

НЕИОНИЗИРУЮЩИЕ ИЗЛУЧЕНИЯ

УДК 537.86:599.323.459.084:591.18

ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ПОЛЯ РАДИОЧАСТОТНОГО ДИАПАЗОНА МАЛОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ НА ОРИЕНТИРОВОЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКУЮ АКТИВНОСТЬ КРЫС

© 2019 г. Н. Б. Рубцова^{1,*}, С. Ю. Перов¹, О. В. Белая¹, А. Н. Гребенюк²

¹ Научно-исследовательский институт медицины труда им. акад. Н.Ф. Измерова, Москва, Россия

² Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

* E-mail: rubtsovanb@yandex.ru

Поступила в редакцию 25.06.2018 г.

Представлены данные экспериментального изучения влияния подострых воздействий низкоинтенсивного электромагнитного поля частотой 2.4 ГГц на свободное поведение крыс. Выявлено изменение ориентировочно-исследовательской активности животных после 5-го дня облучения электромагнитного поля при плотности потока энергии 13 Вт/м² и величине удельной поглощенной мощности 0.22 Вт/кг. Полученные сдвиги в функциональном состоянии центральной нервной системы проявляются в нарастании суммарной ориентировочно-исследовательской активности и могут быть связаны со снижением функциональных возможностей когнитивных процессов и долговременной памяти животных.

Ключевые слова: электромагнитное поле, низкая интенсивность, численная дозиметрия, удельная поглощенная мощность, ориентировочно-исследовательская активность

DOI: 10.1134/S0869803119010090

Широкое распространение различных видов и источников электромагнитных полей (ЭМП) во всех сферах человеческой деятельности привело к тому, что по своей гигиенической и экологической значимости электромагнитный фактор стал занимать одно из ведущих мест среди других факторов окружающей среды. Исследования эффектов влияния ЭМП в диапазоне частот от 10 МГц до 300 ГГц низких интенсивностей на состояние здоровья человека были начаты более тридцати лет назад [1]. Многие из них послужили обоснованием для разработанных впоследствии гигиенических регламентов. Однако дальнейшие исследования показывают, что существующие в большинстве стран стандарты безопасности ЭМП не обеспечивают в полном объеме защиту человека от неблагоприятного влияния фактора и требуют соответствующей корректировки [2].

Одним из важных аспектов совершенствования гигиенического нормирования ЭМП является проведение экспериментальных исследований, позволяющих определить интенсивностно-временные зависимости биологического действия фактора и определять вероятность его неблагоприятного влияния. Существующие результаты экспериментальных и клинико-гигиениче-

ских исследований однозначно свидетельствуют о преимущественном влиянии ЭМП на нервную систему человека и животных [3]. Использование в подобных исследованиях интегральной оценки изменений основных характеристик состояния организма животных позволяет с высокой степенью достоверности определять порог чувствительности или порог вредного действия ведущих систем организма. При этом одной из ключевых характеристик является изменение функционального состояния центральной нервной системы (ЦНС), в частности, общеповеденческие показатели [4, 5], обладающие достаточно высокой чувствительностью к воздействию ЭМП низких интенсивностей. При этом исследование свободного поведения животных для этих целей представляется оптимальным [6, 7]. Сочетанное применение тестов “открытое поле” и “норковый рефлекс” позволяет количественно оценить состояние общей (локомоторной) и исследовательской активности, эмоциональные и когнитивные составляющие поведения животных в условиях действия ЭМП низкой интенсивности.

Исходя из вышеизложенного, настоящее исследование было направлено на количественную оценку влияния ЭМП радиочастотного диапазо-

на малой интенсивности на свободное поведение экспериментальных животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Эксперименты проводили на самцах беспородных белых крыс массой 272 ± 5 г, которые после предварительного отбора были случайным образом распределены на опытную и контрольную группы по 12 крыс в каждой. Животные обеих групп содержались в стандартных условиях вивария при постоянной температуре и влажности с предоставлением свободного доступа к корму и питьевой воде в условиях светового режима: 12 ч света и 12 ч темноты. Все исследования на лабораторных животных проводили в соответствии этическими принципами и нормативами, содержащимися в ГОСТ 33215-2014 [8].

Животные опытной группы подвергались облучению ЭМП частотой 2.4 ГГц в немодулированном режиме при плотности потока энергии (ППЭ) 13 Вт/м^2 по 4 ч в день ежедневно на протяжении 5 сут. Параллельно животные контрольной группы подвергались мнимому облучению, которое проводили в идентичном режиме, но без присутствия ЭМП. Крысы обеих групп размещались в индивидуальных радиопрозрачных ячеек-контейнерах. Экспозиция крыс опытной группы проводилась при к-ориентации (головой животного к источнику) относительно векторов ЭМП.

В экспериментах использовали разработанный авторами экспериментальный стенд, который включал в себя: генератор Agilent 8648C (“Agilent Technologies”, США), усилитель Mini-Circuits ZHL-42W (“Mini-Circuits”, США), источник питания GPR-6060D (“GW Instek”, КНР), направленные ответвители Agilent 788D-011 (“Agilent Technologies”, США), двухканальный измеритель мощности Agilent E4419B (“Agilent Technologies”, США) и кабельные сборки HUBER+SUNNER (“HUBER+SUNNER”, Швейцария). Облучение животных осуществляли с помощью рупорной антенны П6-23А (“БелВАР”, Беларусь). Определение и контроль уровней ЭМП в области размещения животных проводили с помощью измерителя Narda NBM-550 (“Narda Safety Test Solutions GmbH”, Германия) с использованием широкополосного изотропного измерительного зонда EF0391.

Количественная оценка величины удельной поглощенной мощности (УПМ) электромагнитной энергии экспериментальными животными осуществлялась путем теоретической дозиметрии с применением метода конечных разностей во временной области и программного продукта SEMCAD X v.14.8 (“SPEAG AG”, Швейцария). В расчетах использовались численные гетероген-

ные модели лабораторных крыс-самцов, разработанные Фондом по исследованию информационных технологий в обществе при Федеральном политехническом институте Цюриха (“IT’IS Foundation”, Швейцария) [9]. Все физические характеристики тканей численных фантомов животных задавали для частоты 2.4 ГГц. Разрешение исходной модели составляло 1 мм^3 .

Состояние ориентировочно-исследовательской активности животных опытной и контрольной групп проводили на модифицированной установке “открытое поле”, совмещенной с системой оценки “норкового рефлекса”, представляющей собой круглую арену диаметром 97 см и высотой 42 см, в полу которой равномерно расположены 13 отверстий диаметром 2 см. Видеорегистрацию реакций животных проводили с помощью закрепленной над ареной цифровой видеокамеры и использовании программного обеспечения [11]. Тестирование животных опытной и контрольной групп осуществляли на 1-й и 5-й дни эксперимента. После тестирования каждой крысы арену протирали салфеткой, смоченной перекисью водорода. При тестировании животное помещали в центр арены, после чего в течение 180 с проводили регистрацию двигательных реакций, оцениваемых в балльной системе: 1 балл – обнюхивание; 2 – вертикальная стойка; 3 – груминг (умывание); 4 – неподвижность; 5 – вращение; 6 – заглядывание в отверстия (норки). Дополнительно использовали интегральный показатель ориентировочно-исследовательской активности животного (“энтропия поведения”), который рассчитывали по формуле и оценивали в относительных единицах [11]:

$$\text{Энтропия} = \sum_{i=1}^6 \left(\sum_n \text{показатель}_i \right) \times \text{Вес. коэффициент}_i.$$

Полученные данные проверяли на распределение вероятностей, и в том случае, когда результат соответствовал нормальному распределению, осуществляли статистическую обработку данных с использованием *t*-критерия Стьюдента; в противном случае использовали непараметрический *U*-критерий Манна–Уитни–Вилкоксона. В работе за критический был принят уровень значимости $p < 0.05$. Все расчеты проводили в вычислительной среде табличного процессора Statistica (StatSoft Inc., США).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Величины удельной поглощенной мощности, рассчитанные путем численной дозиметрии, позволили оценить структуру распределения поглощенной электромагнитной энергии в теле экспонированных животных (рис. 1).

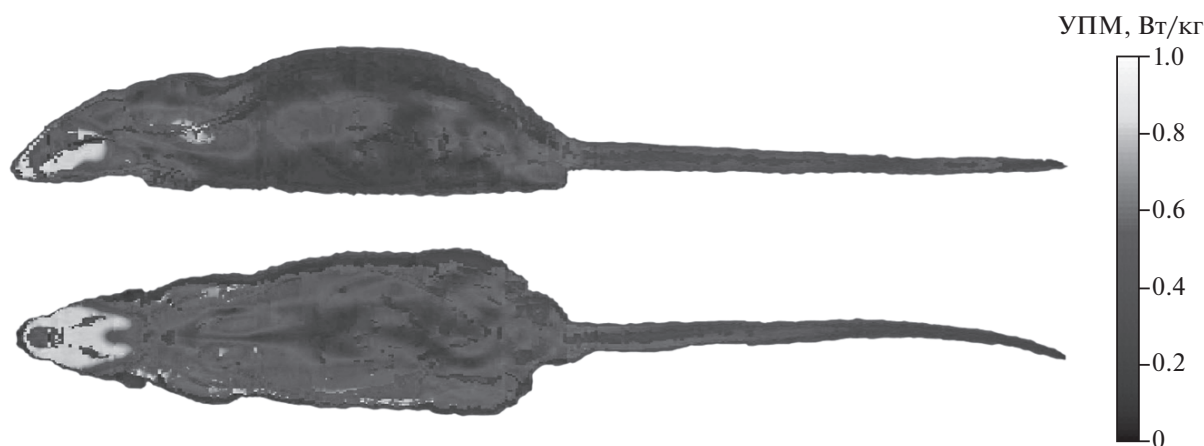


Рис. 1. Структура распределения удельной поглощенной мощности (Вт/кг) в численной модели тела крысы, находящейся в ЭМП частотой 2.4 ГГц при ППЭ 13 Вт/м².

В связи с тем, что при облучении животные размещались головой к источнику ЭМП, наибольшее поглощение энергии отмечается в голове крысы. Средние значения УПМ в отделах головного мозга крыс (табл. 1) были сопоставимы или несколько превышали среднюю величину поглощения энергии ЭМП во всем теле животного, которая составляла $0,221 \pm 0,008$ Вт/кг. Сравнение уровней поглощения ЭМП в различных отделах головного мозга показывает наибольшие величины УПМ в коре больших полушарий, мозжечке и гипофизе крыс.

Анализ свободного поведения крыс показывает, что у животных опытной группы отличия от контроля отмечаются по некоторым параметрам ориентировочно-исследовательской активности после 5-го сеанса облучения (табл. 2). Если после однократного 4-часового воздействия ЭМП практически все параметры ориентировочно-исследовательской активности у крыс опытной и контрольной групп достоверно не отличались (при небольшой тенденции к увеличению числа заглядываний в норки у крыс опытной группы), то после пяти сеансов экспозиции в опытной группе отмечена тенденция к возрастанию значений практически всех показателей (за исключением груминга), при достижении различий в показателе “обнюхивание” порога статистической значимости ($p < 0.05$). Число вертикальных стоек у крыс опытной группы после однократного облучения было незначительно меньше, чем в контроле, но после пяти сеансов воздействия оно практически сравнялось с таковым у контрольных животных.

Тревожные компоненты поведения – замирание (неподвижность) и поиск убежища (вращение и заглядывания в норки) у облученных крыс характеризовались, в отличие от контрольных животных, тенденцией к увеличению и сохранялись на 5-й день.

Статистически значимое возрастание числа обнюхиваний после 5-го сеанса облучения может рассматриваться как свидетельство нарастания процессов возбуждения в ЦНС крыс (или ослабление процессов торможения). Это также позволяет предполагать, что облучение может приводить не только к снижению сбалансированности нервных процессов в ЦНС, но и рассматриваться как фактор ухудшения долговременной памяти у животных, свидетельствуя о неблагоприятном влиянии подострого воздействия ЭМП заданных параметров. Помимо этого, у облученных животных также отмечается тенденция к большему числу актов неподвижности по сравнению с контрольной группой, что может быть обусловлено вызванным воздействием ЭМП стрессорного состояния.

Оценка динамики общего состояния ЦНС и поведения крыс в эксперименте по интегральному показателю “энтропии” поведения показывает, что если после однократного 4-часового облучения общая ориентировочно-исследовательская активность крыс обнаруживала некоторую тенденцию к ее возрастанию, то после пяти сеансов воздействия низкоинтенсивным ЭМП ее отличия от контроля достигали порога статистической значимости (рис. 2).

Таблица 1. Величины удельной поглощенной мощности (Вт/кг) в различных отделах головного мозга численной модели крысы, находящейся в ЭМП частотой 2.4 ГГц при ППЭ 13 Вт/м²

Головной мозг, отделы	УПМ, Вт/кг
Головной мозг (весь)	0.300 ± 0.005
Кора больших полушарий	0.330 ± 0.005
Гипофиз	0.210 ± 0.006
Средний мозг	0.185 ± 0.003
Мозжечок	0.230 ± 0.004

Таблица 2. Ориентировочно-исследовательская активность крыс в тесте “открытое поле” при облучении ЭМП частотой 2.4 ГГц при ППЭ 13 Вт/м² по 4 ч в день на 1-е и 5-е сутки эксперимента

Показатели	Дни эксперимента			
	1-й день		5-й день	
	контроль	опыт	контроль	опыт
Обнюхивание	55.17 ± 7.49	59.25 ± 7.44	53.58 ± 7.29	78.50 ± 3.97*
Вертикальная стойка	4.00 ± 1.18	2.92 ± 0.75	3.25 ± 1.18	4.50 ± 0.82
Груминг	8.42 ± 1.54	8.75 ± 1.88	9.17 ± 1.82	8.50 ± 1.59
Неподвижность	6.08 ± 0.83	8.33 ± 1.34	6.50 ± 0.86	8.67 ± 1.05
Вращение	0.33 ± 0.26	0.58 ± 0.29	0.17 ± 0.11	0.25 ± 0.18
Число заглядываний в норку	1.42 ± 0.50	2.92 ± 0.85	1.83 ± 0.52	2.33 ± 0.51

* Различия с контролем статистически значимы при $p < 0.05$.

Детальное рассмотрение полученных данных показывает, что уровень соотношения процессов торможения и возбуждения как показатель общего функционального состояния ЦНС животных, подвергавшихся мнимому воздействию, в течение 5 дней эксперимента изменялся незначительно (не более 8%). Напротив, тенденция к нарастанию величины энтропии поведения у облученных животных позволяет предполагать возможный дисбаланс процессов возбуждения и торможения в ЦНС (с преобладанием процессов возбуждения или ослаблением торможения). Анализируя результаты эксперимента, необходимо отметить определенную корреляцию между показателями поведения и характером поглощения ЭМП в основных отделах головного мозга крыс (см. рис. 1).

Результаты изучения влияния краткосрочных (по 4 ч в день в течение 5 сут) экспозиций ЭМП частотой 2.4 ГГц с интенсивностью 13 Вт/м² на функциональное состояние ЦНС экспериментальных животных по показателям ориентировочно-исследовательской активности свидетельствуют о том, что указанные параметры воздействия лежат выше порога чувствительности ЦНС

экспериментальных животных, а увеличение продолжительности (и длительности) воздействий может привести как к адапционно-компенсаторным процессам в состоянии ЦНС, так и к последующему срыву адаптации – неблагоприятным изменениям в организме облученных животных. Особо следует обратить внимание на вероятное снижение когнитивных процессов в ЦНС крыс, сопровождающееся нарастанием возбуждения животных и снижением сбалансированности процессов возбуждения и торможения.

Экспериментально обнаруженная направленность изменений в поведении животных в результате воздействия ЭМП частотой 2.4 ГГц заданных интенсивностно-временных параметров может быть связана с развитием стресса, что нашло частичное подтверждение в других исследованиях. Так, облучение крыс ЭМП частотой 2.45 ГГц по 30 мин в день однократно или 10-кратно на протяжении 2 нед при УПМ для всего тела 0.041 Вт/кг и 0.0776 Вт/кг для мозга привело к повышению экспрессии c-Fos белка в гипоталамусе животных [12]. В пользу этого предположения также свидетельствует снижение когнитивной функции у крыс при облучении низкоинтенсивным ЭМП частотой 2450 МГц при величине УПМ 6.672×10^{-4} Вт/кг, что приводило к повышению уровня белков теплового шока 70 в мозге крысы [13]. В основе этих нарушений могут лежать падение активности антиоксидантных систем и повышение уровня перекисного окисления липидов головного мозга крыс, которое отмечалось в результате воздействия ЭМП частотой 2.45 ГГц при ППЭ 7.88 Вт/м², что приводило к снижению памяти и вызвало тревожное поведение животных [14].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экспериментальное исследование по изучению влияния ЭМП радиочастотного диапазона с интенсивностью, на 30% превышающей максимальный предельно допустимый уровень (ПДУ)

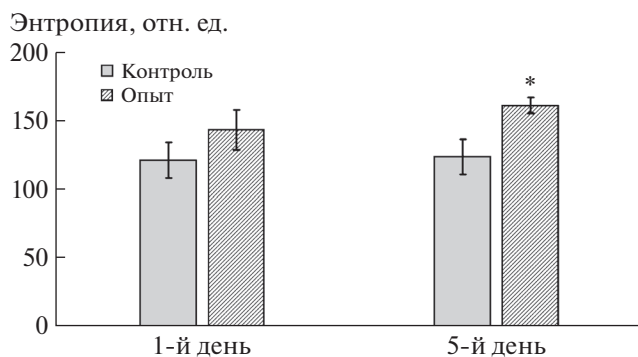


Рис. 2. Изменение энтропии поведения (отн. ед.) крыс опытных групп в результате облучения ЭМП частотой 2.4 ГГц при ППЭ 13 Вт/м² по 4 ч в день на 1-й и 5-й дни экспозиции по сравнению с контрольными. * $p < 0.05$.

производственных воздействий в диапазоне частот 300 МГц–300 ГГц (до 20 мин за рабочую смену), на показатели ориентировочно-исследовательской активности показало, что эти уровни лежат выше порога чувствительности ЦНС даже при условии подострых воздействий. Полученные дозиметрические данные показывают наличие локальных максимумов поглощения в головном мозге животных, достигающие 0.3 Вт/кг при 0.2 Вт/кг для всего тела, что ниже значений нормативных показателей УПМ 0.4 Вт/кг, принятых в ряде зарубежных стран. Выявленные сдвиги в функциональном состоянии ЦНС, проявлявшиеся в нарастании суммарной ориентировочно-исследовательской активности, возможно связанные также и со снижением функциональных возможностей когнитивных процессов и долговременной памяти животных, дают дополнительное обоснование для уточнения стандартов безопасности воздействия ЭМП, что играет важную роль в обеспечении защиты здоровья персонала в условиях производственных воздействий фактора.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Repacholi M.H.* Low-level exposure to radiofrequency electromagnetic fields: health effects and research needs // *Bioelectromagnetics*. 1998. V. 19. № 1. P. 1–19.
2. *Starkey S.J.* Inaccurate official assessment of radiofrequency safety by the Advisory Group on Non-ionising Radiation // *Rev. Environ. Health*. 2016. V. 31. № 4. P. 493–503.
3. *Staabler P.* Human Exposure to Electromagnetic Fields: From Extremely Low Frequency (ELF) to Radiofrequency. John Wiley & Sons, 2017. 424 p.
4. *D'Andrea J.A., Adair E.R., de Lorge J.O.* Behavioral and cognitive effects of microwave exposure // *Bioelectromagnetics*. 2003. Suppl. 6. P. S39–S62.
5. *Павлова Л.Н., Жаворонков Л.П., Дубовик Б.В., Глушакова В.С.* Экспериментальное обоснование возможных механизмов влияния электромагнитных полей (ЭМП) низкой интенсивности на поведение животных // *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2012. Т. 52. № 3. С. 388–393.
6. *Кадукова Е.М., Сташкевич Д.Г., Наумов А.Д.* Влияние ионизирующего и неионизирующего излучений на поведение крыс-самок в тесте “открытое поле” // *Проблемы здоровья и экологии*. 2015. № 2 (44). С. 55–59.
7. *Ганев А.Б., Туртикова О.В., Рубаник А.В., Черемис Н.К.* Влияние ЭМИ КВЧ на поведение животных в условиях открытого поля // *Мат. III Междунар. науч.-тех. конф. “Медэлектроника 2004. Средства медицинской электроники и новые медицинские технологии”*. Минск: БГУИР, 2004. С. 44–47.
8. ГОСТ 33215-2014. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур. М.: СТАНДАРТИНФОРМ, 2016. 12 с.
9. *Hasgall P.A., Di Gennaro F., Baumgartner C. et al.* IT'IS Database for thermal and electromagnetic parameters of biological tissues, Version 3.0, September 01st, 2015. doi: 10.13099/VIP21000-03-0
10. *Лазаренко Н.С., Петров Е.С., Забродин И.Ю., Вартанян Г.А.* Вероятностные характеристики поведения крыс в условиях “открытого поля” // *Журн. высш. нервн. деят.* 1982. Т. 32. № 6. С. 1096–1103.
11. *Белая О.В., Перов С.Ю., Рубцова Н.Б., Клименко В.М., Сизов В.В.* Программа для исследования поведения мелких лабораторных животных: Свидетельство № 2016619940 о государственной регистрации программы для ЭВМ от 01.09.2016.
12. *Jorge-Mora T., Misa-Agustiño M.J., Rodríguez-González J.A. et al.* The effects of single and repeated exposure to 2.45 GHz radiofrequency fields on c-Fos protein expression in the paraventricular nucleus of rat hypothalamus // *Neurochem. Res*. 2011. V. 36. № 12. P. 2322–2332.
13. *Shahin S., Banerjee S., Singh S.P., Chaturvedi C.M.* 2.45 GHz microwave radiation impairs learning and spatial memory via oxidative/nitrosative stress induced p53-dependent/independent hippocampal apoptosis: Molecular basis and underlying mechanism // *Toxicol. Sci*. 2015. V. 148. № 2. P. 380–399.
14. *Varghese R., Majumdar A., Kumar G., Shukla A.* Rats exposed to 2.45 GHz of non-ionizing radiation exhibit behavioral changes with increased brain expression of apoptotic caspase 3 // *Pathophysiology*. 2018. V. 25. № 1. P. 19–30.

Effects of Exposure to Low Intensity Radiofrequency Electromagnetic Field on Exploratory Behavior of Rats

N. B. Rubtsova^{a,#}, S. Yu. Perov^a, O. V. Belaya^a, and A. N. Grebenyuk^b

^a *Izmerov Research Institute of Occupational Health, Moscow, Russia*

^b *Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia*

e-mail: rubtsovanb@yandex.ru

The results of studies on the effects of low intensity radiofrequency electromagnetic fields at 2.4 GHz on the rat free behavior are presented. The rat exploratory behavior activity was decreased 5 days after exposure to the electromagnetic field with a power density of 13 W/m² and a specific absorbed rate (SAR) of 0.22 W/kg. The resulting changes in the functional CNS state are manifested in the total exploratory behavior activity growth and may be associated with a decrease of cognitive processes and long-term memory of animals.

Keywords: electromagnetic field, low intensity, numerical dosimetry, specific absorbed power, approximate research activity