

УДК 591.1:57.024:577.1

ДИНАМИКА ПОВЕДЕНЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ МЫШЕЙ В ХОДЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ЖИРОВУЮ ТКАНЬ НАНОСЕКУНДНЫМ ИМПУЛЬСНО-ПЕРИОДИЧЕСКИМ МИКРОВОЛНОВЫМ ИЗЛУЧЕНИЕМ**^{1,2}Керея А.В., ^{1,3}Жаркова Л.П., ^{1,3}Большаков М.А., ³Купцова А.Е.,
¹Кутенков О.П., ¹Ростов В.В.**¹*Институт сильноточной электроники СО РАН, Томск;*²*Сибирский государственный медицинский университет, Томск;*³*Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, e-mail: kereya21@mail.ru*

Исследовалась десятидневная динамика изменения поведенческих реакций лабораторных мышей в ходе локального облучения эпидидимальной жировой ткани наносекундным импульсно-периодическим микроволновым излучением (4000 импульсов ИПМИ за сеанс ежедневно, пиковая плотность потока мощности (пППМ) 1500 Вт/см², частоты повторения импульсов 13 и 22 Гц). Эффект воздействия по динамике оценивался с помощью поведенческого теста «открытое поле». Проведенные эксперименты показали, что после облучения эпидидимальной жировой ткани наносекундным ИПМИ некоторые показатели поведенческой активности мышей в «открытом поле» изменяются. Воздействие наносекундным ИПМИ после 3 и 5 дней облучения инициирует немонокотное изменение поведенческой активности, которое характеризует формирование у животных тревожности и подавленного состояния. В ходе облучения после 7 и 10 суток в организме мышей возникают адаптивные реакции, сопровождаемые повышением двигательной активности с сохранением некоторого уровня тревожности. Выявленные эффекты изменения поведенческих реакций зависят от частоты повторения импульсов ИПМИ и количества сеансов облучения. Обнаруженные эффекты подтверждают включение нейроэндокринной функции жировой ткани в формирование ответных реакций организма на воздействие, в том числе опосредованное измененной деятельностью головного мозга. Полученные результаты указывают на возможное развитие стресса в организме облученных животных.

Ключевые слова: импульсное микроволновое воздействие, поведение животных, жировая ткань**BEHAVIORAL DYNAMICS DURING THE NANOSECOND REPETITIVE PULSED MICROWAVE EXPOSURE ON THE MICE ADIPOSE TISSUE****^{1,2}Kereya A.V., ^{1,3}Zharkova L.P., ^{1,3}Bolshakov M.A., ³Kuptsova A.E.,
¹Kutenkov O.P., ¹Rostov V.V.**¹*Institute of High-Current Electronics SB RAS, Tomsk;*²*Siberian State Medical University, Tomsk;*³*National Research Tomsk State University, Tomsk, e-mail: kereya21@mail.ru*

The behavioral reactions of laboratory mice during daily 10-day local irradiation of epididymal adipose tissue with nanosecond repetitive pulsed microwave (RPM) radiation, were studied (4000 microwave pulses per session, peak power flux density of 1500 W/cm², pulse repetition rates of 13 and 22 Hz). The dynamic of reaction of mice was assessed using the behavioral test «open field». It was shown that some behavioral activity indicators changed after irradiation of epididymal adipose tissue in mice with nanosecond RPM radiation. Specifically, the behavioral activity had nonmonotonic changes after the 3rd and 5th day of irradiation, which indicates the formation of anxiety and depressed state of irradiated animals. Adaptive reactions in mice occurred, motor activity increased and certain level of anxiety persisted after 7 and 10 days of daily irradiation. The behavioral responses changes depended on the pulse repetition rate and the number of irradiation sessions. The data obtained confirm the involvement of the neuroendocrine function of adipose tissue into the formation of reaction of the whole organism to the exposure. Moreover, the reaction of the organism is mediated by changes in the brain activity after irradiation of the adipose tissue of mice. The obtained results indicated the possibility of stress development in the organism of irradiated animals.

Keywords: repetitively-pulsed microwave radiation, behavior of animals, adipose tissue

Ранее было установлено [1, 2], что прямое воздействие наносекундным импульсно-периодическим микроволновым излучением (ИПМИ) на эпидидимальную жировую ткань вызывает изменение общей двигательной активности мышей, а также влияет на размер адипоцитов и морфологические характеристики внутренних органов. Поскольку жировая ткань является нейроэндокринным органом, она посредством синтеза сигнальных веществ и регуляторов

метаболизма должна оказывать влияние на весь организм, в том числе на головной мозг [3, 4]. Как было показано ранее, ежедневное воздействие ИПМИ в течение десяти дней на жировую ткань опосредовало реакции головного мозга [5]. При этом после облучения мышей с разными частотами повторения импульсов ИПМИ наблюдалось повышение уровня гормона кортикостерона в крови, что можно трактовать как развитие реакции стресса [2, 5].

Ганс Селье [6], характеризуя реакцию стресса, выделил три стадии этого синдрома – стадию тревоги, резистентности и истощения. Стадия тревоги развивается, когда объект исходно подвергается воздействию. При продолжительном действии этого фактора возникшие изменения в организме в первую стадию постепенно исчезают, и наступает вторая стадия – адаптации, или резистентности (устойчивости) к стрессору. Это означает, что организм приспосабливается к конкретному раздражителю. Если раздражитель продолжает действовать, стадия резистентности сменяется третьей стадией – истощения. В этой стадии организм уже не в состоянии поддерживать резистентность, поэтому изменения во внутренних органах проявляются в значительно большей степени, в результате чего животное погибает. Несколько десятилетий спустя Селье определил стресс как «неспецифический ответ и реакцию всего организма», которая имеет общие черты независимо от типа воздействия. Одной из таких черт у лабораторных животных может выступать изменение поведенческой активности.

Исследование динамики общей двигательной активности мышей показало ее немонокотонный характер в течение 10 дней облучения [2]. Более того, было не ясно, на каких стадиях формирования стресса находится организм животных в ходе десятидневного облучения. Поэтому представлялось необходимым более подробное исследование динамики изменения поведенческих реакций животных, облученных в течение разного количества дней.

Цель исследования – оценить динамику поведения животных в «открытом поле» в ходе ежедневного однократного в течение 3, 5, 7, и 10 дней облучения эпидидимальной жировой ткани наносекундным импульсно-периодическим микроволновым излучением с точки зрения динамики развития стресса в облученном организме.

Материалы и методы исследования

Эксперименты выполнены на нелинейных половозрелых белых мышах самцах массой 25–30 г. Животные содержались в клетках при комнатной температуре, постоянной влажности и режиме освещения 12:12, на стандартном рационе питания со свободным доступом к воде и пище. Исследование проводилось в соответствии с этическими нормами работы с лабораторными животными и санитарными правилами по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник [7]. Мыши были разделены на облученных и ложнооблученных (ЛО) по шесть животных для каждого из использованных режимов воздействия. Ложнооблученные мыши подвергались всем аналогичным манипуляци-

ям, что и облученные, но без включения источника микроволнового излучения. В качестве контрольного показателя использовались усредненные значения поведенческих реакций в «открытом поле» за день до начала экспериментов с воздействием. Для определения динамики изменения поведения животных в «открытом поле» были сформированы группы мышей применительно к различным вариантам продолжительности облучения (3, 5, 7 и 10 дней). Процедуры облучения проводились в одно и то же время суток (9–11 часов). Во время воздействия мыши размещались в пластиковых контейнерах таким образом, что паховая область, где сосредоточена вся масса эпидидимальной жировой ткани, располагалась в зоне микроволнового излучения. Для обеспечения локальности воздействия на эпидидимальную жировую ткань тело мыши покрывалось радиопоглощающим материалом. В этих условиях эпидидимальный жир животных подвергался ежедневному воздействию 4000 импульсов ИПМИ с пиковой плотностью потока мощности (пППМ) 1500 Вт/см² и частотами повторения 13 и 22 Гц. Выбор частот повторения был обусловлен результатами предыдущих экспериментов, в которых воздействие ИПМИ на жировую ткань с этими режимами было наиболее эффективным [1, 2, 5]. Продолжительность облучения варьировала от 3 до 5 минут в зависимости от частоты повторения импульсов. Источником ИПМИ служил лабораторный генератор на основе магнетрона МИ-505 (несущая частота 10 ГГц, длительность импульсов 100 нс). Оценка интенсивности воздействия проводилась по методике, описанной в [8].

В качестве индикатора воздействия ИПМИ на эпидидимальную жировую ткань использовались поведенческие реакции мышей в тесте «открытое поле», который позволяет оценить реактивность или устойчивость ЦНС к воздействию какого-либо фактора, в том числе стрессирующего [9]. Этот тест основан на естественной оценке оборонительных, исследовательских и пищедобывательных поведенческих реакций грызунов в новом открытом пространстве [10] и считается одним из наиболее адекватных способов оценки тревожности животных на основе показателей их подвижности в результате воздействия различными внешними физическими факторами.

Тестирование экспериментальных и ложнооблученных мышей проводилось в утренние часы (9.00–12.00) дважды – за сутки до начала облучения и через сутки после окончания воздействий в соответствующих группах согласно количеству дней облучения (3, 5, 7 и 10 дней). Установка «открытое поле» представляла собой круглую арену диаметром 50 см в основании с бортами высотой 25 см, расчерченную на 18 секторов и центральную зону. В местах пересечений линий секторов в полу имелись отверстия – «норки» (16 штук). Животные тестировались при освещенности арены 180 лк (измеритель потока света Pocket light meter 8581, Тайвань). Непосредственно перед проведением тестирования мышей в соответствии с общепринятыми правилами [11] они предварительно в течение 3 минут выдерживались в затемненном пространстве клеток, в которых мыши содержались. После этого тестируемое животное помещалось в центральную зону «открытого поля» и в течение 5 минут отслеживалось его поведение. В качестве индикаторных показателей фиксировались горизонтальная активность (количество пересеченных секторов), вертикальная активность (стойки на задних

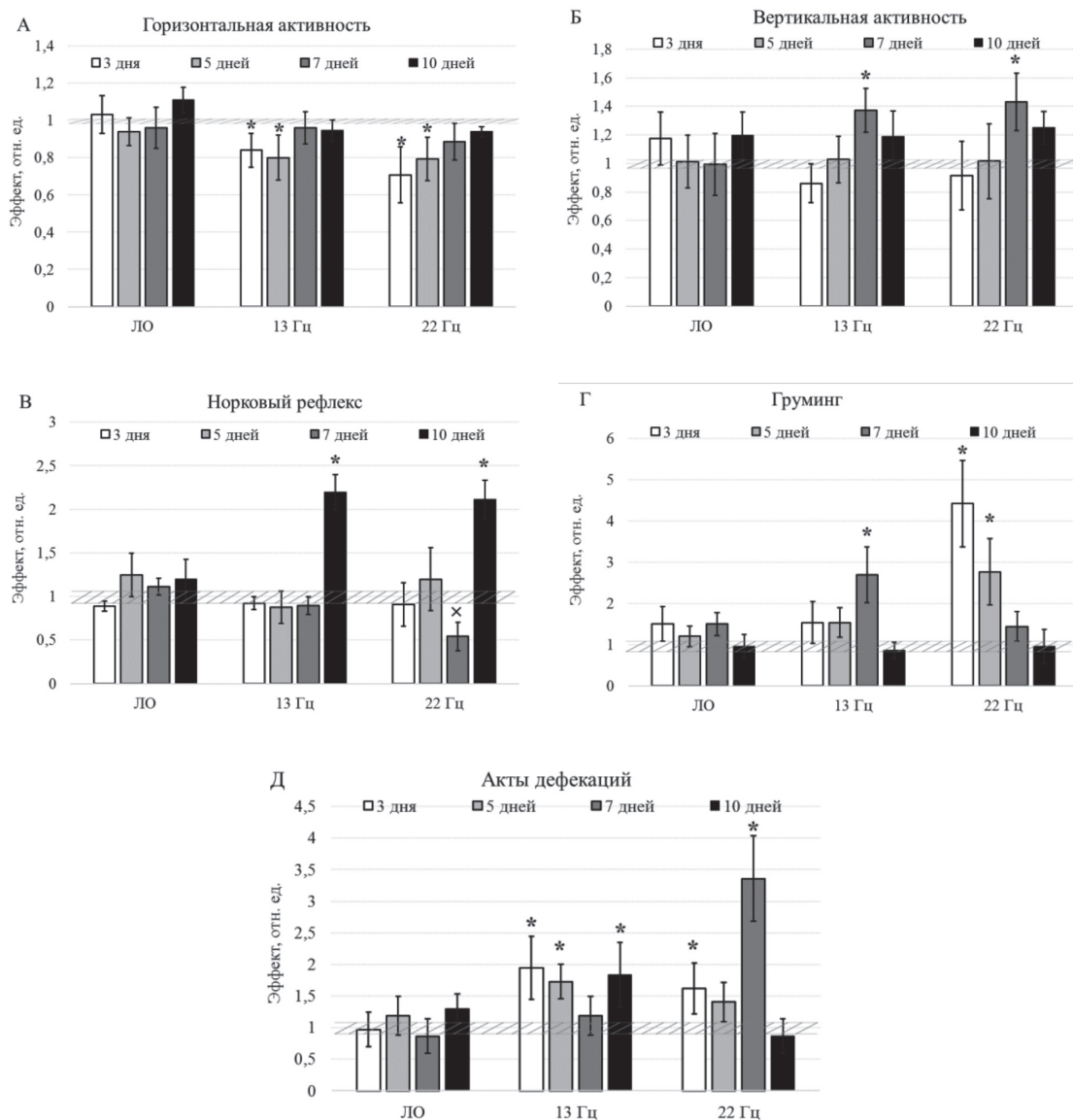
лапах с опорой и без), норковый рефлекс (количество заглядываний в норки), эмоциональность (количество дефекаций и уринаций), груминг. Количество пересеченных секторов и заглядываний в норки характеризовало двигательную и исследовательскую активность, вертикальная активность, количество дефекаций/уринаций и груминг – эмоциональную составляющую поведения и тревожность у мышей.

Полученные результаты подвергали статистической обработке с помощью пакета прикладных программ Statsoft STATISTICA for Windows 8.0. Рассчитывалась средняя арифметическая величина показателя и ошибка среднего. Значимость различий между показателями облученных и ложнооблучен-

ных животных определялась с помощью непараметрического U-критерия Манна – Уитни.

Результаты исследования и их обсуждение

Выполненные эксперименты показали, что после облучения эпидидимальной жировой ткани наносекундным ИПМИ некоторые показатели поведенческой активности мышей в «открытом поле» изменяются. Обнаруженные эффекты воздействия зависят от частоты повторения импульсов и количества дней облучения.



*Поведенческая активность мышей в «открытом поле» после облучения ИПМИ эпидидимальной жировой ткани. Примечание: показатели нормированы относительно контрольной группы, контроль принят за 1, заштрихованное пространство – 95 % доверительный интервал среднего значения показателя в группе ЛО животных. * – различия статистически значимы по отношению к соответствующим показателям ЛО животных для каждой группы ($p \leq 0,05$)*

Облучение в течение 3 дней. Через 3 дня после облучения мышей с частотами повторения 13 и 22 Гц в показателях поведения в «открытом поле» обнаруживается статистически значимое снижение горизонтальной активности у облученных животных (рисунок, А), что свидетельствует об угнетении ориентировочно-исследовательской компоненты поведения. При тех же самых режимах воздействия увеличивается показатель дефекации (рисунок, Д), а показатель груминга увеличивается только после облучения с частотой 22 Гц (рисунок, Г). Такие изменения характеризуют развитие эмоциональной напряженности (беспокойства или страха) у животных, что может указывать на развитие первой стадии стресса – тревоги.

Облучение в течение 5 дней. У мышей после 5 дней облучения сохранялось статистически значимое понижение показателей горизонтальной активности (рисунок, А). Уровень дефекаций, характеризующий эмоциональную составляющую поведения у животных, так же как и после трехдневного воздействия, возрос после облучения с частотой 13 Гц (рисунок, Д), а показатель груминга увеличивался после облучения с частотой 22 Гц (рисунок, Г). Выявленные изменения поведенческих реакций указывают на сохранение высокой эмоциональной напряженности, соответствующей стадии тревоги.

Облучение в течение 7 дней. Через семь дней воздействия ИПМИ наблюдалось статистически значимое увеличение в «открытом поле» вертикальной активности (рисунок, Б) и груминга (рисунок, Г) в группах, облученных с частотой 13 Гц, а также повышение вертикальной активности (рисунок, Б) и уровня дефекаций (рисунок, Д) с одновременным снижением норкового рефлекса после воздействия с частотой 22 Гц (рисунок, В). Однако показатель норковой активности, который у предыдущих исследуемых групп оставался неизменным, в целом дополняет установленное ранее снижение активно-поисковой и исследовательской компонент поведения после облучения с меньшим количеством сеансов при одновременном поддержании на высоком уровне тревожности и эмоциональной нестабильности. По-видимому, после 7 дней облучения стадия тревоги в организме мышей сохраняется, однако, повышение активно-поисковой горизонтальной компоненты поведения до уровня ложнооблученной группы указывает на начинающееся развитие адаптации к воздействиям ИПМИ.

Облучение в течение 10 дней. Анализ результатов десятидневного облучения продемонстрировал противоположно направленные

эффекты по некоторым поведенческим реакциям относительно более коротких периодов облучения. Если через 3 и 5 дней облучения норковый рефлекс в «открытом поле» у животных достоверно не изменялся, а после 7 дней облучения с частотой 22 Гц он значительно снижался (рисунок, В), то в результате десятидневного воздействия с использованием частот повторения импульсов 13 и 22 Гц уровень норковой активности статистически значимо возрос (рисунок, В). Обращает на себя внимание тот факт, что параллельно с активацией исследовательской компоненты поведения у животных сохранялся повышенный показатель актов дефекаций в результате облучения с частотой 13 Гц (рисунок, Д). Можно предположить, что у животных в результате облучения к 10 дню возникает конфликт между эмоциональной и исследовательской компонентами поведения и повышается интерес к открытому пространству с одновременным снижением страха. Следовательно, можно предположить, что после 10 дней облучения в организме у животных начинают развиваться адаптивные реакции к воздействию фактору и стадия тревоги сменяется стадией резистентности.

Заключение

Из полученных результатов следует, что воздействие наносекундным ИПМИ на эпидидимальную жировую ткань мышей после 3 и 5 дней облучения инициирует немонотонное изменение поведенческой активности, которое характеризует формирование у животных тревожности и подавленного состояния. Обнаруженные эффекты подтверждают включение нейроэндокринной функции жировой ткани в формирование ответных реакций организма на воздействие, в том числе опосредованное деятельностью головного мозга. В ходе облучения после 7 и 10 суток в организме мышей возникают адаптивные реакции, сопровождаемые повышением двигательной активности с сохранением некоторого уровня тревожности. По-видимому, конфликт между этими показателями сопряжен с изменением содержания кортикостерона в организме мышей, что некоторые авторы рассматривают как адаптивную реакцию организма, позволяющую осуществить необходимую мобилизацию ресурсов для формирования резистентности [12, 13]. Из полученных результатов следует, что воздействие с разными частотами повторения импульсов инициирует изменение поведенческих реакций с разной динамикой. По-видимому, воздействие с разными частотами повторения импульсов обеспечивает выработку жировой

тканью сигнальных веществ и метаболических факторов (например, лептин, грелин и др.), которые соответствующим образом влияют на головной мозг, прежде всего на гипоталамус, что способствует выбросу глюкокортикоидов. Очевидно, что увеличение выброса глюкокортикоидов в кровь будет связано с усилением образования экстрагипоталамического кортиколиберина, являющегося основным медиатором тревожности, и сопровождаться повышением тревожности [14], что позволяет рассматривать воздействие наносекундного ИПМИ рассматривать как стресс-фактор.

Априори нельзя исключить, что формирование ответной реакции организма на облучение жировой ткани ИПМИ может реализовываться по аналогичной схеме при воздействии и другими физическими факторами. Поэтому это представляется актуальным для процедур, используемых современной косметической медициной при воздействиях различными факторами на жировую ткань человека (RF-липолиз, электролиполиз, ультразвуковой липолиз, лазерная терапия, миостимуляция). Такие процедуры помимо желаемого эффекта уменьшения массы избыточной жировой ткани могут сопровождаться и непрогнозируемыми нежелательными реакциями со стороны центральной нервной системы, в том числе развитием стресса. Возникновение подобного неблагоприятного результата в настоящее время никак не учитывается и поэтому исследование состояния организма после различных физических воздействий на жировую ткань приобретает особую актуальность.

Работа выполнялась по программе Президиума РАН № 10 «Мощные ультракороткие электромагнитные импульсы, а также их взаимодействие с объектами и средами».

Список литературы

1. Эффект воздействия наносекундного импульсно-периодического микроволнового излучения на эпидидимальную жировую ткань мышей / Керей А.В. [и др.] // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2014. – Т. 54, № 6. – С. 606–612.
2. Керей А.В., Большаков М.А., Кутенков О.П., Ростов В.В. Физиологические реакции мышей после прямого воздействия наносекундным импульсно-периодическим микроволновым излучением на эпидидимальную жировую ткань // Международный научно-исследовательский журнал. – 2016. – № 2 (44). – С. 13–19.
3. Шварц М.В. Жировая ткань как эндокринный орган // Проблемы эндокринологии. – 2009. – Т. 55, № 1. – С. 38–44.
4. Schwartz M.W., Seeley R.J. Neuroendocrine responses to starvation and weight loss // New Engl. J. of Medicine. – 1997. – № 336. – P. 1802–18011.
5. Kereya A.V., Bolshakov M.A., Kutenkov O.P., Rostov V.V. Laboratory mice are stressed after exposure to nanosecond repetitive pulsed microwaves // Известия высших учебных заведений. Физика. – 2016. – Т. 59, № 9/2. – С. 67–70.
6. Воробьева О.В. Стресс и расстройства адаптации // Русский медицинский журнал. – 2009. – Т. 17, № 11. – С. 789–793.
7. Euro guide 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 p. www.felasa.eu.
8. Функциональное состояние митохондрий после воздействия наносекундного импульсно-периодического микроволнового излучения / Князева И.Р. [и др.] // 9-й Международный симпозиум по электромагнитной совместимости и электромагнитной экологии. Труды симпозиума. – СПб., 2011. – С. 549–552.
9. Умрюхин П.Е., Григорчук О.С. Кортикостерон крови и ликвора у крыс с различным поведением в открытом поле при стрессорной нагрузке // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2015. – № 3–11. – С. 372–374.
10. Амикишиева А. Поведенческое фенотипирование: современные методы и оборудование // Вестник ВОГиС. – 2009. – № 13. – С. 529–542.
11. Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш. – М.: Высшая школа, 1991. – 399 с.
12. Взаимосвязи уровней циркулирующего кортикостерона, экспрессии центральных кортикостероидных рецепторов и изменения поведенческой активности крыс с разной устойчивостью к гипоксии в динамике восстановления после экстремальной гипоксии / Г.А. Байбурина [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2017. – № 4. URL: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=26624> (дата обращения: 07.02.2018).
13. Соотношение между уровнем поведенческой активности, концентрацией циркулирующего кортикостерона у крыс с различной устойчивостью к гипоксии / О.В. Кузина [и др.] // Вестник ЮрГУ. Сер.: Образование, здравоохранение, физическая культура. – 2014. – Т. 14, № 4. – С. 54–58.
14. De Kloet E.R. Hormones and the stressed brain // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 2004. – № 1018. – P. 1–15.