – М.: Изд-во РАМН, 2009. 336 с.

82. Маркель А.Л. К оценке основных характеристик поведения крыс в тесте открытого поля // Журнал высшей нервной деятельности. 1981. Т. 31. № 2. С. 301–307.

83. Маркель А.Л., Галактионов Ю.К., Ефимов В.М. Факторный анализ поведения крыс в тесте открытого поля // Журнал высшей нервной деятельности. 1988. Т.38. №5. С. 855–863.

84. Мельников А.В., Куликов М.А., Навикова М.Р., Шарова Е.В. Изменения спонтанной биоэлектрической активности головного мозга при транскраниальной электрической и электромагнитной стимуляции // Журнал высшей нервной деятельности им. Павлова. 2004. № 5. С. 712–717.

85. Месяц Г.А. Импульсная энергетика и электроника / Г.А. Месяц. – М.: Наука, 2004. 704 с.

86. Мешков Н.А., Рыжов Н.И., Федорова Н.Л. и др. Отдаленные последствия радиационных воздействий на неврологический статус организма // Воен.-мед. журн. 1993. ? 4. С. 70–73.

87. Наумов А.Д., Верещако Г.Г., Горох Г.А., Павленко В.С., Петренев Д.Р., Чуешова Н.В., Гаращук Л.П., Гунькова Н.В., Козлов А.Е., Сухарева Д.В., Стельмах В.С. Реакция организма животных на длительное воздействие электромагнитного излучения сотового телефона (900 МГц)

88. Никоноров А.А., Тиньков А.А., Железнов Л.М., Иванов В.В. Методический подход к изучению ожирения в эксперименте / Монография. Оренбург: ОАО «ИПК «Южный Урал», 2013. 240 с.

89. Нягу А.И., Логановский К.Н. Нейропсихиатрические эффекты ионизирующих излучений // Изд.: Чернобыльинтеринформ. 1997. 349 с.

90. Павлова Л.Н., Жаворонков Л.П., Дубовик Б.В., Глушакова В.С., Посадская В.М. Экспериментальная оценка реакций ЦНС на воздействие импульсных ЭМИ низкой интенсивности // Радиация и риск. 2010. Том 19. № 3. С. 104–119.
91. Пашовкина С.М., Акоев И.Г. Влияние интенсивности СВЧ ЭМИ на направленность и выраженность реакции щелочной фосфатазы в сыворотке крови при слабых амплитудно-модулированных воздействиях // Радиационная биология. Радиозэкология. 2001. Т.41. №1 С.62–66.
92. Пашовкина С.М., Акоев И.Г. Исследование изменения активности аспаратаминотрансферазы сыворотки крови человека при низких амплитудно-модулированных СВЧ ЭМИ // Радиационная биология. Радиозэкология. 2001. Т.41. №1. С.59–61.
93. Пеймер С.И., Дудкин А.О., Свердлов А.Г. Непосредственное действие малых доз радиации на нейроны // Доклады АН СССР. 1985. Т.284, №6. С. 1481–1484.
94. Пестряев В.А. Некоторые изменения биоэлектрической активности головного мозга при коротких регулируемых воздействиях импульсных электромагнитных полей // Биофизика. 2003. Т. 48, вып. 4. С. 733–739.
95. Плескачева М.Г. Открытое поле и другие тесты, оценивающие тревожность / Лаб. физиологии и генетики поведения Кафедра ВНДД, Биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, 2009. 43 с.
96. Пономарева Е.Г., Черкасова О.А., Симоненко Г.В. и др. Воздействие бактериального лектина и повышенной температуры на адипоциты // Proceedings of the Samara Scientific Center, Russian Academy of Sciences. 2012. Т. 14, № 1, pp. 283–287.
97. Пресман А.С. Электромагнитные поля и живая природа. М: Наука, 1968, 288 с.
98. Родина В.И., Крупина Н.А., Крыжановский Г.Н., и др. // Журнал Высшей нервной деятельности им. Павлова, 1993. №5. С. 1006–1017.

99. Романцова Т.И., Волкова Г.Е. Лептин и грелин: антагонизм и взаимодействие в регуляции энергетического обмена. Обзор литературы // Ожирение и метаболизм. 2005. № 2. С. 1–9.
100. Ромоданов А.П., Винницкий О.Р. Ураження головного мозку при променевої хворобі легкого ступеню // Лжарська справа. 1993. № 1. С.10–16.
101. Рубин А.Б. Биофизика / А.Б. Рубин. М.: Высшая школа, 1999. 448 с.
102. Савин Б.М., Рубцова М.Б. Влияние радиоволновых излучений на ЦНС // Биологическое действие ЭМИ. Итоги науки и техники. Сер. Физ. чел. и жив. М.: ВИНТИ, 1978. Т. 22. С. 68–111.
103. Сварник О.Е., Анохин К.В., Александров Ю.И. Распределение поведенчески специализированных нейронов и экспрессия транскрипционного фактора c-Fos в коре головного мозга крыс при научении // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. 2001. Т. 51, № 6. С. 758–761.
104. Свердлов А.Г., Пеймер С.И., Дудкин А.О., Большаков В.Ю. Действие малых доз ионизирующих излучений на нейроны и ЦНС // 1-й Всесоюзный радиобиологический съезд, Пущино, 21–27 августа 1989. С. 892–893.
105. Севериновская Е.В., Григорова М.А., Касимова К.И. Особенности ВНД и биоэлектрической активности головного мозга крыс при влиянии низкоинтенсивного хронического облучения // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского, серия «Биология, химия». 2006. Т. 19 (58). № 3. С. 61–70.
106. Северьянова Л. А. Нейроэндокринные и медиаторные механизмы формирования поведения при эмоциональном стрессе // Тез. докл. 3-я Вс. конф. по нейроэндокринологии. 1988 г. Харьков - Ленинград, 1988. С. 215.
107. Серкова В.В., Никольская К.А., Еремина Л.В., Кондашевская М.В. Роль гиппокампа в проявлении гормонального ответа при различных состояниях пищевой активности у мышей f1 (с57bl/6 x dba/2) // Фундаментальные исследования. Биологические науки. 2014. № 8. С. 105–109.
108. Симонов П.В. Эмоциональный мозг / М.: Наука, 1981. 215 с.

109. Смирнова Н.П. Гипоталамус при воздействии на организм ионизирующей радиации // Автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. – Москва, 1969. 31 с.
110. Соковнин С.Ю. Наносекундные ускорители электронов и радиационные технологии на их основе / С.Ю. Соковнин. – Екатеринбург: УрО РАН, 2007. 227 с.
111. Суворов Н.Б., Василевский Н.Н., Никитина В.Н., и др. Системный анализ состояния человека при длительном радиоволновом облучении // Гигиена и санитария. 1990. № 4. С. 18–21.
112. Суханов Д.Я., Кривова Н.А., Ходанович М.Ю. Рекламно-техническое описание. Программа оценки двигательной активности крыс в ограниченном прямоугольном пространстве по цифровому видеоизображению «Mouse Express». Свидетельство ОФЕР-НиО № 15873 от 16.06.2010. Томск, 2010. 5 с.
113. Судаков К.В. Индивидуальная устойчивость к эмоциональному стрессу. М.: Горизонт. 1998. С. 215–267.
114. Судаков К.В., Умрюхин П.Е. Экспрессия гена *c-fos* при эмоциональном стрессе у крыс: эффекты пептида, вызывающего дельта-сон, и фрагмента АКТГ // Известия НАН Беларуси; серия мед.-биол. наук. 2001. № 1. С. 6–14.
115. Тарханов И.Р. О физиологическом действии X-лучей на центральную нервную систему (Электронный ресурс) / И.Р. Тарханов // Режим доступа: <http://www.lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0131744:article>.
116. Тигранян Р.Э. Физико-техническая практика биологического эксперимента с СВЧ излучением // Пушино, Издательство НЦБИ. 1985. 130 с.
117. Титов С.А., Каменский А.А. Роль ориентировочного и оборонительного компонентов белых крыс в условиях «открытого поля» // Журнал высшей нервной деятельности. 1980. Т. 30, № 4. С. 704–711.
118. Туровский Е.А., Каймачников Н.П., Туровская М.В., Бережнов А. В., Дынник В.В., Зинченко В.П. Два механизма кальциевых колебаний в адипоцитах // Биологические мембраны. 2011. Т. 28, № 6. С. 463–472.
119. Тяжелов В.В., Алексеев С.И. Проблемы формирования представлений о первичных механизмах биологического действия высокочастотных

электромагнитных полей // Проблемы экспериментальной и практической электромагнитобиологии. Пушино: ОНТИ НЦБИ. 1983. С.35–56.

120. Уилл К.М., Кинн Дж.Б. Современные методы экспериментальных исследований биологического действия ВЧ-излучений // ТИИЭР. 1983. Т.71. № 2. С.37–48.

121. Ушаков Б.Н., Ильичева В.Н. Характеристика филогенетически различных отделов коры головного мозга крыс после облучения // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. 2012 . №2. С. 87–91.

122. 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.

123. Холодов Ю.А. Реакции нервной системы на электромагнитные поля. М.: Наука, 1975, 207 с.

124. Холодов Ю.А. Мозг в электромагнитных полях. М.: Наука, 1982. 117 с.

125. Холодов Ю.А., Лебедева Н.Н. Реакции нервной системы человека на электромагнитные поля. М.: Наука. 1992. 136 с.

126. Холодов Ю.А. Неспецифическая реакция нервной системы на неионизирующие излучения // Радиационная биология. Радиоэкология. 1998. Т.38. № 1. С. 121–124.

127. Худякова Н.А., Баженова Т.В. Поведенческая активность линейных и нелинейных мышей разных цветовых вариаций в тесте «Открытое поле» // Вестник Удмуртского университета. Биология. Науки о Земле. 2012. Вып. 2. С. 89–93.

128. Цыпин А.Б., Григорьев Ю.Г. Количественная характеристика чувствительности центральной нервной системы к ионизирующему излучению // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1960. Т. 49, ? 1. С. 26–30.

129. Чемерис Н.К., Рубаник А.В., Гапеев А.Б. Импульсные микроволны с большой пиковой мощностью не генотоксичны и обладают

противовоспалительным действием / Proc. 17-th Crimean Conference Microwave & Telecommunication Technology. Sevastopol. 2007. P. 33–35.

130. Чикирдин Э.Г. Керма в воздухе // Вестник рентгенологии и радиологии. 1998. №1. С.53–57.

131. Чубриева С.Ю., Глухов Н.В., Зайчик А.М. Жировая ткань как эндокринный регулятор (обзор литературы) // Вестник Санкт-Петербургского университета. 2008. Сер. 11 вып. 1. С. 32–43.

132. Шаляпина В.Г., Ракицкая В.В., Петрова Е.И. // Журнал Высшей нервной деятельности им. Павлова, 2005. №2. С. 241–246.

133. Шварц М.В. Жировая ткань как эндокринный орган // Проблемы эндокринологии. 2009. Т. 55, №1. С. 38–44.

134. Эйди У.Р., Дельгадо Х., Холодов Ю.А. Электромагнитное загрязнение планеты и здоровье // Наука и человечество: Международный ежегодник. М., 1989. С. 10–18.

135. Adey W.R. Tissue interaction with nonionizing electromagnetic fields // Phys. Rev., 1981. V. 61, № 2, P. 435–514.

136. Adey W.R. Biological effects of electromagnetic fields.// J. Cell Biochem., 1993. V. 51, № 4, P. 410–416

137. Alekseev S.I., Ziskin M.C. Two Types of A-Channels in Lymnaea Neurons.// J. Membrane Biol., 1995, V. 146, P. 327–341.

138. Alekseev S.I., Ziskin M.C., Kochetkova N.V., Bolshakov M.A. Millimeter waves thermally alter the firing rate of the Lymnaea pacemaker neuron // Bioelectromagnetics, 1997. V. 18(1). P. 89–98.

139. Alekseev S.I., Ziskin M.S. Effects of Millimeter Waves on Ionic Currents of Lymnaea Neurons // Bioelectromagnetics, 1999. V. № 20, P. 24–33.

140. Alekseev S.I., Radziewsky A.A., Szabo I., Ziskin M.C. Local heating of human skin by millimeter waves: Effect of blood flow // Bioelectromagnetics, 2005. 26(8). P. 489-501.

141. Alekseev S.I., Ziskin M.C. Influence of blood flow and millimeter wave exposure on skin temperature in different thermal models. *Bioelectromagnetics*, 2009. № 30. P. 52-58.
142. Andersson K., Gaudiot N., Ribiere C. et al. A nitric oxide-mediated mechanism regulates lipolysis in human adipose tissue in vivo // *Br. J. Pharmacol.* 1999. V. 126. P. 1639–1645
143. Arendash, G.W. Electromagnetic field treatment protects against and reverses cognitive impairment in alzheimer's disease mice (electronic resource) / G.W. Arendash, Juan Sanchez-Ramos, Takashi Mori // *Journal of Alzheimer's Disease*. 2009. (Режим доступа: <http://www.stopumts.nl/pdf/Arendash.pdf>).
144. Arendash, G.W. Electromagnetic field treatment protects against and reverses cognitive impairment in Alzheimer's disease mice / Arendash G.W., Sanchez-Ramos J., Mori T. et al. // *Journal of Alzheimer's Disease*. 2010. V. 19, № 1. P. 191–210.
145. Arendash, G.W. Electromagnetic treatment to old Alzheimer's mice reverses β -amyloid deposition, modifies cerebral blood flow, and provides selected cognitive benefit / Arendash G. W., Mori T., Dorsey M., Gonzalez R., Tajiri N., Borlongan C. // *PLoS One*. 2012. Vol. 7, №4. Article ID e35751.
146. Babaei P., Sudakov K.V. Stress induced c-fos expression in the rat brain is individualtypological dependent // *Pathophysiology abstracts of the III International Congress of pathophysiology*. 1998. V. 5. Suppl. 1. P. 221.
147. Basset C.A.L. Low energy pulsing electromagnetic fields modify biomedical processes // *Bioessays*. 1994. V.6. №1. P.36–42.
148. Betskii O.V., Tambiev A.H., Kirikova N.N., Lebedeva N.N., Slavin V.E. Low intensity millimeter waves and their application in hi-tech technologies // *Scientific Israel – Technological Advantages*. 2000. V. 2. № 3-4. P. 97–108.
149. Bielski J. Bioelectrical brain activity in workers exposed to electromagnetic fields // *Annals of New-York Academy of sciences*. 1994. P.435–437.
150. Bolshakov M.A., Alekseev S.I. Bursting responses of Lymnaea neurons to microwave radiation // *Bioelectromagnetics*. 1992. Vol. 13(2). P. 119–129.

151. Bolshakov M.A., Bugaev S.P., Elchaninov A.A., Evdokimov E.V., Goncharik A.O., Gunin A.V., Klimov A.I., Knyazeva I.R., Korovin S.D., Kutenkov O.P., Pegel I.V., Rostov V.V. Effect of repetitive nanosecond HPM pulses on some biological objects // Proceedings of 12th Symposium on High current electronics. Tomsk. 2000. V. 2. P. 514–537.
152. Bolshakov M.A., Knyazeva I.R., Rostov V.V., Korovin M.S., Neverova L.P., Afanas'ev K.V., Klimov A.I. Initiation of free-radical oxidation in albino mice by exposure to pulse periodic microwaves and X-rays // Biophysics. 2005. V. 50. No. 1. P. S104–S109.
153. Borbeley A., Huber R., Graft T., et al. Pulsed high frequency electromagnetic fields affect human sleep and sleep electroencephalogram // Neuroscience Letters. 1999. V. 275. P. 207–210.
154. Brudzynski S.M., Krol S. Analysis of locomotor activity in the rat: parallelism index, a new measure of locomotor exploratory pattern // Physiol. Behav. 1997. V. 62. P. 635–642.
155. Bruun J.M., Lihn A.S., Madan A.K. et al. Higher production of IL-8 in visceral vs. subcutaneous adipose tissue. Implication of nonadipose cells in adipose tissue // Amer. J. Physiol. Endocrin. Metab. 2004. Vol. 286. P. E8–E13.
156. Bullitt E. Expression of C-fos-like protein as a marker for neuronal activity following noxious stimulation in the rat // Journal of Comparative Neurology. 1990. V. 296. P. 517–530.
157. Calatayud F., Belzung C., Aubert A. Ethological validation and the assessment of anxiety-like behaviours: methodological comparison of classical analyses and structural approaches // Behav. Process. 2004. V. 67. P. 195–206.
158. Carballo-Quintás M., Martínez-Silva I., Cadarso-Suárez C., et al. A study of neurotoxic biomarkers, c-fos and GFAP after acute exposure to GSM radiation at 900 MHz in the picrotoxin model of rat brains // Neurotoxicology. 2011. V. 32(4). P. 478–494.
159. Chemeris N.K., Gapeyev A.B., Sirota N.P., Gudkova O.Yu., Kornienko N.V.,

- Tankanag A.V., Konovalov I.V., Buzoverya M.E., Suvorov V.G., Logunov V.A. DNA damage in frog erythrocytes after in vitro exposure to a high peak-power pulsed electromagnetic field. // *Mutation Research*. 2004. V. 558. No 1-2. P. 27–34.
160. Chizhenkova R.A. Impulse fluxes of neuronal populations of the cerebral hemispheres on exposure to weak ultrahigh frequency electromagnetic radiation // *Biophysics*. 2003. V. 48. No. 3. P. 509–515.
161. Chizhenkova R. A. A Bibliometric Survey of Neurophysiological Studies of the Effect of Nonionizing Radiation in the Second Half of the XX Century // *Biophysics*, 2005. V. 50 (1). P.163-174.
162. Cohen L.E. Endocrine late effects of cancer treatment // *Curr. Opin. Pediatr*. 2003. № 15. P. 3–9.
163. Collins T.J. ImageJ for microscopy // *Biotechniques*. 2007. Jul; 43 (1 Suppl): 25–30.
164. Cornelius P., MacDougald O. A., Lane M. D. Regulation of adipocyte development // *Annu. Rev. Nutr*. 1994. V. 14. P. 99–129.
165. Davidson T.L. A potential role for the hippocampus in energy intake and body weight regulation / Davidson T.L., Kanoski S.E., Schier L.A., Clegg D.J., Benoit S.C. // *Current Opinion in Pharmacol*. 2007. V. 7, № 6. P. 613–616.
166. Davidson T.L. Contributions of the hippocampus and medial prefrontal cortex to energy and body weight regulation / Davidson T.L., Chan K, Jarrard L.E., Kanoski S.E., Clegg D.J., Benoit S.C. // *Hippocamp*. 2009. V. 19, № 3. P. 235–252.
167. Del Seppiaa C. Ghione S., Luschi P., Ossenkopp K-P., Choleris E., Kavaliers M. Pain perception and electromagnetic fields // *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 2007. 31. P. 619–642.
168. Dietrich M.O., Horvath T.L. Neural regulation of food intake and energy balance // *Nature Reviews. Neuroscience*. 2010. Электронный ресурс: <http://www.nature.com/nrn/posters/feeding>

169. Dindic B. Biochemical and histopathological effects of mobile phone exposure on rat hepatocytes and brain / Dindic B., Sokolović D., Krstić D., Jovanović J. // *Acta Medica Medianae*. 2010. P. 37–41.
170. Donovan B. T. Hormones and behavior: Discussion paper / B. T. Donovan // *J. Roy. Soc. Med.* 1987. V. 80. No. 8. P. 499–501.
171. Dragunow M., Faull R. The use of c-fos as a metabolic marker in neuronal pathway tracing // *Journal of Neuroscience Methods*. 1989. V. 29, № 3. P. 261–265.
172. Draisci G, Iadarola M.J. Temporal analysis of increases in c-fos, preprodynorphin and preproenkephalin mRNAs in rat spinal cord // *Brain Res Mol Brain Res*. 1989 Jul; 6(1):31–7.
173. Drai D., Benjamini Y., Golani I. Statistical discrimination of natural modes of motion in rat exploratory behavior // *J. Neurosci. Meth.* 2000. V. 96. P. 119–131.
174. Drai D., Kafkafi N., Benjamini Y. et al. Rats and mice share common ethologically relevant parameters of exploratory behavior // *Behav. Brain Res*. 2001. V. 125. P. 133–140.
175. Dromi S. Pulsed-high intensity focused ultrasound and low temperature-sensitive liposomes for enhanced targeted drug delivery and anti-tumor effect // *Clinical Cancer Research*, 2007. V.13(9). P.2722–2727.
176. Euroguide on the accommodation and care of animals used for experimental and other scientific purposes. (Based on the revised Appendix A of the European Convention ETS 123) FELASA: Federation of European Laboratory Animal Science Associations, London, UK. 2007. 17 c. www.felasa.eu.
177. Engeli S., Sharma A.M. Role of adipose tissue for cardiovascular-renal regulation in health and disease // *Horm. Metab. Res.* 2000. V. 32. P. 485–499.
178. Frey A.H., Eichert E.S. Psychophysical analysis of microwave sound perception. // *Journal of Bioelectricity*. 1985. V. 4. No 1. P. 1–14.
179. Fruhbeck G., Gomes-Ambrosi J., Muruzabal F. J. et al. The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation // *Amer. J. Physiol. Endocrin. Metab.* 2001. V. 280. P. E827–E847.

180. Fukuhara A., Matsuda M., Nihizawa M. et al. Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effect of insulin // *Science*. 2005. V. 307. P. 426–430.
181. Gregoire F.M., Smas C.M., Sul H.S. Understanding adipocyte differentiation // *Physiological Reviews*. 1998. V. 78. P. 783–809.
182. Hall C.S. Emotional behavior in the rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality / C.S. Hall // *Journal of Comparative Psychology*. 1934. № 18. P. 385–403.
183. Hara-Chikuma M., Sohara E., Rai T., Ikawa M., Okabe M., Sasaki S., Uchida S., Verkman A. Progressive adipocyte hypertrophy in aquaporin-7-deficient mice: adipocyte glycerol permeability as a novel regulator of fat accumulation // *The Journal of Biological Chemistry*. 2005, 280, 15493–15496.
184. Hayashi Y., Fukumi, A., Matsukado, K., Mori, M. Estimation of photon dose generated by a short pulse high power laser // 2006. <http://dx.doi.org/10.1093/rpd/nci383>
185. Hiie Hinrikus et al. Changes in Human EEG Caused by Low Level Modulated Microwave Stimulation // *Bioelectromagnetics*. 2004. Vol. 25. P. 431–440.
186. Hotamisligil G. S., Shargill N. S., Spiegelman B. M. Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance // *Science*. 1993. Vol. 259. P. 87–91.
187. Jenkins A.B., Markovic T.P., Fleury A., Campbell L.V. Carbohydrate intake and short-term regulation of leptin in humans // *Diabetologia*. 1997. 40: 348-351.
188. Jensen M. D. Lipolysis: contribution from regional fat // *Annu. Rev. Nutr.* 1997. Vol. 17. P. 127–139.
189. Jo J., Gavrilova O., Pack S., Jou W., Mullen S., Sumner A.E., Cushman S.W., Periwai V. Hypertrophy and/or Hyperplasia: Dynamics of Adipose Tissue Growth // *PLoS Comput Biol.*, 2009. 5(3): e1000324.
190. Jones D.P. Radical-free biology of oxidative stress. // *American Journal of Physiology. Cell Physiology*. 2008. V.295. P. C849–C868.

191. Kavindra K. Kesari, Behari J. Fifty-gigahertz Microwave Exposure Effect of Radiations on Rat Brain // *Appl Biochem Biotechnol.* 2009. V. 158. P. 126–139.
192. Kirkland J.L., Dobson D.E. Preadipocyte function and aging: links between age-related changes in cell dynamics and altered fat cell function// *Journal of the American Geriatrics Society.* 1997. V. 45. P. 959–967.
193. Kirkland J.L., Tchkonja, T. Pirtskhalava, J. Han, I. Karagiannides. Adipogenesis and aging: does aging make fat go MAD? // *Experimental Gerontology.* 2002. V. 37. P. 757–767.
194. Klimov A.I., Kovalchuk O.V., Rostov V.V., Sinyakov A.N. Measurement of Parameters of X-Band High-Power Microwave Superradiative Pulses // *IEEE Transactions on Plasma Scienc.* 2008. – Vol.36. – № 6. – P.1–4.
195. Kholodov Yu. A. Nonspecific responses of the nervous system to non-ionizing radiation // *Radiatsionnaya Biologia. Radioékologiya,* 1996. V.38. P.121–125.
196. Knyazeva I.R., Bolshakov M.A., Ivanov V.V., Zharkova L.P., Kereya A.V., Kutenkov O.P., Rostov V.V. Response of Mice Liver Mitochondria to Repetitive Pulsed Microwaves and X-Rays // *Известия вузов. Физика.* 2012, Том. 55, № 10/3 С. 194–198.
197. Komarek V. Gross Anatomy. In: Hedrich H.J., Bullock G. // *The laboratory mouse.* Amsterdam, Elsevier, 2004.
198. Korovin S.D., Rostov V.V., Polevin S.D., Pegel I.V., Schamiloglu E., Fuks M.I., and Barker R.J. Pulsed Power-Driven High Power Microwave Sources// *Proceedings of the IEEE,* 2004. V. 92. Issue 7. P. 1082-1095.
199. Leibowitz S. F. Specify city of hypothalamic peptides in the control of behavioral and physiological processes // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1994. V. 739. P. 12–35.
200. Litvyakov N.V. Supression of division of tumor cells exposed to nanosecond powerful microwave or X-ray pulse trains / N.V. Litvyakov, M.A. Buldakov, N.V. Cherdyntseva, V.V. Rostov, A.I. Klimov, M.A. Bolshakov, A.A. Elchaninov, S.D. Korovin // *2nd European Pulsed Power Symposium, Hamburg.* 2004. P. 62–66.

201. Maltezopoulos T., Cunovic S., Wieland M., Beye M., Azimal A., Redlin H. Single-shot timing measurement of extreme-ultraviolet free-electron laser pulses // *New Journal of Physics*, 2008. V.10. P.033026 (9p).
202. Manda K., Ueno M., Moritake T., et al. Radiation-induced cognitive dysfunction and cerebellar oxidative stress in mice: protective effect of alpha-lipoic acid // *Behav. Brain Res.* 2007. 177. P. 7–14.
203. Markov M. Thermal vs. nonthermal mechanisms of interactions between electromagnetic fields and biological systems. *Bioelectromagnetics*. 2006. 4-15, P. 3–13.
204. Markov M.S. Expanding Use of Pulsed Electromagnetic Field Therapies. // *Electromagnetic Biology & Medicine*. 2007. V.26(3). P. 257–274.
205. Martin C., Martin S., Viret R., Denis J., Mirguet F., Diserbo M., Multon E., Lamproglou I. Low dose of the gamma acute radiation syndrome (1.5 Gy) does not significantly alter either cognitive behavior or dopaminergic and serotonergic metabolism // *Cellular and molecular biology*. 2001. May, 47(3):459–65.
206. Mickaelson S.M. Interaction of nonmodulated radiofrequency fields with living matter // *CRC Handbook of biological effects of electromagnetic fields*. 1986. P. 340–423.
207. Minasyan S.M, Grigoryan G.Yu., Saakyan S.G., Akhumyan A.A., Kalantaryan V.P. Effects of the Action of Microwave-Frequency Electromagnetic Radiation on the Spike Activity of Neurons in the Supraoptic Nucleus of the Hypothalamus in Rats // *Neuroscience and Behavioral Physiology*, V. 37, No. 2, 2007. C. 175–180.
208. Miyachi Y., Yamada T. Low-dose X-ray-induced depression of sexual behavior in mice // *Behav. Brain. Res.*1994. 16;65(1):113–5.
209. Mohamed Ammari et al. Effect of a chronic GSM 900 MHz exposure on glia in the rat brain // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2008. V. 62. P. 273–281.
210. Mohammadi S., Pavlik A., Krajci D., Al-Sarraf H. NMDA preconditioning and neuroprotection in vivo: delayed onset of kainic acid-induced neurodegeneration and c-fos attenuation in CA3a neurons // *Brain Research*. 2009. V. 1256. P. 162–172.

211. Osman O.S., Selway J.L., Kępczyńska M.A., et al. A novel automated image analysis method for accurate adipocyte quantification // *Adipocyte*, 2013. July 1; 2 (3), pp. 160–164.
212. Pakhomov A. G., Prol H. K., Mathur S. P., Akyel Y., Campbell C. B. G. Role of Field Intensity in The Biological Effectiveness of Millimeter Waves At A Resonance Frequency // *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*. 1997. V. 43. Issue 1. P. 27–33.
213. Pakhomov A.G., Belt M., Cox D.D., Mathur S.P., Akyel Y, Murphy M.R. Immediate effects of extremely high power microwave pulses on the beating rythm in isolated frog heart auricle. // *Abstracts of the 20-th Annual Meeting of the Bioelectromagnetic Society*. 1998. P.113–114.
214. Pakhomov A.G., Doyle J., Mathur S.P. Combined effect of pulsed microwaves and glutamate superfusion on the population spike in rat hippocampal slices // *Abstracts of the 22-nd Annual Meeting of the Bioelectromagnetic Society, Munich, Germany*. 2000. P. 262–263.
215. Paulraj R., Behari J. Biochemical Changes in Rat Brain Exposed to Low Intensity 9.9 GHz Microwave Radiation // *Cell Biochem Biophys*. 2012. V. 63. P. 97–102.
216. Pauw A.D., Tejerina S., Raes M., et al. Mitochondrial dysfunction in adipocyte dedifferentiation and systemic metabolic alterations // *The American Journal of Pathology*. 2009. V. 175, No. 3, P. 927–939.
217. Pilla A. Proposed electrochemical mechanism of EMF modulation of tissue repair // *The bioelectromagnetic society 30th annual meeting abstract collection, San Diego, California*. 2008. P.147.
218. Poglio S., Galvani S., Bour S., et al. Adipose tissue sensitivity to radiation exposure // *The American Journal of Pathology*. 2009. V. 174, No. 1.P. 44–53.
219. Philippova T.M., Novoselov V.I., Alekseev S.I. Influence of microwaves on different types of receptors and the role of peroxidation of lipids on receptor-protein shedding // *Bioelectromagnetics*. 1994;15(3):183–92.
220. Ramsay T. G. Fat cells // *Endocrin. Metab. Clin. North Amer*. 1996. V. 25. P. 847–879.

221. Reilly J.J., Ventham J.C., Newell J. Risk Factors for excess weight gain in children treated for acute lymphoblastic leukaemia // *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 2000. № 24. P. 1537–1541.
222. Rene de Sezel. Biological effects of high power microwaves // *BEMS.* 2008. P. 2–3.
223. Ribiere C., Jaubert A. M., Gaudiot N. et al. White adipose tissue nitric oxide synthase: a potential source for NO production // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1996. V. 222. P. 706–712.
224. Richter E.O, Hoque T., Halliday W., Lozano A.M., Saint-Cyr J.A. Determining the position and size of the subthalamic nucleus based on magnetic resonance imaging results in patients with advanced Parkinson disease // *Journal of Neurosurgical Sciences.* 2004. V. 100. P.541–546.
225. Rigaud O., Moustacchi E. Radioadaptation for gene mutation and the possible molecular mechanisms of the adaptive response // *Mutat. Res.* 1996. 358. P. 127–134.
226. Rola R., Raber J., Rizk A., et al. Radiation-induced impairment of hippocampal neurogenesis is associated with cognitive deficits in young mice // *Exp. Neurol.* 2004. 188. P. 316–330.
227. Schaffler A., Neumeier M., Herfarth H. et al. Genomic structure of human omentin, a new adipocytokine expressed in omental adipose tissue // *Biochem. Biophys. Acta.* 2005. V. 1732. N 1–3. P. 96–102.
228. Schmelzeis M.C. The hippocampus and reward: effects of hippocampal lesions on progressive-ratio responding / M.C. Schmelzeis, G. Mittleman // *Behav. Neuros.* – 1996. V. 110, № 5. P. 1049–1066.
229. Schwan H. P. History of the genesis and development of the study of low energy electromagnetic fields. // *Biological Effects and Dosimetry of Non-Ionizing Radiation*, M. Grandolfo, S. Michaelson, and A. Rindi, Eds. New York: Plenum, 1981. P. 1–17.
230. Schwartz M.W., Seeley R.J. Neuroendocrine responses to starvation and weight loss. *New England Journal of Medicine.* 1997. 336, 1802–18011.

231. Schwartz M. W., Seeley R. J., Campfield L. A. et al. Identification of targets of leptin action in rat hypothalamus // *J. Clin. Invest.* 1996. V. 98. P. 1101–1106.
232. Sheng M., Greenberg M.E. The regulation and function of c-fos and other immediate early genes in the nervous system // *Neuron.* 1990. V. 4. P. 477–485.
233. Shi L., Adams M.M., Long A., et al. Spatial learning and memory deficits after whole-brain irradiation are associated with changes in NMDA receptor subunits in the hippocampus // *Radiat. Res.* 2006. 166, P. 892–899.
234. Shi L., Molina D.P., Robbins M.E., et al. Hippocampal neuron number is unchanged 1 year after fractionated whole-brain irradiation at middle age // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2008. 71. P. 526–532.
235. Shrivastav S. Microwave hyperthermia and its effect on tumor blood flow in rats / Shrivastav S., Kaelin W. // *Cancer Research.* 1983. №43. P. 665–669.
236. Shore R.E., Albert R.E., Pasternack B.S. Follow-up study of patients treated by X-ray epilation for Tinea capitis; resurvey of post-treatment illness and mortality experience // *Arch. Environ. Health.* 1976. № 31. P. 21–28.
237. Shore R.E., Moseson M., Harley N. Tumors and other diseases following childhood X-ray treatment for ringworm of the scalp (Tinea capitis) // *Health Phys.* 2003. № 85. P. 404–408.
238. Silasi G., Diaz-Heijtjz R., Besplug J., Rodriguez-Juarez R., Titov V., Kolb B., Kovalchuk O. Selective brain responses to acute and chronic low-dose X-ray irradiation in males and females // *Biochemical and Biophysical Research Communications.* 2004. V. 325. I. 4. P. 1223–1235.
239. Sklar C.A., Mertens A.C., Walter A. Changes in body mass index and prevalence of overweight in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: role of cranial irradiation // *Med. Pediatr. Oncol.* 2000. № 35. P. 91–95.
240. Sundquist S.J., Nisenbaum L.K. Fast Fos: rapid protocols for single- and double-labeling c-Fos immunohistochemistry in fresh frozen brain sections // *J. Neurosci. Meth.* 2005. P. 9-20.

241. Söderqvist, F. Radiofrequency fields, transthyretin, and alzheimer's disease / Söderqvist F., Hardell L., Carlberg M., Mild K.H // *Journal of Alzheimer's Disease*. 2010. V. 20, №2. P. 599–606.
242. Sonmez, O.F. Purkinje cell number decreases in the adult female rat cerebellum following exposure to 900 MHz electromagnetic field / O.F. Sonmez, E. Odaci // *Brain research*. 2010. № 12. P. 95–101.
243. Tijssen P., *Practice and theory of enzyme immunoassays*. 1985, Amsterdam ; New York: Elsevier ; New York, USA : Sole distributors for the USA and Canada, Elsevier Science Pub. Co. 502.
244. Tyazhelov V.V., Tigranian R.E., Khizhniak E.P. New artifact-free electrodes for recording of biological potential in strong electromagnetic fields // *Radio Science*, 1977. V. 12/6S. P.121–123.
245. Terro, F. GSM-900 MHz at low dose temperature-dependently downregulates α -synuclein in cultured cerebral cells independently of chaperone-mediated-autophagy / Terro F., Magnaudeix A., Crochetet M. et al. // *Toxicology*. 2012. V. 292, № 2–3. P. 136–144.
246. VanElzakker M., Fevurly R.D., Breindel T., Spencer R.L. Environmental novelty is associated with a selective increase in Fos expression in the output elements of the hippocampal formation and the periphinal cortex // *Learning and Memory*. 2008. V. 12, № 15. P. 899–908.
247. Wolff S. aspects of the adaptive response to very low doses of radiation and other agents // *Mutat. Res*. 1996. 358. P. 135–142.
248. Xu S. et al. Chronic exposure to GSM 1800-MHz microwaves reduces excitatory synaptic activity in cultured hippocampal neurons // *Neuroscience Letters*. 2006. V. 398. P. 253–257.
249. Yudkin J. S., Kumari M., Humphries S. E., Mohammed-Ali V. Inflammation, obesity, stress and coronary heart disease: is interleukin-6 the link // *Atherosclerosis*. 2000. V. 148. P. 209–214.

250. Zhao Z. Ghrelin administration enhances neurogenesis but impairs spatial learning and memory in adult mice / Zhao Z., Liu H., Xiao K., Yu M., Cui L., Zhu Q., Zhao R., Li G.D., Zhou Y. // *Neuros.* 2014. V. 257, № 17. P. 175–185.
251. Zakharova N.M. Influence of electromagnetic radiation on statistical characteristics and interrelations in pulse neuronal activity within the neocortical surviving slices. Proceedings of the 1-st international Symposium "Electrical Activity of the Brain: Mathematical Models & Analytical Methods", Pushchino, 1997. May 25-28, P. 90–92.

БЛАГОДАРНОСТИ

Сердечно благодарю научного руководителя исследования д.б.н., профессора М.А. Большакова за чуткое руководство, помощь и поддержку, оказанные в процессе выполнения диссертационной работы.

Высказываю слова благодарности и признательности зав. кафедрой физиологии человека и животных, профессору Ю.В. Бушову, всем сотрудникам кафедры за внимательное отношение в ходе выполнения диссертации. Выражаю благодарность выпускникам кафедры физиологии человека и животных Ю.Н. Семенову и Т.С. Кукушкиной за помощь при выполнении экспериментальной части работы.

Особая благодарность профессору Т.А. Замощиной и профессору М.Ю. Ходанович за помощь в исследовании и полезные советы при обсуждении полученных результатов.

Моя глубокая признательность зав. Отделом физической электроники Института сильноточной электроники СО РАН д.ф.-м.н., профессору В.В. Ростову и ведущему инженеру-электронику О.П. Кутенкову за качественное обеспечение проведенных экспериментов.

Благодарю сотрудников СибГМУ к.б.н., доцента И.Р. Князеву и к.б.н, доцента, зав. Лабораторией биологических моделей В.В. Иванова. Выражаю глубокую благодарность научному сотруднику Лаборатории биомедицинских технологий Филиала ТНИИКиФ ФГБУ СибФНКЦ ФМБА России А.А. Гостюхиной и д.м.н., в.н.с. О.Б. Жуковой за помощь в проведении экспериментальных исследований.

Моя искренняя благодарность зав. кафедрой нормальной физиологии СибГМУ, академику РАН М.А. Медведеву за помощь и поддержку на заключительном этапе выполнения работы.