

На правах рукописи



КАРАГАЙЧЕВА ЮЛИЯ ВЛАДИМИРОВНА

**СОЧЕТАННОЕ ДЕЙСТВИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО
ИЗЛУЧЕНИЯ 65 ГГц И АЦЕТАТА СВИНЦА
НА ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ**

03.02.08 – экология
(биология)

А в т о р е ф е р а т

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Саратов – 2012

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю.А.»

Научный руководитель: доктор биологических наук, доцент,
Рогачева Светлана Михайловна

Официальные оппоненты: **Волкова Ирина Владимировна**,
доктор биологических наук, доцент,
ФГБОУ ВПО «Астраханский государственный
технический университет», профессор кафедры
«Гидробиология и общая экология»

Сметанина Мария Даниловна,
кандидат биологических наук, доцент,
ФГБОУ ВПО «Саратовский государственный
университет имени Н.Г. Чернышевского»,
доцент кафедры «Физиология человека и
животных»

Ведущая организация: ФГБОУ ВПО «Волгоградский
государственный технический
университет»

Защита состоится «21» декабря 2012 г. в 10 часов на заседании диссертационного совета Д. 212.243.13 при Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского» по адресу: 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83, V уч. корпус. E-mail: biosovet@sgu.ru

С диссертацией можно ознакомиться в Зональной научной библиотеке имени В. А. Артисевич ФГБОУ ВПО «Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского»

Автореферат разослан « ____ » ноября 2012 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета



С.А. Невский

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Одной из наиболее острых глобальных экологических проблем является загрязнение окружающей среды соединениями свинца. Они оказывают негативное воздействие на биосистемы всех уровней организации и способны наносить ущерб здоровью населения (Ермоленко и др., 2001). Свинец относится к ядам политропного действия и приводит к поражению кроветворной, нервной, пищеварительной, выделительной и других систем (Авцын, 1991; Давыдова, Тагасов, 2002). Накапливаясь в организме человека, свинец оказывает нейротоксическое действие, приводящее к изменениям функционального состояния центральной нервной системы (ЦНС), которые характеризуются быстрым утомлением, депрессиями, тревожностью, девиантным поведением и т.д. (Атчбаров, 1966; Евстафьева и др., 2011).

В сложившейся ситуации необходимо создание безопасных, но эффективных способов коррекции ответной реакции организма на действие свинца, повышения адаптивных свойств организма за счет активации защитных и регуляторных механизмов, стабилизации психоэмоционального состояния.

В настоящее время особое внимание в экологии и биологии уделяется электромагнитному излучению (ЭМИ) миллиметрового (ММ) диапазона низкой интенсивности. ЭМИ с частотами 40 - 100 ГГц и интенсивностью меньше 10 мВт/см^2 проявляет антистрессорное, иммуномодулирующее, антиоксидантное, противовоспалительное, антиноцицептивное действие. Имеются данные о способности ЭМИ ММ-диапазона модифицировать эффекты воздействия биологически активных и токсичных веществ на биологические системы разных уровней организации. Это воздействие наиболее заметно на резонансных частотах, к которым относится частота 65 ГГц (Петросян и др., 1995; Бецкий и др., 2004). Ранее установлено, что облучение на резонансной частоте (65 ГГц, плотность потока энергии (ППЭ) 120 мкВт/см^2) гидробионтов повышает их устойчивость к токсичным и биологически активным веществам (фенолу, этанолу, азиду натрия), содержащимся в водной среде (Денисова и др., 2007; Зотова, 2007).

Изучение возможности модификации ответной реакции млекопитающих на воздействие экотоксикантов с помощью ЭМИ ММ-диапазона ранее не проводилось. Поиск неспецифических способов коррекции экологически обусловленных состояний, повышения адаптационных способностей организма млекопитающих к воздействию экотоксикантов, в частности соединений свинца, представляет важную и актуальную проблему в современной экологии.

Цель и задачи исследования. Основной целью исследования является определение характера изолированного и сочетанного с ЭМИ 65 ГГц

воздействия ионов свинца на организм млекопитающих. В ходе реализации основной цели решали следующие задачи:

- изучить поведенческие реакции лабораторных животных при хроническом воздействии ацетата свинца в нелетальных дозах;

- определить эффекты воздействия ЭМИ 65 ГГц низкой интенсивности на физическую выносливость, психоэмоциональный статус и ориентировочно-исследовательскую активность лабораторных животных в условиях хронической свинцовой интоксикации и без нее;

- исследовать изолированные и сочетанные эффекты воздействия ацетата свинца и ЭМИ 65 ГГц на метаболические процессы в организме млекопитающих;

- оценить возможность индукции окислительного стресса в организме животных ионами свинца и ЭМИ 65 ГГц.

Научная новизна. Впервые на лабораторных мышах и крысах исследован характер изолированного и сочетанного действия ацетата свинца в нелетальных дозах и ЭМИ низкой интенсивности с частотой 65 ГГц на поведенческие реакции и биохимические показатели крови млекопитающих. Обнаружено уменьшение общей физической выносливости и увеличение тревожности животных при хроническом воздействии токсиканта в дозах 0,24-24 мг/кг. Отмечено, что эффект воздействия ионов свинца прямо пропорционально зависит от дозы. Установлено, что ЭМИ 65 ГГц приводит к улучшению психоэмоционального статуса и выносливости животных в условиях свинцовой интоксикации. С помощью биохимических исследований крови обнаружена способность ММ-излучения стабилизировать нарушения метаболизма, вызванные воздействием свинца. Доказан антистрессовый, стимулирующий выносливость характер действия низкоинтенсивного ММ-излучения.

Научно-практическая значимость. Результаты исследований имеют важное значение для понимания механизмов адаптационного действия низкоинтенсивного ММ-излучения на организм млекопитающих. Выявлена возможность применения ЭМИ с частотой 65 ГГц для коррекции экологически обусловленных патологических состояний. Эти результаты могут найти применение при разработке технологий повышения адаптационных способностей организма к воздействию соединений свинца.

Полученные результаты используются в курсе лекций и в лабораторном практикуме по дисциплине «Экологическая токсикология» в Саратовском государственном техническом университете имени Гагарина Ю.А.

Апробация работы. Основные результаты и положения исследований были представлены на: IV Всероссийской научно-практической конференции «Экологические проблемы промышленных городов» (Саратов, 2009), VII Всероссийской научно-практической конференции «Проблемы региональной экологии в условиях устойчивого развития» (Киров, 2009), VIII и IX Международных Крымских конференциях «Космос и биосфера» (Крым,

2009, 2011), Международном конгрессе «Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине» (Санкт-Петербург, 2009), Международном научно-практическом симпозиуме «Новые технологии в медицине и экспериментальной биологии» (Хошимин-Фантьен, Вьетнам, 2010), IV Всероссийском с международным участием конгрессе студентов и аспирантов-биологов «Симбиоз - Россия 2011» (Воронеж, 2011), Первой Всероссийской научно-практической конференции «Техногенная и природная безопасность» (Саратов, 2011).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 13 научных работ, из них 3 статьи в изданиях, рекомендованных Перечнем ВАК РФ.

Декларация личного участия. Диссертантом выполнен весь объем экспериментальной работы, проведены обработка и анализ результатов, сделаны расчеты, сформулированы положения, выносимые на защиту, и выводы. В совместных публикациях доля участия автора составила 60-70%.

Объем и структура диссертации. Работа изложена на 123 страницах, состоит из введения, 3 глав, заключения и выводов, содержит 19 рисунков, 10 таблиц и список использованной литературы, включающий 220 источников отечественных и зарубежных авторов.

Положения, выносимые на защиту:

1. Ацетат свинца в нелетальных дозах 0,24-24 мг/кг негативно влияет на выносливость и поведенческие реакции животных. Эффект воздействия прямо пропорционально зависит от дозы.

2. Ежедневное кратковременное (30 мин) воздействие на животных электромагнитными волнами с частотой 65 ГГц и плотностью потока энергии 120 мкВт/см² повышает их физическую выносливость.

3. При сочетанном воздействии с ацетатом свинца в дозах 0,24 – 24 мг/кг ЭМИ 65 ГГц уменьшает эффект воздействия токсиканта на животных: повышает их физическую выносливость, нормализует психо-эмоциональные реакции и метаболические процессы.

4. Корректирующий эффект ЭМИ 65 ГГц низкой интенсивности связан с антистрессовым воздействием на нервную систему животных.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обосновываются актуальность исследования, его практическая и теоретическая значимость; сформулированы основная цель и задачи исследования.

Глава 1. ВЛИЯНИЕ СОЕДИНЕНИЙ СВИНЦА И ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ МИЛЛИМЕТРОВОГО ДИАПАЗОНА НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ (обзор литературы)

В главе представлена токсикологическая характеристика соединений свинца, рассмотрены эффекты их воздействия на живые организмы и экологические последствия загрязнения окружающей среды. Отмечено, что свинец является политропным ядом, способным накапливаться в организме, вызывать патологические изменения в различных системах и органах, в первую очередь, поражать нервную систему (Чухловина, 1997; Измеров, 1998). Проанализированы литературные данные по вопросам взаимодействия низкоинтенсивного электромагнитного излучения ММ-диапазона с биологическими системами. Показано, что ЭМИ резонансных частот способно изменять свойства биообъектов, в частности, излучение 65 ГГц модифицирует их отклик на действие физиологически активных и токсичных веществ (Синицин и др., 1998; Зотова, 2007; Денисова, 2008). Обосновано применение лабораторных животных в качестве моделей для исследования эффектов изолированного и сочетанного действия ионов свинца и ММ-излучения на организм млекопитающих.

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проводились в 2007–2011 гг. на кафедре «Природная и техноферная безопасность» ФГБОУ ВПО «Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю. А.».

В работе использовали белых неинбредных самцов мышей (100 особей) массой 18–25 г и крыс (176 особей) массой 180–250 г, содержащихся в стандартных условиях вивария. Все эксперименты выполнялись с соблюдением принципов гуманного отношения к животным и существующих нормативных и правовых актов.

В экспериментах использовали водные растворы ацетата свинца $Pb(CH_3COO)_2 \cdot 3H_2O$ ($M=379,33$), которые вводили животным перорально через зонд в дозах 0,24; 1,2; 2,4; 24,0 мг/кг. Объем вводимого раствора составлял 1% от массы тела.

В качестве источника излучения миллиметрового диапазона использовали генератор сигнала Г4-142, снабженный пирамидальной рупорной антенной длиной 12 см и апертурой 42×50 см². Облучение проводили при комнатной температуре ($21 \pm 1^\circ C$) в течение 30 мин в режиме непрерывной генерации сигнала на частоте 65 ГГц, ППЭ в месте расположения объекта определялась расчетными методами и составляла 120 мкВт/см². Опытных животных размещали на расстоянии 5–10 см от края антенны. Облучение ЭМИ было общее, животных не фиксировали.

Определяли уровень изолированного и сочетанного действия ацетата свинца в указанных дозах и ЭМИ 65 ГГц, 120 мкВт/см² (далее ЭМИ₆₅) на общую физическую выносливость мышей и крыс, ориентировочно-исследовательскую активность и эмоциональный статус крыс, биохимические показатели крови мышей и крыс.

Оценку общей физической выносливости мышей проводили по модифицированной методике «принудительное плавание» при температуре воды 20±0,5°C (Porsolt et al., 1978), регистрировали время (в секундах) до прекращения активного движения животного. Физическую выносливость крыс определяли с помощью модифицированной методики «принудительное плавание с грузом» (Dawson, Horvath, 1970), в которой определяли длительность плавания крыс с грузом, составляющим 7% от массы тела при температуре воды 29,5±0,5°C. Регистрируемым показателем являлось время заплыва в секундах до отказа от плавания.

Ориентировочно-исследовательскую деятельность и эмоциональный статус экспериментальных животных изучали по методикам «открытое поле» (ОП) и «крестообразный приподнятый лабиринт» (КПЛ); длительность тестирования составляла 5 мин (Буреш и др., 1991). В тесте ОП регистрировали: горизонтальную двигательную активность по количеству пересеченных квадратов; общую вертикальную активность по частоте подъемов на задние лапы и количеству подъемов на бортик; количество актов груминга (умывания) и эмоциональную реакцию по частоте дефекации. В тесте КПЛ оценивали: время нахождения на центральной площадке, в открытых и закрытых рукавах; число заходов в открытые и закрытые рукава; количество переходов через центр; число заглядываний в рукава и выглядывание из них; вертикальную активность (число стоек).

Кровь для биохимических исследований отбирали из подъязычной вены или путем декапитации животных. Сыворотку крови готовили по стандартной методике (Елизарова и др., 1974). Её биохимические исследования включали в себя определение активности ферментов аспартатамиотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), креатинкиназы (КК); концентрации глюкозы, общего белка, мочевины, триглицеридов. Измерения проводили на полуавтоматическом биохимическом анализаторе Clima Plus (Испания).

Для получения эритроцитов кровь стабилизировали цитратом натрия, центрифугировали, отобранные эритроциты гемолизировали дистиллированной водой. Содержание малонового диальдегида (МДА) в эритроцитах определяли спектрофотометрически по реакции с тиобарбитуровой кислотой (Кондрахин, 2004), измерения проводили на спектрофотометре Юнико-Сис (Россия) при длине волны 540 нм.

Количество животных, использованных в работе, отражено в табл. 1.

Таблица 1

Объем экспериментальных работ

Методы исследования		Кол-во животных, шт.	
		мыши	крысы
Определение поведенческих реакций	«принудительное плавание»	100	-
	«принудительное плавание с грузом»	-	64
	«открытое поле»	-	64
	«крестообразный приподнятый лабиринт»	-	64
Определение биохимических показателей крови	АСТ, АЛТ	40	32
	ЛДГ, КК	40	72
	общий белок	40	32
	глюкоза, мочевины, триглицериды	-	32
	малоновый диальдегид	-	80

В табл. 2 приведены условные обозначения опытных групп экспериментальных животных.

Таблица 2

Группы лабораторных животных в зависимости от комбинации исследуемых факторов

Условное обозначение	Вариант воздействия исследуемых факторов
«Контроль»	Животным перорально вводили дистиллированную воду
«ЭМИ»	После введения дистиллированной воды животных облучали ЭМИ ₆₅
«Рb»	Животным перорально вводили раствор ацетата свинца
«Рb+ЭМИ»	После введения раствора ацетата свинца животных облучали ЭМИ ₆₅
«ЭМИ+Рb»	Животных облучали ЭМИ ₆₅ перед введением раствора ацетата свинца

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы MS Excel 2000 с учетом рекомендаций по статистической обработке результатов биологических исследований (Беленький, 1963; Урбах, 1975). Достоверность результатов оценивалась при уровне значимости 0,05.

Глава 3. ИЗОЛИРОВАННОЕ И СОЧЕТАННОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ ИОНОВ СВИНЦА И ЭМИ 65 ГГц НА ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

С целью определения характера изолированного и сочетанного с ЭМИ₆₅ воздействия ионов свинца на организм млекопитающих исследованы поведенческие реакции и биохимические показатели крови неинбредных белых мышей и крыс, подвергнутых хроническому действию указанных факторов. Выбор ЭМИ₆₅ обусловлен его способностью модифицировать отклик биосистем на действие химических реагентов (Синицин и др., 1998; Зотова, 2007). С помощью перорального введения водных растворов ацетата свинца в токсичных, но нелетальных дозах 0,24; 1,2; 2,4; 24,0 мг/кг смоделирован процесс хронического отравления организма человека

ионами свинца. Учитывая межвидовой пересчет (Хабриев, 2005), доза 0,24 мг/кг соответствует количеству свинца, попадающему в организм человека за сутки с водой и продуктами питания (Полянский, 1986).

3.1. Влияние ацетата свинца и ЭМИ 65 ГГц на общую физическую выносливость животных

Первоначально в хроническом эксперименте изучалось дозозависимое действие ацетата свинца при изолированном введении и в сочетании с ЭМИ₆₅ на общую физическую выносливость мышей.

В первой серии опытов животных четырех экспериментальных групп: «Контроль», «ЭМИ», «Pb», «Pb+ЭМИ» (см. табл. 2) в течение 10 дней взвешивали и тестировали на «принудительное плавание». Доза ацетата свинца составляла 0,24 мг/кг.

Для сравнения состояния животных до и после 10- дневного опыта были проведены расчеты следующих показателей:

- относительное изменение времени плавания ($\Delta t_{отн}, \%$):

$$\Delta t_{отн.} = ((t_k - t_n) / t_n) * 100\%, \quad (1)$$

где t_n - время плавания в первый день эксперимента, с;

t_k - время плавания в последний день эксперимента, с;

- относительное изменение массы мышей ($\Delta m_{отн}, \%$):

$$\Delta m_{отн.} = ((m_k - m_n) / m_n) * 100\%, \quad (2)$$

где m_n - масса мышей в первый день эксперимента, г;

m_k - масса мышей в последний день эксперимента, г.

По результатам расчетов построена диаграмма (рис.1).

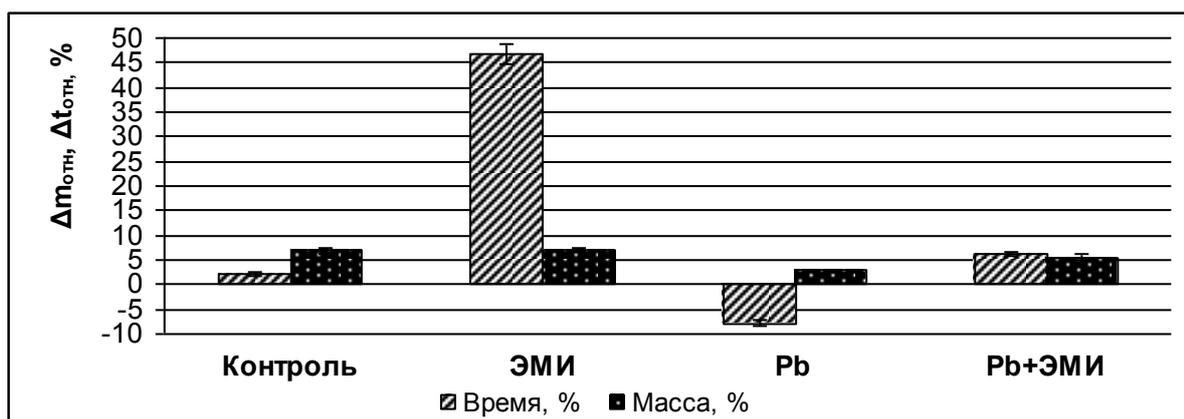


Рис. 1. Относительные значения изменения времени плавания и массы мышей при 10- дневном изолированном и сочетанном воздействии ацетата свинца в дозе 0,24 мг/кг и ЭМИ₆₅

Из рис. 1 видно, что после 10 сут. эксперимента масса мышей во всех опытных группах практически не изменялась по сравнению с контролем, исключение составили животные, которым вводили раствор ацетата свин-

ца, что свидетельствует о токсичном воздействии свинца. Длительность плавания животных контрольной группы осталась на первоначальном уровне. У животных группы «Pb» продолжительность плавания снизилась в среднем на 7% относительно контрольной группы, а в группе «Pb+ЭМИ» превысила контрольные значения на 6%. Вероятно, это связано с воздействием ММ-излучения, что подтверждается достоверным увеличением на 47% времени плавания животных группы «ЭМИ».

В следующем опыте доза вводимого токсиканта составляла 1,2 мг/кг. Исследовались также эффекты сочетанного действия ЭМИ₆₅ и ионов свинца в зависимости от очередности их воздействия. Эксперимент проводился в течение 10 сут. аналогично вышеописанному. Результаты эксперимента представлены на рис. 2.

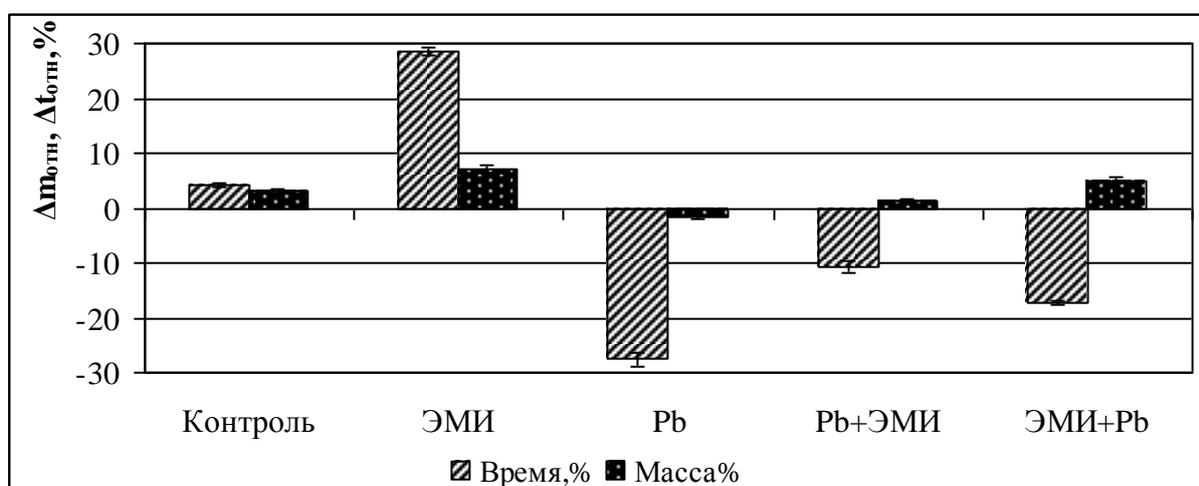


Рис. 2. Относительные значения изменения времени плавания и массы мышей при 10- дневном изолированном и сочетанном воздействии ацетата свинца в дозе 1,2 мг/кг и ЭМИ₆₅

Из рис. 2 видно, что имеет место уменьшение массы и длительности плавания мышей, подвергаемых воздействию ацетата свинца, что свидетельствует о негативном влиянии токсиканта. При изолированном воздействии ЭМИ длительность плавания животных увеличивается на 29%, что указывает на стимулирующее выносливость животных действие ЭМИ. При сочетанном действии обоих факторов наибольший корригирующий эффект ММ-излучения обнаружен при его воздействии после введения токсиканта. Поэтому данную очередность воздействия использовали в последующих экспериментах.

В следующем опыте доза токсиканта была увеличена в два раза и составила 2,4 мг/кг. Исследования проводили в течение 5 сут. по аналогичной схеме. Кроме того, для изучения кумулятивного действия свинца в эксперимент были добавлены две группы «Pb*» и «Pb+ЭМИ*», животным которых предварительно в течение 10 сут. вводили ацетат свинца в дозе 0,24 мг/кг.

В группах «Pb» и «Pb+ЭМИ» время плавания животных уменьшилось относительно контроля на 38 и 27%, а в группах «Pb*» и «Pb+ЭМИ*» - на 45 и 33%, соответственно. Наибольшее снижение массы мышей (на 7%) наблюдали в группе «Pb*». Полученные данные свидетельствуют о материальной кумуляции свинца в организме, что приводит к увеличению его токсического воздействия.

По результатам описанной серии экспериментов было отмечено, что масса животных уменьшается только при длительном накоплении свинца в организме, а длительность плавания мышей зависит от вводимой дозы токсиканта. Графики зависимостей «доза-эффект» при изолированном и сочетанном действии изучаемых факторов представлены на рис. 3.

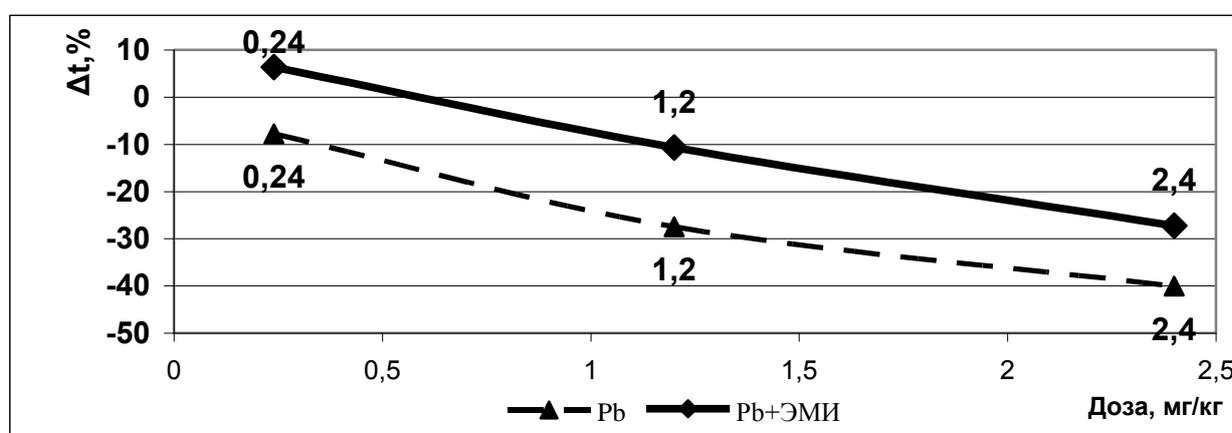


Рис. 3. Зависимость относительных значений изменения времени плавания мышей (в %) от дозы вводимого ацетата свинца в хроническом эксперименте

В диапазоне доз ацетата свинца 0,24-2,4 мг/кг отмечен линейный характер снижения выносливости животных при увеличении дозы вводимого вещества. При сочетанном действии токсиканта и ЭМИ₆₅ эффект воздействия ацетата свинца на животных уменьшается в среднем на 15%, независимо от его дозы.

Далее были проведены аналогичные исследования на неинbredных крысах. В них использовали тест «принудительного плавания с грузом», который является более объективным, поскольку в нем нивелируются индивидуальные способности животных. Кроме того, увеличение физической нагрузки на животных можно рассматривать в качестве выраженного стрессирующего воздействия.

Использовали все 4 группы животных. В течение 15 дней животным вводили раствор ацетата свинца в дозе 2,4 мг/кг и определяли их массу. Тест плавания проводили в первый день – до введения вещества, на 7-й день эксперимента и через сутки после последнего воздействия.

Результаты экспериментов показали, что введение животным ацетата свинца приводит к уменьшению их массы на 7%, что объясняется токсичным воздействием свинца на организм. При изолированном действии

ЭМИ₆₅ масса крыс практически не менялась по сравнению с контрольной группой.

Относительные значения изменения длительности плавания представлены на рис. 4, из которого видно, что при изолированном воздействии ионов свинца время плавания животных уменьшается в среднем на 28%.

Быстрое утомление животных данной группы свидетельствует о проявлении интоксикации свинцом. При сочетанном действии ЭМИ₆₅ и токсиканта длительность плавания животных снижается только на 18%, что подтверждает корригирующей эффект ЭМИ₆₅, обнаруженный на мышах. При изолированном воздействии ЭМИ₆₅ наблюдается увеличение времени плавания крыс по сравнению с первоначальными показателями на 20%. Уменьшение длительности плавания животных группы «Контроль» может быть обусловлено эмоциональным стрессом, вызванным увеличением физической нагрузки при плавании, что корригируется воздействием ЭМИ₆₅ (группа «ЭМИ»).

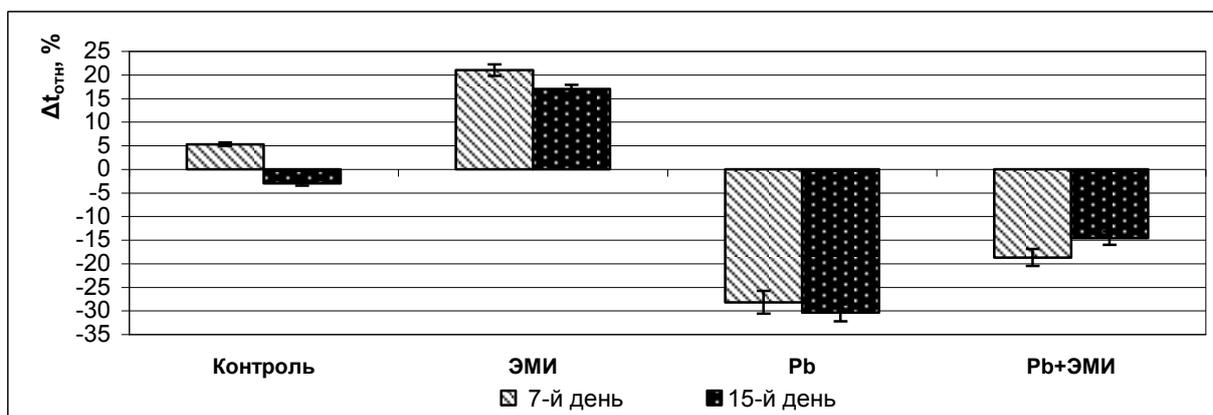


Рис. 4. Относительные значения изменения времени плавания крыс при 15- дневном изолированном и сочетанном воздействии ацетата свинца в дозе 2,4 мг/кг и ЭМИ₆₅

Исследование изолированного и сочетанного с ЭМИ₆₅ действия ацетата свинца в дозе 24 мг/кг проводили по аналогичной схеме в течение 10 дней. Отмечено увеличение массы животных в группах «Контроль» (6%) и «ЭМИ» (5%). При изолированном воздействии свинца происходит снижение массы крыс на 9%, т.е. масса животных уменьшается не только при длительном накоплении токсиканта в организме, но и при увеличении вводимой дозы.

В тесте плавания установлено снижение на 10-е сутки эксперимента активности животных, подвергшихся изолированному и сочетанному с ЭМИ воздействию свинца, соответственно на 33 и 31%, что свидетельствует о проявлении интоксикации свинцом. Достоверного отличия во времени плавания и в изменении массы животных этих групп не обнаружено. Возможно, при увеличении дозы токсиканта модифицирующее действие ЭМИ₆₅ становится менее заметно. Отмечено также стимулирующее

действие ЭМИ₆₅ на крыс, получавших дистиллированную воду: их выносливость увеличилась на 28%.

Таким образом, в серии экспериментов на животных двух видов получены аналогичные достоверные отличия и выявлены одинаковые закономерности. Во-первых, установлено, что действие ЭМИ₆₅ на здоровых животных приводит к увеличению их выносливости в среднем на 20%. Во-вторых, воздействие ЭМИ₆₅ увеличивает (на 10-15%) выносливость животных, находящихся в условиях хронической интоксикации ацетатом свинца в нелетальных дозах 0,24-2,4 мг/кг.

Обнаруженное снижение физической выносливости лабораторных животных при введении ацетата свинца характерно для начальной стадии интоксикации свинцом и может быть проявлением как оксидативного стресса, так и нарушения деятельности ЦНС. Повышение выносливости животных под действием ЭМИ₆₅, вероятно, связано с активизацией каких-либо процессов метаболизма, либо с улучшением психоэмоционального состояния животного.

Для выяснения механизма сочетанного действия ацетата свинца и ЭМИ₆₅ на организм, нами исследовались биохимические показатели крови и поведенческие реакции животных.

3.2. Влияние ацетата свинца и ЭМИ 65 ГГц на биохимические показатели крови

Для выявления функциональных изменений физиологического состояния животных, подвергнутых воздействию ацетата свинца и ЭМИ₆₅, использовали стандартные биохимические показатели крови. Оценку обмена веществ проводили по содержанию в сыворотке крови глюкозы, общего белка, мочевины и триглицеридов. Характер протекания химических реакций в организме определяли по изменению активности ферментов АСТ, АЛТ, ЛДГ, КК. В качестве показателя возникновения окислительного стресса использовали содержание МДА в эритроцитах крови.

Результаты биохимических исследований (определения ферментов и общего белка) крови мышей, задействованных в тесте «принудительное плавание» при введении ацетата свинца в дозе 1,2 мг/л, представлены в табл. 3.

Отмечено, что у животных, получавших раствор ацетата свинца, уменьшается (на 10%) содержание общего белка, что свидетельствует о нарушении белкового обмена и превалировании катаболических процессов над анаболическими. Обнаружено повышение активности АСТ и коэффициента Де Ритиса в 2 раза относительно группы «Контроль», что подтверждает преобладание катаболических реакций (Рослый и др., 2005). Значительное увеличение активности ЛДГ (в 3 раза) и КК в 4 раза свидетель-

ствует об активации катаболизма и реализации энергетического потенциала организма.

Таблица 3

Биохимические показатели крови мышей при изолированном и сочетанном воздействии ацетата свинца в дозе 1,2 мг/кг и ЭМИ₆₅

Группа	Показатель					
	АСТ, Е/л	АЛТ, Е/л	Коэф-т Де Ритиса	КК, Е/л	ЛДГ, Е/л	Общий белок, г/л
«Контроль»	154,1±27,2	65,2±5,4	2,4±0,2	978,1±45,7	199,6±16,3	49,8±0,9
«ЭМИ»	193,4±30,1	80,2±5,7 ^Δ	2,4±0,5	1125,8±56,1	264,2±21,6 ^Δ	48,2±1,2
«Pb»	356,5±13,4 ^Δ	74,2±2,3 ^Δ	4,8±0,4 ^Δ	3027,2±46,2 ^Δ	592,5±24,2 ^Δ	45,1±0,2 ^Δ
«Pb+ЭМИ»	239,6±19,6 ^{*Δ}	69,2±7,8	3,5±0,2 ^{*Δ}	1615,3±56,8 ^{*Δ}	555,0±23,3 ^Δ	47,6±0,1 ^{*Δ}
«ЭМИ+Pb»	252,9±25,7 ^{*Δ}	81,1±6,2 ^Δ	3,2±0,1 ^{*Δ}	1817,6±62,2 ^{*Δ}	572,7±18,3 ^Δ	46,5±0,6 [*]

Примечание * - $p < 0,05$ относительно значений группы «Pb», ^Δ - $p < 0,05$ относительно значений группы «Контроль»

Изолированное воздействие ЭМИ₆₅ приводит к незначительному увеличению активности АЛТ (на 23%) и ЛДГ (на 32%). Известно, что АЛТ отвечает за анаболическое звено и влияет на уровень глюкозы и белка в плазме крови, и его синтез усиливается в условиях стресса. Поэтому можно предположить, что ЭМИ оказывает антистрессовое действие и стимулирует анаболические процессы. Увеличение активности ЛДГ может быть связано с мышечной усталостью животных в тесте «принудительное плавание» за счет увеличения длительности их плавания на 25 %.

У животных, подвергавшихся воздействию свинца в сочетании с ЭМИ₆₅, отмечена нормализация биохимических параметров крови по сравнению с животными группы «Pb».

Таблица 4

Биохимические показатели крови крыс при изолированном и сочетанном воздействии ацетата свинца в дозе 2,4 мг/кг и ЭМИ₆₅

Группа животных	АСТ, Е/л	АЛТ, Е/л	ЛДГ, Е/л	КК, Е/л	Общий белок, г/л	Триглице- риды, г/л	Глюкоза, г/л	Мочевина, г/л
«Контроль»	184,2 ±4,6	69,3 ±2,8	2579,2 ±116,1	2229,8 ±62,4	79,5 ±1,4	0,64 ±0,04	5,9 ±0,3	4,6 ±0,4
«ЭМИ»	196,9 ±7,1	75,1 ±5,0	3061,2 ±140,4 ^Δ	2113,4 ±54,7	78,7 ±1,8	0,67 ±0,07	5,6 ±0,4	4,7 ±0,2
«Pb»	341,0 ±6,4 ^Δ	81,2 ±2,0 ^Δ	5053,0 ±101,5 ^Δ	4866,7 ±59,7 ^Δ	74,3 ±2,1 ^Δ	0,40 ±0,03 ^Δ	4,9 ±0,2 ^Δ	2,8 ±0,3 ^Δ
«Pb+ЭМИ»	264,3 ±4,3 ^{*Δ}	78,7 ±4,7	4173,3 ±111,6 ^{*Δ}	3578,1 ±75,3 ^{*Δ}	77,4 ±1,6	0,72 ±0,05 [*]	5,6 ±0,1	5,4 ±0,4 [*]

Примечание * - $p < 0,05$ относительно значений группы «Pb», ^Δ - $p < 0,05$ относительно значений группы «Контроль»

В табл. 4 приведены результаты биохимических исследований (с определением всех вышеназванных параметров) крови крыс, использованных в тесте «принудительное плавание с грузом» при введении ацетата свинца в дозе 2,4 мг/л. Из нее видно, что у всех крыс под воздействием ацетата свинца увеличивается активность ферментов АСТ, ЛДГ и КК и в наибольшей степени уменьшается уровень метаболитов. Воздействие ЭМИ₆₅ на животных в состоянии свинцовой интоксикации способствует нормализации метаболических процессов, что подтверждает адаптационный эффект ЭМИ. Изолированное воздействие ЭМИ₆₅ к существенным изменениям биохимических показателей крови не приводит, за исключением незначительного увеличения активности ЛДГ.

Исследован уровень МДА в эритроцитах крови животных. Для выяснения влияния физической нагрузки на окислительные процессы содержание МДА определяли в крови интактных крыс (табл. 5).

Таблица 5

Содержание МДА в эритроцитах крови крыс при изолированном и сочетанном воздействии ацетата свинца в дозе 2,4 мг/кг и ЭМИ₆₅

Группа животных	МДА, мкмоль/л
«Интактные животные»	14,2±0,5
«Контроль»	17,8±0,7*
ЭМИ»	18,5±0,9*
«Pb»	19,1±0,6*
«Pb+ЭМИ	18,9±0,9*

Примечание * - $p < 0,05$ относительно значений группы «Интактные животные»

Наблюдали повышение уровня МДА у животных опытных групп по сравнению с интактными крысами, что свидетельствует об активации окислительных процессов при физической нагрузке. Достоверных отличий МДА у животных опытных групп нет. Следовательно, можно утверждать, что выбранные дозы токсиканта являются недостаточными для нарушения антиоксидантной защиты эритроцитов крыс. Способность ЭМИ₆₅ вызывать окислительный стресс в организме животных не обнаружена.

Таким образом, на белых мышах и белых крысах установлено, что у животных, подвергавшихся изолированному действию свинца, активируется катаболический характер обмена веществ, а низкоинтенсивное ЭМИ с частотой 65 ГГц при ежедневном их облучении способно нормализовать метаболические процессы.

3.3. Воздействие ацетата свинца и ЭМИ 65 ГГц на психоэмоциональный статус и ориентировочно-исследовательскую активность лабораторных животных

Исследования проводили на неинбредных белых крысах с помощью тестов «открытое поле» и «крестообразный приподнятый лабиринт».

Первоначально изучалось действие ацетата свинца в дозе 2,4 мг/кг при изолированном введении и в сочетании с ЭМИ₆₅ на изменение показателей поведенческой активности животных. Раствор токсиканта вводили ежедневно, в течение 15 дней; тестирование проводилось через сутки после заключительного воздействия. С помощью теста «ОП» определяли функциональные изменения ЦНС, оценивали ориентировочно-двигательную активность и эмоциональную тревожность животных. Результаты тестирования представлены в табл. 6.

Таблица 6

Показатели поведенческой активности крыс в тесте «ОП» при изолированном и сочетанном воздействии ацетата свинца в дозе 2,4 мг/кг и ЭМИ₆₅

Группы животных	Параметры действия животных, ед.			
	Горизонтальная активность	Вертикальная активность	Груминг	Дефекация
«Контроль»	29,1±1,9	9,0±0,4	3,9±0,3	1,2±0,3
«ЭМИ»	33,5±1,5 ^Δ	10,2±0,9 ^Δ	4,2±0,3 ^Δ	1,1±0,2
«Pb»	15,9±1,8 ^Δ	4,7±0,5 ^Δ	1,7±0,2 ^Δ	1,3±0,3
«Pb+ЭМИ»	20,0±2,1* ^Δ	5,6±0,6* ^Δ	2,4±0,3* ^Δ	0,9±0,2

Примечание * - $p < 0,05$ относительно значений группы «Pb», ^Δ $p < 0,05$ относительно значений группы «Контроль»

Из табл. 6 видно, что у животных, которые подвергались воздействию ионов свинца, снижается двигательная активность (горизонтальная и вертикальная) и уменьшается количество актов груминга. То есть свинец подавляет ориентировочно-двигательную активность и увеличивает уровень тревожности животных.

Облучение ЭМИ₆₅ способствует восстановлению поведенческих показателей у животных, подвергаемых воздействию свинца. Это проявляется в достоверном увеличении их двигательной активности (на 12%), количества актов груминга (на 18%), что указывает на снижение чувства тревоги и повышение чувства комфорта животных. Изолированное воздействие повышает активность крыс (на 14%), не приводя к росту тревожности.

Далее исследовали поведенческие реакции крыс в тесте «КПЛ». Результаты представлены в табл. 7, из которой видно, что у животных, подвергаемых воздействию ионов свинца, снижаются показатели ориентировочно-исследовательской активности и увеличиваются показатели тревожности относительно контрольной группы.

У животных группы «Pb+ЭМИ» обнаружено достоверное уменьшение времени пребывания в закрытых рукавах, увеличение времени нахождения в открытых и количества выглядываний относительно крыс группы «Pb». То есть ЭМИ₆₅ улучшает эмоциональный статус животных, снижает уровень тревожно-фобического состояния. При изолированном воздействии ЭМИ₆₅ наблюдается аналогичная тенденция.

Таблица 7

Показатели поведенческой активности крыс в тесте «КПЛ» при изолированном и сочетанном воздействии ацетата свинца в дозе 2,4 мг/кг и ЭМИ₆₅

Показатели активности	Группы			
	«Контроль»	«ЭМИ»	«Pb»	«Pb+ЭМИ»
Время в закрытом рукаве, с	235,2±9,7	211,3±8,0 ^Δ	282,4±7,6 ^Δ	254,7±6,2* ^Δ
Время в центре, с	1,9±0,3	2,1±0,4 ^Δ	2,9±0,1 ^Δ	2,5±0,2* ^Δ
Время в открытом рукаве, с	64,8±9,7	88,7±8,0 ^Δ	17,6±7,6 ^Δ	46,7±8,2* ^Δ
Заходы в закрытый рукав, шт.	4,8±0,5	3,0±0,4 ^Δ	3,6±0,6 ^Δ	2,2±0,5* ^Δ
Заходы в центр, шт.	4,7±0,4	3,8±0,3 ^Δ	3,0±0,5 ^Δ	2,8±0,7 ^Δ
Заходы в открытый рукав, шт.	3,7±0,7	2,9±0,3	2,4±0,5 ^Δ	2,8±0,6
Выглядывания, шт.	9,1±0,5	10,4±0,9 ^Δ	3,5±0,9 ^Δ	6,5±0,7* ^Δ
Заглядывания, шт.	3,7±0,4	2,6±0,7	0,4±0,2 ^Δ	1,3±0,5* ^Δ
Вертикаль, шт.	1,3±0,4	1,4±0,2	0,4±0,3 ^Δ	0,6±0,3 ^Δ

Примечание * - $p < 0,05$ относительно значений группы «Pb», ^Δ - $p < 0,05$ относительно значений группы «Контроль»

В следующем опыте доза токсиканта была увеличена до 24 мг/кг. Эксперимент проводили в течение десяти суток аналогично вышеописанному. Результаты тестирования в «ОП» показали, что животные группы «Pb» ведут себя менее активно, чем животные из других групп, что свидетельствует о проявлении интоксикации свинцом. Облучение животных ЭМИ₆₅ нормализует их эмоциональный статус, не вызывая достоверных изменений двигательной активности.

В тесте «КПЛ» выявлены существенные изменения в поведении животных, подвергаемых сочетанному воздействию ЭМИ₆₅ и ионов свинца по сравнению с изолированным воздействием токсиканта, т.е. результаты предыдущего эксперимента подтверждены.

Таким образом, установлено, что низкоинтенсивное ЭМИ с частотой 65 ГГц снижает тревожность и повышает ориентировочно-двигательную активность и уровень комфорта животных. Это подтверждает наличие у ММ-излучения адаптогенного, антистрессового действия.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, установлено, что низкоинтенсивное ЭМИ с частотой 65 ГГц приводит к компенсации эффектов воздействия ацетата свинца в исследуемых дозах. Воздействие ЭМИ способствует адаптации организма к действию токсиканта, что проявляется в повышении общей физической выносливости, двигательной активности животных, снижении тревожности и активизации анаболических процессов в их организме. Эффекты воздействия ММ-волн на здоровых животных проявляются в основном в увеличении их выносливости и улучшении психоэмоционального состояния. Результаты исследований могут быть использованы при разработке техно-

логий повышения адаптационных способностей организма к воздействию соединений свинца и коррекции эффектов его воздействия.

ВЫВОДЫ

1. При хроническом воздействии ацетата свинца на неинбредных мышей и крыс в дозах 0,24-24,0 мг/кг обнаружено уменьшение массы животных, снижение их физической выносливости на 10-40%, ухудшение ориентировочно-двигательной активности и увеличение тревожности. Эффект воздействия ионов свинца на выносливость животных прямо пропорционально зависит от дозы вводимого токсиканта.

2. Воздействие ЭМИ 65 ГГц (ППЭ 120 мкВт/см²) ежедневно в течение 30 мин на лабораторных животных в условиях хронической свинцовой интоксикации увеличивает их выносливость на 15%, снижает тревожность и повышает уровень комфорта.

3. Изолированное воздействие ЭМИ 65 ГГц увеличивает общую физическую выносливость (на 30%), ориентировочно-двигательную активность (на 15%) лабораторных животных и улучшает их психоэмоциональный статус, оказывая антистрессовое действие.

4. При хроническом воздействии ацетата свинца на лабораторных животных в их организме происходит активизация катаболических процессов, сопровождающаяся увеличением активности ферментов АСТ, ЛДГ и КК и снижением уровня общего белка, глюкозы, мочевины, триглицеридов. Воздействие ЭМИ 65 ГГц нормализует метаболические процессы в организме животных.

5. Изолированное и сочетанное воздействия ацетата свинца в дозах 0,24-2,4 мг/кг и ММ-излучения не приводят к изменению содержания малонового диальдегида в эритроцитах крови, что свидетельствует об отсутствии оксидативного стресса в организме.

6. Применение ЭМИ 65 ГГц (ППЭ 120 мкВт/см²) повышает адаптационные способности организма животных к воздействию соединений свинца в нелетальных дозах.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

*– публикации в печатных изданиях, рекомендованных Перечнем ВАК РФ

1. Артамонова (Карагайчева) Ю.В., Рогачева С.М., Бабаева М.И., Баулин С.И., Сомов А.Ю. Сочетанное воздействие КВЧ ЭМИ и ацетата свинца на организм // Сб. науч. тр.: Материалы 4-й Всерос. науч.-практ. конф. «Экологические проблемы промышленных городов». – Саратов, 2009. Ч. 2. – С.15–16.

2. * Рогачева С.М., Артамонова (Карагайчева) Ю.В., Баулин С.И., Сомов А.Ю. Модификация эффектов воздействия химических веществ на организм с помощью электромагнитного излучения // Вестник новых медицинских технологий. - 2009. - Т. XVI, №1. – С. 239-240.

3. Рогачева С. М., Забродина З. А., Гладких С. А., Артамонова (Карагайчева) Ю. В., Кузнецов П.Е. Физические модели для изучения механизма действия «сверхмалых доз // Тез. докл. IV Междунар. конгресса «Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине». - Санкт-Петербург, 2009. - С. 117.
4. Рогачева С.М., Гладких С.А., Артамонова (Карагайчева) Ю.В. Моделирование эффектов комбинированного действия электромагнитного излучения низкой эффективности и биологически активных веществ на биосистемы // Тез. докл. VII Междунар. Крымской конф. «Космос и биосфера». - Киев, 2009. - С. 173-174.
5. Артамонова (Карагайчева) Ю.В., Рогачева С.М., Бабаева М.И., Баулин С.И. Эффекты воздействия электромагнитного излучения низкой интенсивности в сочетании с ионами свинца на животных // Сб. материалов VII Всерос. науч.-практ. конф. «Проблемы региональной экологии в условиях устойчивого развития». – Киров, 2009. Ч.1. - С. 59-62.
6. Артамонова (Карагайчева) Ю. В., Рогачева С.М., Бабаева М.И., Баулин С.И., Чуян Е.Н., Джелдубаева Э.Р. Сочетанное воздействие электромагнитного излучения низкой интенсивности и ионов свинца на животных // Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского. Серия «Биология, химия».- 2009. – Т. 22 (61), № 4. – С. 9-17.
7. Карагайчева Ю.В., Рогачева С.М., Баулин С.И. Сочетанное воздействие миллиметрового излучения и ионов свинца на биохимические показатели крови // Сб. науч. тр. Междунар. науч.-практ. симпозиума «Новые технологии в медицине и экспериментальной биологии». – Вьетнам, 2010. - С. 28-29.
8. Карагайчева Ю.В., Рогачева С.М., Баулин С.И. Изменение биохимических показателей крови под действием ионов свинца в сочетании с ЭМИ КВЧ // Сб. науч. тр. 14-й Междунар. Пущинской школы-конф. молодых ученых «Биология – наука XXI века». - Пущино, 2010. - С. 44-45.
9. * Карагайчева Ю.В., Рогачева С.М., Баулин С.И. Биохимические исследования крови животных, подвергнутых комбинированному воздействию ацетата свинца и ЭМИ 65 ГГц// Известия Самарского научного центра Российской академии наук. -2010. - Т. 12 (33), № 1 (8). - С. 1973-1975.
10. Афанасьева С.В., Карагайчева Ю.В., Рогачева С.М. Воздействие низкоинтенсивного КВЧ-излучения на активность ферментов крови животных в состоянии химического стресса // Материалы IV Всерос. с междунар. участием конгресса студентов и аспирантов-биологов «Симбиоз-Россия 2011». – Воронеж, 2011. - Т. 2. - С. 97-99.
11. Карагайчева Ю.В., Рогачева С.М., Баулин С.И., Афанасьева С.В. Влияние ЭМИ 65 ГГц на организм в состоянии интоксикации солями кадмия // Сб. науч. тр.: Материалы Первой Всерос. науч.-практ. конф. «Техногенная и природная безопасность». – Саратов, 2011. - С. 12-15.
12. Рогачева С.М., Карагайчева Ю.В., Крайнова Ю.С. Оценка эффектов воздействия ионов свинца в сочетании с ЭМИ КВЧ на центральную нервную систему лабораторных животных // Сб. науч. тр. IX Междунар. Крымской конф. «Космос и биосфера». - Крым, 2011. - С. 186-188.
13. * Карагайчева Ю.В., Рогачева С.М., Баулин С.И., Крайнова Ю.С. Модифицирующее действие миллиметрового излучения на центральную нервную систему животных при хронической интоксикации свинцом // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. - 2011. - Т. 13 (39), № 1 (7). - С. 1702-1705.