DOI: 10.21870/0131-3878-2019-28-2-134-144

УДК 615.849.19:612.833.81]-092.9

Влияние транскраниального лазерного воздействия на условно-рефлекторную деятельность крыс

Жаворонков Л.П., Колганова О.И., Измestьева О.С., Павлова Л.Н.,
Глушакова В.С., Панфёрова Т.А.

МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Обнинск

В научном мире наблюдается всё возрастающий интерес к использованию инфракрасного лазерного излучения для лечения различных неврологических нарушений. Однако, безопасность транскраниальной лазерной терапии изучена недостаточно. Оптимальные параметры низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) до сих пор дискутируются. Цель данной работы – исследовать возможные ближайшие и отсроченные эффекты однократного или пятикратного транскраниального облучения мозга крыс лазерным излучением (длина волны 890 нм, длительность импульса 100 нс) на условно-рефлекторную деятельность крыс-самцов Вистар. В исследовании были использованы 167 самцов крыс. Применяли два режима излучения: режим 1 – частота посылок импульсов 2500 Гц (выходная мощность прибора 0,7 мВт или 1,5 мВт), режим 2 – частота посылок импульсов 10000 Гц (выходная мощность прибора 1,7 мВт или 5,0 мВт). Оценку когнитивных функций мозга крыс Вистар проводили по тесту выработки условного рефлекса активного избегания (УРАИ) в челночной камере. При пятикратном воздействии по 15 мин в день в режиме 2 при выходной мощности 5 мВт был обнаружен небольшой стимулирующий эффект на когнитивные функции мозга крыс, однако, данный эффект носил транзиторный характер. Через две недели после воздействия показатели подопытной группы не отличались от таковых у контрольной. При остальных вариантах воздействия не обнаружено существенных различий между подопытными крысами и ложно-облучёнными контрольными животными. Полученные данные свидетельствуют об отсутствии выраженного стимулирующего или негативного действия лазерного излучения в изученных режимах на высшую нервную деятельность крыс.

Ключевые слова: крысы Вистар, лазерное излучение, низкая интенсивность, разные частоты излучения, транскраниальное облучение, однократное или пятикратное воздействие, когнитивные функции мозга, условный рефлекс избегания, Шаттл-бокс.

В последние годы всё большее применение в биологии и медицине получает лазерная техника, то есть источники монохроматического когерентного излучения с различной длиной волны. Вместе с тем, многие аспекты биотропных эффектов лазерного излучения изучены явно недостаточно, особенно лазерного излучения низкой интенсивности (НИЛИ). Из научной литературы по радиобиологии неионизирующих излучений известно [1], что при низких интенсивностях воздействия наличие биоэффекта, его выраженность и даже направленность могут варьировать в зависимости от физических параметров излучения, появляются так называемые «частотные и/или энергетические окна» в ответах. В последние годы появились отдельные работы, посвящённые этим аспектам действия НИЛИ.

М.А. Каплан и соавт. [2] показали, что НИЛИ с разными параметрами модуляции могут обладать как стимулирующим, так и тормозящим действием на развитие новорождённых крысят. Sharma et al. [3] обнаружили, что лазерное облучение нейронов в культуре клеток коры головного мозга эмбрионов мышей в диапазоне интенсивностей от 0,03 до 30 Дж/см² приводит к повышению уровня ряда биохимических показателей при низких интенсивностях, затем снижению при средних интенсивностях излучения и вновь росту показателей при высоких интенсив-

Жаворонков Л.П. – зав. лаб., д.м.н.; Колганова О.И.* – с.н.с., к.б.н.; Измestьева О.С. – в.н.с., к.б.н.; Павлова Л.Н. – в.н.с., к.м.н.; Глушакова В.С. – н.с., Панфёрова Т.А. – н.с.

*Контакты: 249036, Калужская обл., Обнинск, ул. Королёва, 4. Тел.: (484) 399-71-38; e-mail: o.kolgan.obn@mail.ru.

ностях воздействия. Hashmi et al. [4] в своём обзоре провели сравнительный анализ действия импульсно-модулированного и непрерывного немодулированного лазерного излучения по многим нейробиологическим индикаторам и сделали заключение, что импульсный режим более эффективен, чем непрерывный.

Сравнительно недавно возник интерес к действию НИЛИ как к возможной неинвазивной терапевтической методике лечения различных когнитивных нарушений в составе комплексной терапии, а также к вероятному механизму положительного влияния НИЛИ [5-8]. Учитывая, что наличие эффекта «окон» требует от исследователей поиска закономерностей биотропного воздействия НИЛИ и тщательного выявления эффективных «лечебных» режимов воздействия, нами была поставлена задача в опытах на лабораторных животных оценить возможность модификации функционального состояния высших отделов центральной нервной системы при помощи локального НИЛИ с разной организацией излучения.

Материалы и методы

Работа выполнена на 167 половозрелых крысах-самцах Вистар, массой 250-300 г, полученных из питомника «Столбовая» РАН. Животных содержали в условиях вивария при естественном освещении и максимальной стандартизации температурного и пищевого режимов со свободным доступом к пище и воде.

В качестве источника излучения использовали терапевтическое лазерное устройство «МИЛА» (Малоярославецкий приборный завод, Россия) на основе малогабаритного полупроводникового лазера ЛПИ-105 (НПО «Рефлектор», Саратов) с длиной волны 890 нм и длиной импульса около 100 нс. Измерение средней выходной мощности излучения проводили при помощи дозиметра ИКТ-1Н (Россия); распределение плотности потока энергии и оценку поглощённой дозы получали экспериментально при помощи специально сконструированного и откалиброванного малогабаритного фотодатчика на P-N переходе, подключённого в диодном режиме к усилителю тока. Выходную мощность источников контролировали в начале и в конце каждого эксперимента.

Воздействию НИЛИ подвергали голову животных (область мозга). До начала опыта участок кожи тщательно депилировали при помощи специального крема. В течение нескольких дней крыс адаптировали к нахождению в индивидуальных контейнерах из оргстекла, обеспечивающих свободный теплообмен, но с жёстким ограничением передвижений животного. При этом голова крысы фиксировалась в конусообразном сужении. Лазерный пучок направляли на область мозга через отверстие на верхней уплощенной поверхности конуса. Лазерное (или ложное) облучение проводили в одно и то же время суток (с 9 до 12 ч).

В специальных дозиметрических экспериментах на наркотизированных крысах установлено, что при облучении области мозга (излучатели располагали на расстоянии не более 1 мм от поверхности кожи) НИЛИ регистрируется под нижней челюстью, а также в области щёк (около ушей). В этих зонах интенсивность излучения уменьшается примерно на 3 порядка. Расчёты, проведённые с учётом этих данных и известных характеристик взаимодействия излучения оптического диапазона с биологическими тканями, позволяют утверждать, что не менее половины падающей мощности в конечном итоге поглощаются тканями головы. При этом область больших полушарий получает около 10% от экспозиционной мощности НИЛИ.

Оценку эффектов НИЛИ на когнитивные функции производили с использованием выработки и воспроизведения условного рефлекса активного избегания (УРАИ) в челночной камере Шаттл-бокс [9]. Комплекс состоял из трёх челночных камер размером 25×33×58 см с управляющим микропроцессорным устройством. Программа обучения крыс состояла из 50 циклов сочетаний условного и безусловного раздражителей при следующей последовательности сигналов: свет + звук – 4 с; болевое электрическое раздражение – с 4 по 12 с; пауза между циклами – 20 с. Латентное время перебежки регистрировали с точностью до 0,1 с.

При анализе выработки и воспроизведения УРАИ использовали ряд показателей, отражающих конечную результативность обучения (интегративные критерии), либо характеризующих скорость обучения (динамические критерии). Программа для расчёта данных показателей составлена Л.П. Жаворонковым, автором пособия по статистике [10].

К интегративным критериям относили: 1) число нанесённых током ударов до регистрации первой реакции избегания (РИ) – лаг-фаза обучения; 2) общее число РИ за сессию; 3) количество перебежек в другой отсек после удара током; 4) число отказов (отсутствие перебежек даже на электрокожное подкрепление); 5) наличие крыс, имеющих серии из пяти и более РИ подряд (критерий оценки состояния консолидации памятного следа); 6) среднее по группе значение латентного периода РИ либо перебежки.

Показатели скорости обучения основаны на оценке параметров кривых линейной регрессии, отражающих нарастание частоты избеганий в процессе обучения. С помощью уравнений линейной регрессии оценивали: 1) динамику количества РИ в процентах к максимально возможному за интервал в десять попыток с шагом в две попытки индивидуально у каждой крысы и в целом по группе; 2) при использовании в качестве функции отношения числа РИ к числу совершённых попыток вычисляли также критерий 50% обученности (ОБ-50) с доверительным интервалом (число попыток до появления 50% РИ в среднем у каждой крысы в группе).

Приведённый выше анализ позволяет оценить влияние воздействующего фактора на выработку УРАИ сразу после облучения, а также (при повторных тестированиях) на степень консолидации (через 1 сут) и сохранения навыка (через 2 нед.).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием ряда методов параметрической (критерий Т-Стьюдента) и непараметрической статистики (медианный критерий, критерий U-Манна-Уитни). Значимость различий считалась достаточной при $p \leq 0,05$.

Поскольку исходная способность к обучению у различных крыс в популяции существенно отличается, за 10-12 сут до начала облучения всех крыс в каждой серии опытов в течение двух дней тестировали на способность к выработке УРАИ по 30 попыткам. Животные в среднем к концу обучения демонстрировали 50-55% правильных ответов (реакций избегания). Мы не стремились достигнуть более высокого исходного уровня обученности, так как у животных с высоким навыком обучения трудно уловить эффект слабых воздействий. Затем формировали экспериментальные группы животных по правилам рандомизации для создания в группах равных стартовых возможностей. Схема эксперимента (состав групп животных и параметры воздействия НИЛИ) приведены в табл. 1.

Таблица 1

Схема эксперимента

№ серии	Группа и количество животных	За 10-12 сут до начала облучения	Дни выработки УРАИ после облучения	Параметры воздействия (частота, длительность, мощность)
1	Контроль (n=14) Опыт (n=14) Опыт (n=14)	В течение 2 дней у крыс вырабатывали УРАИ	Через 30 мин после облучения (1-е сут), 2-е сут, 14-е сут	л/о, 15 мин, однократно, 0 мВт 1 (2500 Гц), 15 мин, однократно, 0,7 мВт 2 (10000 Гц), 15 мин, однократно, 5,0 мВт
2	Контроль (n=33) Опыт (n=14) Опыт (n=17)		Через 30 мин после последнего сеанса облучения, затем через сутки и на 14-е сут	л/о, по 15 мин в день, в течение 5 дней, 0 мВт 1 (2500 Гц), по 15 мин в день, 5 дней, 1,5 мВт 2 (10000 Гц), по 15 мин в день, 5 дней, 1,7 мВт
3	Контроль (n=30) Опыт (n=16) Опыт (n=15)		Через 30 мин после последнего сеанса облучения, затем через сутки и на 14-е сут	л/о, по 15 мин в день, в течение 5 дней, 0 мВт 2 (10000 Гц), по 15 мин в день, 5 дней, 5 мВт 2 (10000 Гц), по 30 мин в день, 5 дней, 5 мВт

Примечание: л/о – ложное облучение.

Следует отметить, что при выработке УРАИ в челночных камерах строго соблюдали постоянство времени суток и чередование животных из разных подопытных групп.

Результаты и обсуждение

Однократное облучение. В первой, предварительной, серии экспериментов попытались оценить действие НИЛИ как при минимальной, так и при максимальной выходной мощности. Для этого использовали однократное 15-минутное облучение в режиме 1 (2500 Гц с выходной мощностью около 0,7 мВт) и в режиме 2 (10000 Гц, 5 мВт). Из анализа результатов, представленных в табл. 2, следует, что однократное воздействие НИЛИ существенно не модифицирует когнитивные функции мозга крыс как при первом, так и при повторных испытаниях.

Таблица 2

Интегральные и динамические показатели обучаемости крыс в челночной камере после однократного лазерного облучения в течение 15 мин в режиме 1 (2500 Гц, 0,7 мВт) или 2 (10000 Гц, 5 мВт)

Сроки исследования	Группы	Лат-фаза	Число УРИ	Число отказов	Регрессия нарастания % УРИ		ОБ-50	Число крыс с сериями УРИ≥5
					коэф. А	коэф. В		
30 мин	К	3,1 ± 1,5	24,2 ± 3,0	2,9 ± 1,4	15,1 ± 3,4	3,0 ± 0,3	51,3 ± 3,7	10/14
	1	6,3 ± 3,0	20,9 ± 3,0	3,8 ± 1,9	10,5 ± 3,3	2,7 ± 0,3	70,4 ± 7,6	10/14
	2	5,4 ± 1,6	21,3 ± 3,5	3,1 ± 1,9	21,3 ± 3,7	2,0 ± 0,3*	61,1 ± 7,5	7/14
24 ч	К	4,4 ± 1,9	31,0 ± 3,8	1,5 ± 0,8	37,9 ± 3,7	2,3 ± 0,3	28,2 ± 3,8	10/14
	1	6,1 ± 3,5	28,8 ± 3,4	1,7 ± 1,2	27,7 ± 3,6*	2,7 ± 0,3	38,0 ± 4,1	12/14
	2	2,6 ± 1,0	25,2 ± 3,7	2,1 ± 1,1	27,0 ± 3,7*	2,2 ± 0,3	47,9 ± 7,1*	9/14
14 сут	К	3,2 ± 2,1	34,8 ± 3,9	1,7 ± 1,0	55,4 ± 3,9	1,4 ± 0,3	6,9 ± 2,4	11/14
	1	2,1 ± 0,7	33,3 ± 2,0	1,4 ± 0,6	50,7 ± 2,8	1,6 ± 0,2	14,7 ± 1,7	14/14
	2	1,4 ± 0,4	34,3 ± 2,5	2,7 ± 1,1	39,5 ± 3,0*	2,7 ± 0,2*	23,8 ± 1,8*	11/14

Примечания: * – значимые различия с контролем при $p \leq 0,05$ по критериям t , U и медианному критерию; К – контрольная группа, 1 и 2 – животные, подвергнутые воздействию режима 1 и режима 2 соответственно.

В режиме 1 через 30 мин после окончания облучения у крыс подопытной группы не было выявлено значимых отличий от крыс контрольной группы (табл. 2). Через сутки после воздействия в режиме 1 в подопытной группе начинают обучение с более низких стартовых позиций, чем в контрольной, но за счёт более высокой скорости обучения к концу тестирования показатели достоверно не отличаются от контрольной группы (табл. 2, рис. 1А). Через 14 сут после

облучения НИЛИ подопытная группа не отличается статистически значимо от контрольной группы по всем параметрам (табл. 2, рис. 1Б).

Рис. 1. Динамика нарастания количества РИ (% к максимально возможному числу РИ за 10 попыток с шагом в 2 попытки) в процессе обучения крыс после однократного воздействия НИЛИ. А – тестирование через сутки после окончания воздействия; Б – тестирование через 14 сут после воздействия; К – контрольная группа («ложное облучение»), 1 – группа крыс, облучённая в режиме 1 (0,7 мВт); 2 – группа крыс, облучённая в режиме 2 (5 мВт).

Через 30 мин после воздействия в режиме 2 у крыс подопытной группы достоверно снижена скорость обучения (коэффициент В уравнения нарастания % РИ, табл. 2), но за счёт исходно более высоких стартовых позиций (коэффициент А в уравнении нарастания % РИ, табл. 2) по средним интегральным показателям подопытные животные статистически значимо не отличаются от контрольных. Через сутки после воздействия подопытная группа по динамическим показателям обучения достоверно отстаёт от контроля (значимо увеличен показатель ОБ-50 и снижен коэффициент А). Это хорошо видно на графике нарастания % РИ во время обучения (рис. 1А). Через 14 сут после воздействия подопытная группа начинает обучение с более низких стартовых позиций, чем контрольная группа, но за счёт значительно более высокой скорости обучения к концу тестирования достигает показателей контрольной группы (рис. 1Б). Однако, в целом, по интегральным показателям подопытная группа статистически значимо не отличалась от контрольной группы во все сроки исследования.

Многократное облучение. Поскольку однократное воздействие НИЛИ существенно не изменяло психофизиологический статус крыс по тесту выработки условного рефлекса избегания, в последующих экспериментах применяли 5-кратное облучение (1 раз в сутки, 15 или 30 мин, 5 дней подряд).

В первом варианте опытов мы попытались оценить влияние частоты импульсации на эффективность воздействия. Для этого облучали животных в режимах 1 (2500 Гц) и 2 (10000 Гц) по 15 мин в день при примерно равной выходной мощности.

При ежедневном 5-кратном облучении (табл. 3, рис. 2) в режиме 1 (2500 Гц, выходная мощность около 1,5 мВт) или в режиме 2 (10000 Гц, выходная мощность около 1,7 мВт), способность к обучению крыс из подопытных групп (при первом и втором тестировании) статистически значимо не отличалась от животных из контрольной группы.

Таблица 3

Влияние лазерного облучения в режиме 1 (2500 Гц, выходная мощность 1,5 мВт) или 2 (10000 Гц, выходная мощность 1,7 мВт) по 15 мин в день в течение 5 дней на условно-рефлекторную деятельность крыс

Сроки исследования	Группы	Лат-фаза	Число УРИ	Число отказов	Регрессия нарастания % УРИ		ОБ-50	Число крыс с сериями УРИ≥5
					коэф. А	коэф. В		
30 мин	К	7,6 ± 2,0	19,6 ± 2,1	1,1 ± 0,3	10,9 ± 2,4	2,5 ± 0,2	74,6 ± 11,6	20/33
	1	5,4 ± 1,4	20,5 ± 4,1	0,6 ± 0,4	23,7 ± 4,0*	1,6 ± 0,3*	67,7 ± 15,2	6/14
	2	6,4 ± 1,9	16,1 ± 3,1	6,6 ± 2,3*	5,4 ± 3,4	2,4 ± 0,3	85,4 ± 15,2	8/17
24 ч	К	5,4 ± 1,2	28,7 ± 2,3	1,6 ± 0,4	29,6 ± 2,5	2,8 ± 0,2	37,2 ± 4,3	26/33
	1	4,4 ± 1,4	27,8 ± 3,2	0,4 ± 0,2	25,7 ± 3,4	2,8 ± 0,3	40,0 ± 3,4	10/14
	2	8,7 ± 2,5	27,6 ± 3,6	2,9 ± 1,2	32,1 ± 3,7	2,3 ± 0,3	38,7 ± 3,7	12/17
14 сут	К	3,2 ± 1,6	37,0 ± 2,4	0,8 ± 0,3	64,4 ± 2,4	1,0 ± 0,2	12,5 ± 3,4	28/32
	1	3,4 ± 1,3	37,1 ± 2,7	0,1 ± 0,1	54,9 ± 3,2	1,9 ± 0,3*	6,3 ± 0,9	13/14
	2	4,0 ± 1,5	37,5 ± 2,7	2,1 ± 1,2	54,5 ± 2,9*	2,0 ± 0,2*	10,6 ± 1,0	16/17

Примечания: * – значимые различия с контролем при $p \leq 0,05$; К – контрольная группа, 1 и 2 – животные, подвергнутые воздействию режима 1 и режима 2 соответственно.

Рис. 2. Динамика нарастания количества РИ (% к максимально возможному числу РИ за 10 попыток с шагом в 2 попытки) в процессе обучения крыс после пятикратного воздействия НИЛИ. А – тестирование через сутки после окончания воздействия; Б – тестирование через 14 сут после воздействия; К – контрольная группа («ложное облучение»); 1 – группа крыс, облучённая в режиме 1 (2500 Гц, выходная мощность около 1,5 мВт); 2 – группа крыс, облучённая в режиме 2 (10000 Гц, выходная мощность около 1,7 мВт).

Через 14 сут после облучения у животных опытных групп была зафиксирована более высокая скорость обучения, чем у крыс контрольной группы, однако вследствие более низких стартовых позиций общее число РИ у опытных животных и контрольных животных статистически не отличалось (при выработке УРАИ). Таким образом, разность частот излучения при равной выходной мощности не повлияла на эффективность лазерного воздействия.

Во втором варианте опытов попытались оценить влияние поглощённой дозы на эффективность НИЛИ. Для этого использовали режим 2 при максимально возможной выходной мощности и времени воздействия 15 или 30 мин (табл. 4).

При облучении крыс в режиме 2 (10000 Гц, выходная мощность 5 мВт, 15 мин) через сутки после прекращения воздействия (рис. 3А) выявили небольшой стимулирующий эффект на выработку УРАИ: опытная группа начинает обучение с более высоких стартовых позиций по

сравнению с контролем (коэффициент А в уравнении регрессии нарастания % РИ), показатель ОБ-50 значительно меньше, чем у контроля, количество РИ в среднем за сессию тестирования больше (на уровне тенденции, $p=0,1$), чем у контроля, а число отказов – значительно меньше. Однако через две недели после облучения этот эффект угасает (рис. 3Б), все анализируемые показатели у групп контроля и опыта достоверно не отличаются.

Таблица 4

Интегральные и динамические показатели обучаемости крыс в челночной камере после пятикратного лазерного облучения в режиме 2 (10000 Гц) по 15 или 30 мин при выходной мощности 5 мВт

Сроки исследования	Группы	Лат-фаза	Число УРИ	Число отказов	Регрессия нарастания % УРИ		ОБ-50	Число крыс с сериями УРИ≥5
					коэф. А	коэф. В		
30 мин	К	9,2 ± 1,8	15,2 ± 1,7	2,3 ± 0,6	6,1 ± 2,1	2,12 ± 0,16	101,3 ± 14,5	15/30
	2,15	7,6 ± 2,4	17,8 ± 3,6	1,1 ± 0,3	16,9 ± 3,6*	1,66 ± 0,28	89,2 ± 17,6	7/16
	2,30	9,7 ± 3,3	17,5 ± 3,3	0,3 ± 0,2*	12,1 ± 3,6	2,08 ± 0,28	82,2 ± 9,6	7/15
24 ч	К	8,3 ± 1,4	23,3 ± 2,3	2,3 ± 0,5	18,2 ± 2,5	2,66 ± 0,20	52,0 ± 6,2	18/30
	2,15	6,7 ± 2,6	28,8 ± 3,5	0,9 ± 0,6*	34,2 ± 3,6*	2,17 ± 0,29	36,2 ± 4,9*	11/16
	2,30	5,0 ± 1,8	25,9 ± 3,8	1,2 ± 0,6	35,6 ± 3,9*	1,56 ± 0,31	42,7 ± 6,8	8/15
14 сут	К	2,6 ± 0,7	36,3 ± 2,2	1,0 ± 0,3	53,0 ± 2,4	1,94 ± 0,19	12,0 ± 1,8	26/29
	2,15	4,8 ± 1,9*	36,6 ± 3,2	0,8 ± 0,5	55,8 ± 3,3	1,72 ± 0,27	6,4 ± 1,0*	14/16
	2,30	4,1 ± 1,6	34,8 ± 3,6	0,2 ± 0,2*	51,5 ± 3,7	1,87 ± 0,30	16,1 ± 2,1	11/14

Примечания: * – значимые различия с контролем при $p \leq 0,05$; К – контрольная группа, 2,15 и 2,30 – животные, подвергнутые воздействию режима 2 в течение 15 и 30 мин соответственно.

Рис. 3. Динамика нарастания количества РИ (% к максимально возможному числу РИ за 10 попыток с шагом в 2 попытки) в процессе обучения крыс после пятикратного воздействия НИЛИ. А – тестирование через сутки после окончания воздействия; Б – тестирование через 14 сут после воздействия; К – контрольная группа («ложное облучение»), 2-15 – крысы, облучённые в режиме 2 в течение 15 мин при выходной мощности 5 мВт.

Увеличение времени воздействия вдвое и, соответственно, увеличение поглощённой дозы (режим 2, 10000 Гц, по 30 мин в день в течение 5 дней) не привело к повышению стимулирующего эффекта лазерного излучения (табл. 4). Вероятно, для эффективности воздействия большее значение имеет выходная мощность, а не поглощённая доза.

В целом, полученные результаты показали, что ежедневное 15-минутное воздействие НИЛИ может приводить к некоторой стимуляции когнитивных функций. Однако, выявленный

эффект носит транзиторный характер и полностью исчезает в отдалённые сроки, что даёт основание полагать об отсутствии выраженного психостимулирующего действия НИЛИ в изученных режимах.

Тем не менее, эти результаты свидетельствуют, что при использовании НИЛИ в терапии различных заболеваний мозг пациентов при удачном подборе режимов не будет подвергаться вредному воздействию и, даже, напротив, может иметь место положительный эффект. Наши результаты вполне согласуются с данными других авторов. Так, Oron A. et al. [11, 12] продемонстрировали восстанавливающее действие импульсного НИЛИ на нарушенные после травмы мозга нейробиологические функции организма мышей и крыс, Naeser M.A. et al. [13] сообщили о таких же результатах на людях. Появились также первые контролируемые исследования, показавшие, что облучение инфракрасным НИЛИ головы здоровых людей-добровольцев оказывает положительное действие на когнитивные и эмоциональные функции людей [14-16].

В заключение можно сказать, что наши результаты (режим 2, многократное воздействие) согласуются с данными научной литературы и указывают на то, что после воздействия НИЛИ не развиваются негативные психофизиологические эффекты, напротив, возможно транзиторное стимулирующее действие, поэтому НИЛИ может быть перспективной методикой в лечении ряда когнитивных нарушений.

Литература

1. **Adey W.R.** Neurophysiologic effects of radiofrequency and microwave radiation //Bull. N.Y. Acad. Med. 1979. V. 55, N 11. P. 1079-1093.
2. **Каплан М.А., Жаворонков Л.П., Кривошеев Я.В., Лагода Т.С., Филимонова М.В., Измestьева О.С., Измestьев В.И.** Биологические эффекты низкоинтенсивного лазерного излучения ближнего инфракрасного диапазона //Радиационная биология. Радиоэкология. 1999. Т. 39, № 6. С. 701-706.
3. **Sharma S.K., Kharkwal G.B., Sajo M., Huang Y.Y., De Taboada L., McCarthy T., Hamblin M.R.** Dose response effect of 810 nm laser light on mouse primary cortical neurons //Lasers Surg. Med. 2011. V. 43, N 8. P. 851-859.
4. **Hashmi J.T., Huang Y.Y., Sharma S.K., Kurup D.B., De Taboada L., Carrol J.D., Hamblin M.R.** Effect of pulsing in low-level light therapy //Lasers Surg. Med. 2010. V. 46, N 6. P. 450-466.
5. **Rojas J.C., Gonzales-Lima F.** Neurological and psychological applications of transcranial lasers and LEDs //Biochem. Pharmacol. 2013. V. 8, N 4. P. 447-457.
6. **Дерюгина А.В., Сидей К.Р., Иващенко М.Н., Игнатъев П.С., Корягин А.С.** Лейкоцитарная формула крови при действии низкоинтенсивного лазерного излучения на фоне моделированного стресса //Лазерная медицина. 2017. Т. 21, № 4. С. 46-49.
7. **Gigo-Benato D., Russo T.L., Tanaka E.N., Assis L., Salvini T.F., Parizotto N.A.** Effects of 660 and 780 nm low-level therapy on neuromuscular recovery after crush injury in rat sciatic nerve //Lasers Surg. Med. 2010. V. 42, N 9. P. 673-682.
8. **Wu X., Alberico S.L., Moges H., De Taboada I., Tedford C.E., Anders J.J.** Pulsed light irradiation improves behavioral outcome in a rat model of chronic mild stress //Lasers Surg. Med. 2012. V. 4, N 3. P. 227-232.
9. **Навакатилян М.А.** Методика изучения оборонительных условных рефлексов активного избегания //Журнал высшей нервной деятельности. 1992. Т. 42, № 4. С. 812-818.
10. **Жаворонков Л.П.** Основы прикладной медико-биологической статистики: учебное пособие. Издание 2-е, исправленное и дополненное. Обнинск: ФГБУ МРНЦ Минздрава России, 2014. 68 с.
11. **Oron A., Oron U., Chen J., Eilam A., Zhang C., Saden M., Lampl Y., Streeter J., De Taboada L., Chopp M.** Low-level laser therapy applied transcranially to rats after induction of stroke significantly reduces long-term neurological deficits //Stroke. 2006. V. 37, N 10. P. 2620-2624.
12. **Oron A., Oron U., Streeter J., De Taboada L., Alexandrovich A., Trembovler V., Shohami E.** Near infra-red transcranial laser therapy applied at various modes to mice following traumatic brain injury significantly reduces long-term neurological deficits //J. Neurotrauma. 2012. V. 29, N 2. P. 401-407.
13. **Naeser M.A., Saltmarche A., Krengel M.H., Hamblin M.R., Knight J.A.** Improved cognitive function after transcranial, light-emitting diode treatments in chronic, traumatic brain injury: two case report //Photomed. Laser Surg. 2011. V. 29, N 5. P. 351-358.
14. **Barret D.W., Gonzales-Lima F.** Transcranial infrared laser stimulation produces beneficial cognitive and emotional effects in humans //Neuroscience. 2013. V. 230. P. 13-23.
15. **Gonzales-Lima F., Barret D.W.** Augmentation of cognitive brain functions with transcranial lasers //Front. Syst. Neurosci. 2014. V. 8. P. 36-43.
16. **Vargas E., Barret D.W., Saucedo C.L., Huanq L.D., Abraham J.A., Tanaka Y., Gonzales-Lima F.** Beneficial neurocognitive effects of transcranial laser in older adults //Lasers Med. Sci. 2017. V. 32, N 5. P. 1153-1162.

Effect of transcranial laser exposure on conditioned-reflex activity of rats

Zhavoronkov L.P., Kolganova O.I., Izmestyeva O.S., Pavlova L.N.,
Glushakova V.S., Panferova T.A.

A. Tsyb MRRC, Obninsk

Growing interest in the use of near-infrared laser radiation for the treatment of numerous neurological disorders exists. However the safety of transcranial laser therapy is studied insufficiently. The optimal parameters of low level laser therapy are still discussed. The aim of the present study is to investigate the possible short- and long-term effects of a single or fivefold transcranial laser irradiation of the rat brain (wavelength 890 nm, the pulse duration was 100 ns) on the conditioned-reflex activity of Wistar rat males. Two radiation schedules were used: schedule 1 – impulse frequency 2500 Hz, the output power – 0.7 mW or 1.5 mW; schedule 2 – impulse frequency 10000 Hz, output power – 1.7 mW or 5.0 mW. One hundred and sixty-seven rats were used in the study. Cognitive functions of the rats were tested with the use of the shuttle-box avoidance method. Small transient effect stimulating cognitive function of rats has been registered after daily 15-minutes exposure to 10000 Hz (output power of 5 mW) during 5 days, however this effect had transient character. No essential differences in behavior of experimental and false irradiated control animals are registered after the use of other exposure schedules. According to obtained data one can say that intracranial exposure of rats to near-infrared laser radiation of used frequencies and output power does not produce stimulating effect on their higher nervous activity.

Key words: *Wistar rats, laser radiation, low-level, different frequencies of radiation, transcranial exposure, single or fivefold exposure, brain cognitive function, avoidance conditioned reflex, Shuttle-box.*

References

1. **Adey W.R.** Neurophysiologic effects of radiofrequency and microwave radiation. *Bull. N.Y. Acad. Med.*, 1979, vol. 55, no. 11, pp. 1079-1093.
2. **Kaplan M.A., Zhavoronkov L.P., Krivosheev Ya.V., Lagoda T.S., Filimonova M.V., Izmestieva O.S., Imestiev V.I.** Biological effects of the low-intensive laser of the near infra-red range. *Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya – Radiation Biology. Radioecology*, 1999, vol. 39, no. 6, pp. 701-706. (In Russian).
3. **Sharma S.K., Kharkwal G.B., Sajo M., Huang Y.Y., De Taboada L., McCarthy T., Hamblin M.R.** Dose response effect of 810 nm laser light on mouse primary cortical neurons. *Lasers Surg. Med.*, 2011, vol. 43, no. 8, pp. 851-859.
4. **Hashmi J.T., Huang Y.Y., Sharma S.K., Kurup D.B., De Taboada L., Carrol J.D., Hamblin M.R.** Effect of pulsing in low-level light therapy. *Lasers Surg. Med.*, 2010, vol. 46, no. 6, pp. 450-466.
5. **Rojas J.C., Gonzales-Lima F.** Neurological and psychological applications of transcranial lasers and LEDSS. *Biochem. Pharmacol.*, 2013, vol. 86, no. 4, pp. 447-457.
6. **Deryugina A.V., Sidey C.R., Ivashchenko M.N., Ignatyev P.S., Koryagin A.S.** The leukocyte blood formula under low-level laser irradiation and simulated stress). *Lasernaya meditsina – Laser Medicine*, 2017, vol. 21, no. 4, pp. 46-49. (In Russian).
7. **Gigo-Benato D., Russo T.L., Tanaka E.N., Assis L., Salvini T.F., Parizotto N.A.** Effects of 660 and 780 nm low-level therapy on neuromuscular recovery after crush injury in rat sciatic nerve. *Lasers Surg. Med.*, 2010, vol. 42, no. 9, pp. 673-682.

Zhavoronkov L.P. – Head of Lab., MD; **Kolganova O.I.** – Senior Researcher, C. Sc., Biol.; **Izmestyeva O.S.** – Lead. Researcher, C. Sc., Biol.; **Pavlova L.N.** – Lead. Researcher, C. Sc., Med.; **Glushakova V.S.** – Research Assistant; **Panferova T.A.** – Research Assistant.

*Contacts: 4 Korolyov str., Obninsk, Kaluga region, Russia, 249036. Tel.: (484) 399-71-38; e-mail: o.kolgan.obn@mail.ru.

8. **Wu X., Alberico S.L., Moges H., De Taboada I., Tedford C.E., Anders J.J.** Pulsed light irradiation improves behavioral outcome in a rat model of chronic mild stress. *Lasers Surg. Med.*, 2012, vol. 44, no. 3, pp. 227-232.
9. **Navakatikyan M.A.** A method for studying the defensive conditioned reflexes of active avoidance. *Zhurnal vysshey nervnoy deyatel'nosti – Journal of Higher Nervous Activity*, 1992, vol. 42, no. 4, pp. 812-818. (In Russian).
10. **Zhavoronkov L.P.** Osnovy prikladnoy medico-biologicheskoy statistiki: uchebnoye posobiye. Izdaniye 2-ye, ispravlennoye i dopolnennoye [Fundamentals of applied biomedical statistics: a trained manual. 2nd edition, revised and enlarged]. Obninsk, FSBI MRRC of the Ministry of Health of Russia, 2014. 68 p.
11. **Oron A., Oron U., Chen J., Eilam A., Zhang C., Saden M., Lampl Y., Streeter J., De Taboada L., Chopp M.** Low-level laser therapy applied transcranially to rats after induction of stroke significantly reduces long-term neurological deficits. *Stroke*, 2006, vol. 37, no. 10, pp. 2620-2624.
12. **Oron A., Oron U., Streeter J., De Taboada L., Alexandrovich A., Trembovler V., Shohami E.** Near infra-red transcranial laser therapy applied at various modes to mice following traumatic brain injury significantly reduces long-term neurological deficits. *J. Neurotrauma*, 2012, vol. 29, no. 2, pp. 401-407.
13. **Naeser M.A., Saltmarche A., Krengel M.H., Hamblin M.R., Knight J.A.** Improved cognitive function after transcranial, light-emitting diode treatments in chronic, traumatic brain injury: two case report. *Photomed. Laser Surg.*, 2011, vol. 29, no. 5, pp. 351-358.
14. **Barret D.W., Gonzales-Lima F.** Transcranial infrared laser stimulation produces beneficial cognitive and emotional effects in humans. *Neuroscience*, 2013, vol. 230, pp. 13-23.
15. **Gonzales-Lima F., Barret D.W.** Augmentation of cognitive brain functions with transcranial lasers. *Front. Syst. Neurosci.*, 2014, vol. 8, pp. 36-43.
16. **Vargas E., Barret D.W., Saucedo C.L., Huanq L.D., Abraham J.A., Tanaka Y., Gonzales-Lima F.** Beneficial neurocognitive effects of transcranial laser in older adults. *Lasers Med. Sci.*, 2017, vol. 3, no. 5, pp. 1153-1162.