



БИОМЕДИЦИНА

2009 1

МЕДИЦИНА
ISSN 2074-5982

2009 1

БИОМЕДИЦИНА

Научный журнал

В СЛЕДУЮЩЕМ НОМЕРЕ:

Наноэффективность: новые биомедицинские инициативы в фармакологии

Роль ядерных рецепторов в регуляции биотрансформации ксенобиотиков

Генетическая модель сахарного диабета 2 типа на мутантных мышах линии C57BL/KsJYLeprdb/+

БИОМЕДИЦИНА

В НОМЕРЕ:

Средства для обеззараживания объектов, контаминированных спорами *B.austriacus*

Спектральная мощность ЭЭГ крыс при интраперитонеальном введении фторсодержащих фуллеренов

Исследование гомозиготности двух сублиний BALB/cY и BALB/cP высоко инбредной линии BALB/c

НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
БИОМЕДИЦИНСКИХ
ТЕХНОЛОГИЙ
РАМН

тема номера

страница 5

Нанобезопасность: новые подходы к оценке рисков и токсичности наноматериалов



Изменения спектральной мощности ЭЭГ крыс после интраперитонеального введения фторсодержащих производных фуллерена-60

Н.Н.Каркищенко¹, Д.С.Сахаров¹, А.А.Филиппов², В.Б.Соколов²

¹Научный центр биомедицинских технологий РАМН, Москва

²Российский Научный Центр «Курчатовский институт», Москва

Фуллерены и их производные в будущем могут широко применяться в технике и медицине. В данной работе мы исследовали влияние фторсодержащих производных фуллеренов-60 (фуллеренилов) на функциональное состояние мозга бодрствующих крыс с помощью спектрального анализа ЭЭГ. Углеродные наночастицы вводили интраперитонеально в дозе 100 мг/кг и спустя 3 минуты регистрировали ЭЭГ в течение часа. В каждом опыте применяли только один из фуллеренилов, растворимых в диметилсульфоксиде ($C_{60}F_{24}$, $C_{60}F(NO_2)$, $C_{60}F_{48}$) или в воде ($C_{60}F_{36}(NH_{2/12})$, $C_{60}[FNC_5H_5]^+F^-$). Данные, полученные при введении фуллеренилов, нормировали к значениям, полученным в фоне, либо при введении диметилсульфоксида. Было установлено, что фуллеренилы даже при интраперитонеальном введении проникают через гематоэнцефалический барьер, в краткие сроки значительно и на относительно длительный период изменяют функциональное состояние головного мозга. Эти реакции различны и, видимо, зависят от физико-химических особенностей углеродных наночастиц. В статье обсуждаются результаты инъекции каждого из фуллеренилов.

Ключевые слова: спектральная мощность ЭЭГ, интраперитонеальное введение, фторсодержащие производные фуллерена-60, фуллеренилы.

Возможность широкого использования в технике и медицине наноматериалов, основанных на аллотропной модификации углерода – фуллеренах и их производных, сегодня представляет большой интерес [16, 18, 21, 24]. В связи с этим необходимо определить степени биобезопасности углеродистых наночастиц для человека и окружающей среды, особенно учитывая тот факт, что, например, диаметр молекулы фуллерена C_{60} составляет около 0,7 нм, что более чем в 2 раза меньше толщины молекулы ДНК; такие частицы могут беспрепятственно проникать через клеточную и ядерную

мембрану, обнаруживаясь в различных субклеточных структурах, включая ядро [20]. Существует ряд работ, где указывается, что углеродные наночастицы проникают через гематоэнцефалический барьер [21, 25], в частности, путем эндцитоза эндотелиальными клетками, выстилающими капилляры в мозге [15].

Одной из частных задач биомедицины в этом направлении является оценка безопасности фуллеренов для центральной нервной системы и поведения животных. Тем более что существуют работы, указывающие на негативное влияние наноматериалов [12, 13]. Кроме того, в

литературе нам пока не встретились исследования изменений функционального состояния головного мозга после введения фуллеренов с применением метода электроэнцефалографии (ЭЭГ).

Данная работа посвящена анализу спектральной мощности электрической активности мозга при интраперитонеальном (внутрибрюшинном) введении растворов фуллеренилов, в нашем случае, – фторсодержащих производных фуллерена-60.

Материалы и методы

Опыты были проведены на 8 бодрствующих 3-месячных белых крысах линии WAG/GY в хроническом эксперименте. Животных обоего пола, полученных из НЦБМТ РАМН (Светлые горы), содержали по барьерной системе, в клетках по 3 крысы в каждой со свободным доступом к питью и пище (комбинированный корм, фирма ООО «Лабораторкорм»), микробиологический статус крыс – SPF. За неделю до начала эксперимента животных анестезировали (Zoletil 100, фирма VIRBAC-06516-CARROS, Франция, доза 55 мг/кг), фиксировали в стереотаксисе, в стерильных условиях эпидурально вживляли электроды, в качестве которых применяли штырьковые разъемы с антикоррозийным покрытием, на пластмассовой платформе. Электроды располагали в симметричных точках обоих полушарий, согласно координатам относительно брегмы: фронтальные **Fp1**, **Fp2** (A4, L2); **F3**, **F4** (A2, L2); центральные **C3**, **C4** (P1, L4); теменные **P3**, **P4** (P3, L4). Регистрацию ЭЭГ осуществляли монополярно, референтный электрод (**Ref.**) располагали в носовых костях (рис. 1).

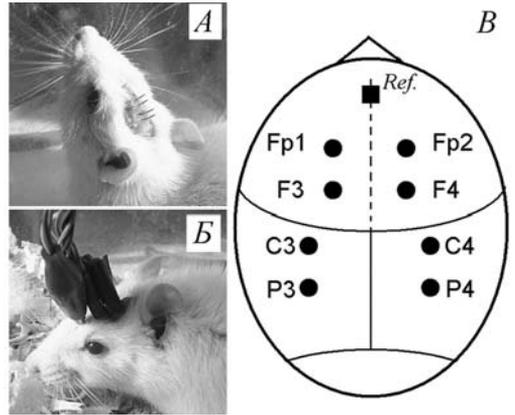


Рис. 1. Расположение электродов на голове крысы. А – крыса с вживленными электродами в свободном поведении. Б – крыса с установленными на электроды контактами для регистрации ЭЭГ, зажим типа «крокодил» установлен на референтном электроде. В – схема расположения электродов на черепе крысы, используемая для построения графических карт.

Наиболее удобными для исследования оказались производные полифторидов фуллеренов $C_{60}F_{24}$ и $C_{60}F_{24}$. $C_{60}F_{24}$ синтезировали по реакции $C_{60}Br_{24}$ с дифторидом ксенона в безводном HF при комнатной температуре. В этих условиях атомы брома в полибромфуллерене замещаются на атомы фтора. $C_{60}F_{48}$ синтезировался по реакции дифторида криптона KrF_2 с фуллереном C_{60} в безводном фтористом водороде в течение 48 часов. $C_{60}F(NO_2)$ синтезировали путем свободнорадикального присоединения к $C_{60}F_{24}$ двуокиси азота. К раствору $C_{60}F_{24}$ в неполярных растворителях при перемешивании при пониженной температуре добавляли сконденсированную двуокись азота. За ходом реакции следили по прекращению выпадения осадка желтого цвета. Выпавший осадок отфильтровывали на бумажном фильтре. Остатки растворителя и непрореагировавшего диоксида азота удаляли в вакууме.

Водорастворимый $C_{60}F_{36}(NH_2)_{12}$ синтезировали по реакции электрофильного замещения атомов фтора в $C_{60}F_{48}$. К суспензии $C_{60}F_{48}$ в абсолютном бензоле при комнатной температуре добавляли сухой аммиак до полного насыщения, затем фильтровали полученный амин, промывали спиртом, эфиром и высушивали в вакууме. Наконец, фторфуллеренпиридинийфторид $C_{60}[FNC_5H_5]^+F^-$ синтезировали по реакции замещения атомов фтора в $C_{60}F_{24}$ пиридином в воде при повышенной температуре в течение 6-8 часов. По окончании реакции полученный раствор фильтровали, жидкую фазу упаривали. Полученную таким образом четвертичную аммониевую соль промывали спиртом, эфиром и сушили в вакууме.

Спустя неделю после операции каждое животное помещали в экспериментальную камеру, к разьему на черепе присоединяли контакты и наблюдали за нативной ЭЭГ в течение 15 минут, при этом крыса находилась в свободном поведении. На следующий день эту процедуру повторяли, но 15 минут регистрировали фоновую ЭЭГ. Далее внутрибрюшинно вводили раствор фуллеренила в дозе 100 мг/кг, спустя 3 минуты после введения которого регистрировали ЭЭГ в течение 1 часа. В каждом опыте применяли раствор только одного из фуллеренилов: $C_{60}F_{24}$, $C_{60}F_{48}$, $C_{60}F(NO_2)$, растворимых в диметилсульфоксиде (ДМСО) или гидрофильных $C_{60}F_{36}(NH_2)_{12}$, $C_{60}[FNC_5H_5]^+F^-$. Объем растворителя составлял 2 мл/кг. Опыты с одним и тем же животным проводили с интервалом в 5-7 дней. Все манипуляции осуществлялись в соответствии с международными нормами этического обращения с животными. На каждом животном был проведен контрольный опыт, когда вместо раство-

ра фуллеренила вводили только ДМСО необходимого объема.

ЭЭГ регистрировали на электроэнцефалографе-анализаторе ЭЭГА-21/26 «Энцефалан-131-03» (фирма «Медиком МТД», Таганрог). Фильтры высоких частот устанавливали на 70 Гц, постоянная времени составляла 0,3 с, режекторный фильтр удалял колебания частотой 50 Гц. Частота опроса составляла 250 Гц. После удаления артефактов запись, содержащую данные ЭЭГ, делили на несколько 64-секундных файлов, таким образом, получали число n для каждого опыта. Спектральную мощность электрической активности мозга (СМ ЭАМ) анализировали с помощью пакета программ MatLab-5 в стандартных физиологических диапазонах частот: дельта (Δ) – 1-4 Гц, тета (θ) – 4,25-8 Гц, сигма (σ) или альфа (α) – 8,25-13 Гц, бета (β) – 13,25-30 Гц, гамма (γ) – 30,25-45 Гц. Эпоха анализа составляла 4 с. Изменения СМ ЭАМ при действии фуллерена для каждого опыта нормировались к фоновым значениям, полученным до инъекции. Достоверность отличий между выборками для одного опыта по каждому диапазону и отведению оценивали по критерию Вилкоксона-Манна-Уитни, для группы опытов с испытанием одного и того же фуллерена – по критерию Стьюдента. Принимали во внимание только достоверные изменения СМ ЭАМ ($p < 0,05$).

Результаты

При введении растворов фуллеренилов наблюдались индивидуальные особенности в реактивности мозга, однако существовали и общие закономерности в ЭЭГ. В начале следует указать на то, что

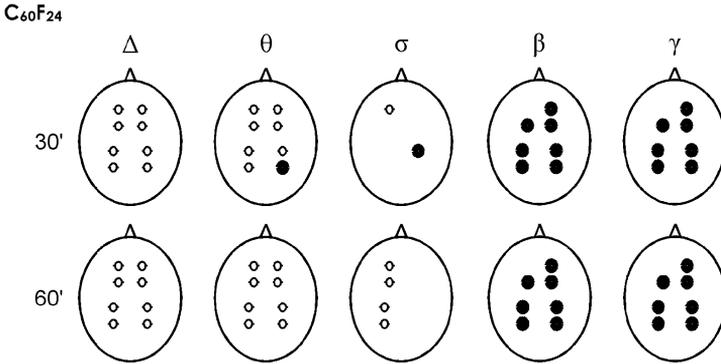


Рис. 2. Изменение СМ ЭАМ после инъекции фуллеренила $C_{60}F_{24}$ ($n=105$ записей по группе). Верхняя строка – изменения в первые 30 минут после введения вещества, нижняя строка – изменения СМ ЭАМ во второй половине эксперимента. По горизонтали представлены диапазоны частот. Большие закрашенные кружки – достоверное повышение СМ ЭАМ, маленькие незакрашенные – достоверное снижение. Отсутствие достоверных изменений по отношению к ДМСО на картах не обозначено.

инъекция одного ДМСО в контрольных опытах ($n=202$ записи по группе) сама по себе вызывала достоверное снижение СМ ЭАМ во всех исследуемых проекционных точках коры, во всех частотных диапазонах, кроме γ , где в центрально-теменных областях обоих полушарий изменений не наблюдалось. Спустя 30 минут после введения растворителя постепенно происходило повышение СМ ЭАМ в Δ -, θ -, σ -диапазонах во всех отведениях.

При сравнении СМ ЭАМ во время действия фуллеренов с данными, полученными после инъекции ДМСО, оказалось, что изменения ЭЭГ, следующие за введением углеродных наночастиц зашумлены результатами, полученными при введении диметилсульфоксида. Кроме этого, снижалась двигательная активность животных, а при движении крыс наблюдалась симптоматика, характерная для раздражения брюшины. Таким образом, электрографические и

поведенческие реакции позволили сравнивать изменения при действии фуллеренилов не с фоновыми значениями, а с теми, которые были получены при введении их растворителя соответственно в первые и последующие 30 минут опыта.

В первой и второй половинах часа после инъекции фуллеренила спектральные характеристики различались с разной степенью выражен-

ности. Главным образом, это проявлялось индивидуально. В ходе анализа по группе некоторая динамика также имела место, но при таком анализе можно было наблюдать относительную устойчивость изменений в течение опыта.

В экспериментах с введением фуллеренила $C_{60}F_{24}$ ($n=105$ записей по группе) в β - и γ -диапазонах происходило увеличение спектральной мощности почти во всех регистрируемых точках, тогда как в Δ - и θ -диапазонах преобладало снижение мощности спектра (рис. 2). Через 30 минут СМ ЭАМ достоверно уменьшилась и в σ -диапазоне в левом полушарии, где сначала достоверных изменений почти не наблюдалось.

Преимущественное снижение спектральной мощности в полосе 1-8 Гц наблюдалось и после инъекции фуллеренила $C_{60}F_{48}$ ($n=80$ записей по группе), (рис. 3). Усиление колебаний имело место в γ -диапазоне в центрально-теменных областях обоих полушарий, однако этих

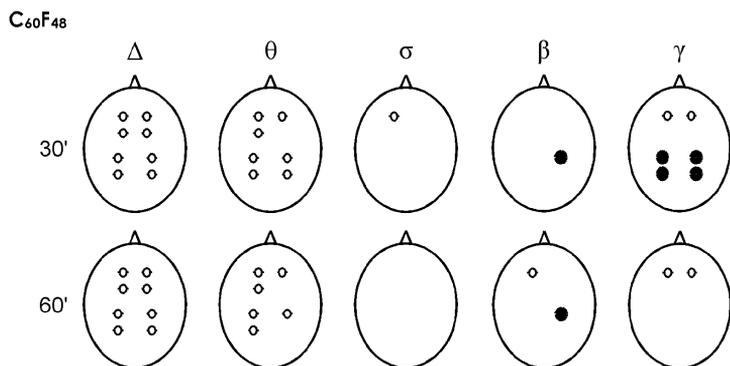


Рис. 3. СМ ЭАМ после введения $C_{60}F_{48}$ ($n=80$ записей по группе). Остальные обозначения, как на рис. 2.

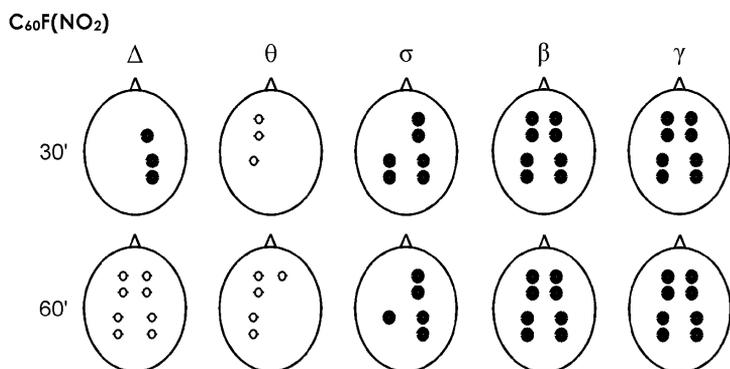


Рис. 4. Изменение СМ ЭАМ после введения $C_{60}F(NO_2)$, ($n=98$ записей по группе). Остальные обозначения, как на рис. 2.

изменений уже не наблюдалось во второй половине опыта. Кроме того, во фронтальной коре отмечалось стойкое снижение СМ ЭАМ.

Устойчивую реакцию головного мозга мы наблюдали после введения фуллеренила $C_{60}F(NO_2)$, ($n=98$ записей по группе): повышение спектра мощности в σ -диапазоне, главным образом, в правом полушарии, а в β -, γ -диапазонах – во всех регистрируемых точках (рис. 4). θ -диапазон характеризовался снижением мощности в левом полушарии. Динамические изменения наблюда-

лись в Δ -диапазоне. В первой половине эксперимента произошло повышение спектральной мощности в правом полушарии, в левом достоверных изменений не обнаружилось, то есть возникла межполушарная асимметрия. Через 30 минут к концу опыта асимметрия исчезла, а изменения приобрели другой знак – произошло снижение мощности Δ -ритма по всей коре.

Сравнение влияния водорастворимого фуллеренила $C_{60}F_{36}(NH_2)_{12}$ ($n=131$ запись по группе) осуществлялось по отношению к фоновым данным (рис. 5). При этом отмечалось снижение мощности колеба-

ний в Δ - и θ -диапазонах, в других частотных полосах уменьшение значений спектральной мощности регистрировалось только во фронтальной коре. Повышение σ -активности симметрично в центрально-теменных областях было устойчивым в течение всего эксперимента. Кроме того, во второй половине опыта в различных зонах центрально-теменных областей возникло повышение мощности θ - и β -ритма, тогда как в полосе 30-45 Гц снижение СМ ЭАМ генерализовалось.

В наших экспериментах несколь-

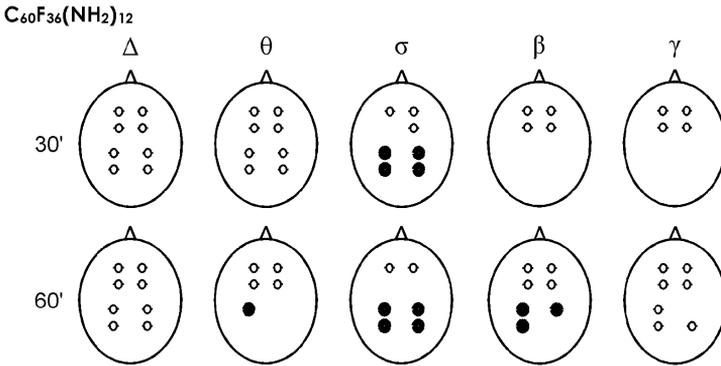


Рис. 5. СМ ЭАМ после инъекции водорастворимого фуллеренила $C_{60}F_{36}(NH_2)_{12}$ ($n=131$ запись по группе). Верхняя строка – изменения в первые 30 минут после введения вещества, нижняя строка – изменения СМ ЭАМ во второй половине эксперимента. По горизонтали представлены диапазоны частот. Большие закрашенные кружки – достоверное повышение СМ ЭАМ, маленькие незакрашенные – достоверное снижение. Отсутствие достоверных изменений по отношению к фоновым значениям на картах не обозначено.

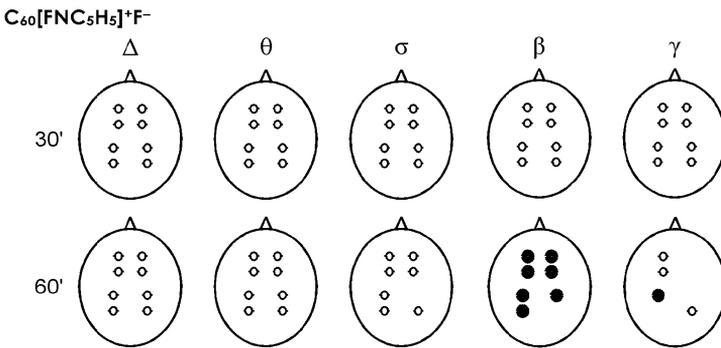


Рис. 6. СМ ЭАМ после введения водорастворимого фуллеренила $C_{60}[FNC_5H_5]^+F^-$ ($n=73$ записи по группе). Остальные обозначения, как на рис. 5.

ким животным вводили водорастворимый фторфуллеренпиридинийфторид $C_{60}[FNC_5H_5]^+F^-$ ($n=73$ записи по группе), (рис. 6). Влияние данного соединения на электрическую активность мозга в первые 30 минут выражалось в распространенном по коре снижении спектральной мощности во всех частотных диапазонах. Во второй половине опыта умень-

шение мощности касалось низкочастотной полосы (Δ , θ , σ) и отдельных зон коры в γ -диапазоне, вместе с тем, отмечалось усиление мощности β -ритма.

Обсуждение результатов

В наших экспериментах введение ДМСО интраперитонеально сильно изменяла двигательную активность и ЭЭГ крыс. Спустя 30 минут после введения растворителя мощность низкочастотных ритмов (Δ , θ , σ) возвращалась к фоновому уровню, к концу эксперимента нарушения двигательной активности становились менее выраженными, что говорит об элиминации диметилсульфоксида. Следует подчеркнуть, что при анализе поведения

после инъекций фуллеренилов, растворимых в ДМСО, следует использовать другой способ введения.

Ранее указывалось, что по сравнению с введением фуллерена C_{60} внутрь желудочка мозга, при интраперитонеальной инъекции не наблюдалось изменений двигательной активности в острый период, они были отставлены и проявлялись

спустя месяц. Также при внутрибрюшинном введении в меньшей степени увеличивались концентрации моноаминов в мозге [24]. Результаты наших экспериментов показали, что углеродные наночастицы уже через небольшой промежуток времени начинают оказывать влияние на головной мозг даже при внутрибрюшинном способе введения. Более того, эта реакция различна и, вероятно, зависит от физико-химических свойств фуллеренилов. Маленькие размеры наночастиц и быстрая реакция мозга не вызывает у нас сомнения в том, что фуллеренилы проникают через гематоэнцефалический барьер. Согласно нашим данным, углеродные частицы, вероятно, могут находиться в мозге в течение часа, вызывая специфические изменения в СМ ЭАМ.

Все эксперименты проходили днем, когда крысы были неактивны и могли спать. Известно, что во время медленного сна в коре головного мозга доминирует Δ -ритм [11], также он обнаруживается во время наркоза [23] и других состояниях, характеризующихся снижением уровня сознания. Снижение мощности Δ -ритма и усиление ритмики в высокочастотных диапазонах (β , γ) после введения фуллеренилов $C_{60}F_{24}$, $C_{60}F_{48}$ может говорить об активации животного, его переходу к состоянию бодрствования. γ -активность также положительно коррелирует с развитием реакции тревоги и во время реализации ориентировочного рефлекса [3], а реципрокные взаимоотношения Δ - и γ -ритмики при переходе от сна к бодрствованию рассматривались и ранее [17].

Обсуждая электрофизиологический показатель повышения уровня бодрствования, необходимо указать на массу работ,

где анатомическим субстратом высших когнитивных функций является лобная кора. Так, она связана с процессами внимания [10], в ней происходит оценка значимости поступающей зрительной информации [1, 7], префронтальная кора необходима для оценки вероятностных характеристик среды [6]. Следовательно, увеличение мощности β - и γ -ритмов во фронтальной коре после инъекции $C_{60}F_{24}$ или $C_{60}F(NO_2)$ можно объяснить возможным усилением когнитивных процессов восприятия и внимания, связанными с оценкой окружающей обстановки. Наоборот, снижение мощности высокочастотных ритмов при $C_{60}F_{48}$ или $C_{60}F_{36}(NH_2)_{12}$ связано с подавлением познавательных функций. Наши результаты перекликаются с работой, где однократное введение в желудочек мозга крыс водорастворимого гидратированного фуллерена $C_{60}(OH)_n$ в дозе 7,2 нмоль/желудочек значительно улучшало выполнение когнитивной задачи [19].

Повышение мощности в σ -диапазоне часто связывают с возникновением сонных веретен во время поверхностного синхронизированного сна [9, 17], эта ритмика сменяет Δ -волны в медленноволновом сне [8] и может непосредственно предшествовать быстрому сну [22]. Снижение спектральной мощности в σ -диапазоне после инъекций $C_{60}F_{24}$, $C_{60}F_{48}$ вместе с повышением мощности высокочастотных ритмов еще раз указывает на возникновение состояния активации у крыс. После инъекции $C_{60}F_{36}(NH_2)_{12}$ усиление ритмики в диапазоне 8-13 Гц, вероятно, связано со снижением уровня бодрствования, кроме того, еще через 30 минут увеличилась мощность и в частоте 14-30 Гц. В сопряжении с уменьшением мощности β - и γ -ритмов во фронтальной коре это может говорить

не столько об активации коры, сколько с появлением в ней высокочастотных веретен, которые некоторыми исследователями относят к полосе 11-16 Гц [8].

Снижение θ -активности спустя 3 минуты после интраперитонеального введения любого фуллеренила, возможно, указывает на отсутствие ярко выраженной длительной стрессорной, в том числе, болевой реакции как на саму инъекцию, так и на раствор фуллеренила. В других исследованиях после интраперитонеального введения, например, раствора этанола [5] отмечалось повышение мощности θ -ритма в дорзальных областях неокортекса или гиппокампа, что также отражается в общей ЭЭГ.

Среди полученных результатов интересные изменения СМ ЭАМ наблюдались после введения $C_{60}F(NO_2)$. Вероятно, данный фуллеренил вызывает повышение уровня функционального состояния, а, кроме того, он может обладать свойством, характерным для психотропных препаратов, так как введение этих веществ в определенном интервале доз приводит к росту мощности колебаний в полосе 9-12 Гц [4].

Уменьшение значений СМ ЭАМ во всех частотных диапазонах при действии $C_{60}[FNC_5H_5]+F-$ может являться показателем негативных изменений в функциях центральной нервной системы, так как подобные явления наблюдаются в состоянии комы [2], они же могут быть предвестниками смерти мозга [14]. Однако на восстановительный процесс через 30 минут после инъекции указывает повышение мощности β -ритма.

Следует учесть, что поскольку мы сравнивали действия гидрофобных фуллеренилов на ритмику мозга по отношению к реакциям при введении их раство-

рителя, изменения в сторону снижения на этом условном фоне представляются нам глубокими, так как сам диметилсульфоксид вызывал глобальное снижение СМ ЭАМ. Тогда как повышения, вероятно, количественно не столь значительны.

Выводы

1. Метод внутривентрикулярного введения фуллеренов, растворенных в ДМСО, непригоден, для изучения изменения поведения, так как данная инъекция сильно изменяет двигательную активность крыс и дает искаженный результат.

2. Фуллеренилы, растворенные в ДМСО или воде, при интраперитонеальном введении проникают через гематоэнцефалический барьер, в краткие сроки значительно и на относительно длительный период изменяют функциональное состояние головного мозга; эти реакции различны и, видимо, зависят от физико-химических особенностей углеродных наночастиц.

3. Инъекция $C_{60}F_{24}$ и $C_{60}F_{48}$ приводила к снижению спектральной мощности в Δ - и θ -диапазонах частот и повышению в β - и γ -диапазонах; после введения $C_{60}F_{48}$ изменения в высокочастотных диапазонах были менее выражены, кроме этого, отмечалось снижение мощности γ -ритма во фронтальных областях коры.

4. После введения фуллеренила $C_{60}F(NO_2)$ отмечалось повышение СМ ЭАМ Δ -ритма в правом полушарии, а во второй части эксперимента происходило снижение мощности по всей коре, также уменьшалась θ -активность; вместе с тем, повышение спектров мощности отмечалось в полосе 8-45 Гц в течение всего эксперимента.

5. Водорастворимый $C_{60}F_{36}(NH_2)_{12}$

симметрично повышал σ -активность в центрально-теменных областях, что было устойчиво в течение часа, в остальных частотных диапазонах в течение первой половины эксперимента отмечалось снижение СМ ЭАМ главным образом во фронтальных областях, во второй половине происходило повышение мощности спектра в центрально-теменных отведениях в полосе 13-30 Гц.

6. Фторфуллеренпиридинийфторид в первые 30 минут снижал активность электрическую активность всех анализируемых областей мозга во всех частотных диапазонах, во второй половине опыта отмечалось усиление мощности β -активности.

Авторы выражают благодарность за помощь в проведении работы и консультирование В.И. Королевой и В.И. Давыдову (Институт высшей нервной деятельности РАН, Москва).

Литература

1. Батуев А.С. Высшие интегративные системы мозга. – Л.: Наука, 254 с., 1981.

2. Добронравова И.С. Реорганизация электрической активности мозга человека при угнетении и восстановлении сознания (церебральная кома): Автореф. дис. ... д-ра. биол. наук. – М.: ТОО «Корина», с.18. 1996.

3. Думенко В.Н. Высоочастотные компоненты ЭЭГ и инструментальное обучение. – М.: Наука, с. 29, 2006.

4. Каркищенко Н.Н. Альтернативы биомедицины. Т. 2. Классика и альтернативы фармакотоксикологии. – М.: Изд-во ВПК, с.355-381. 2007.

5. Кожечкин С.Н., Свицерская Н.Е.,

Коштянц О.Х., Середенин С.Б. Влияние этанола в различных дозах на ЭЭГ крыс. Многопараметрический анализ // *Эксперим. клин. фармакология*, Т. 67, № 5, с. 46-50. 2004.

6. Преображенская Л.А., Иоффе М.Е. Влияние повреждения префронтальной коры на поведение собак в условиях конфликта между вероятностью и ценностью подкрепления // *Фундаментальные и клинические аспекты интегративной деятельности мозга: Материалы Межд. чтений, посвящ. 100-летию со дня рождения чл.-корр. АН СССР, акад. Ан АрмССР Э.А. Асратяна: Москва, ИВНД и НФ РАН, 27-30 мая 2003 г.* – М.: МАКС Пресс, с.186, 2003.

7. Черенкова Л.В., Юннатов Ю.А. Влияние повреждения ассоциативных зон неокортекса на характер выполнения задачи зрительно-моторной координации у кошек // *Журн. высш. нерв. деят.*, Т. 30, № 5, С. 954-963, 1980.

8. Bjorvatn B., Fagerland S., Ursin R. EEG power densities (0.5-20 Hz) in different sleep-wake stages in rats // *Physiol Behav. Vol. 63, No. 3, pp. 413-417, 1998.*

9. Cipolla-Neto J., Negrão N., Afeche S.C., Paludetti L.A., Benedito-Silva A.A., Marques N., Menna-Barreto L. Remarkable similarities between the temporal organization of neocortical electrographic sleep patterns of rats and humans // *Braz J Med Biol Res. Vol. 21, No. 3, pp. 599-601, 1988.*

10. Dalley J.W., Theobald D.E., Bouger P., Chudasama Y., Cardinal R.N., Robbins T.W. Cortical cholinergic function and deficits in visual attentional performance in rats following 192 IgG-saporin-induced lesions of the medial prefrontal cortex // *Cereb Cortex. Vol. 14, No. 8, pp. 922-932, 2004.*

11. Dang-Vu T.T., Desseilles M., Laureys S., Degueldre C., Perrin F., Phillips C., Maquet P., Peigneux P. Cerebral correlates of delta waves during non-REM sleep revisited // *Neuroimage*. Vol. 28, No. 1, pp. 14-21, 2005.
12. Isakovic A., Markovic Z., Todorovic-Markovic B., Nikolic N., Vranjes-Djuric S., Mirkovic M., Dramicanin M., Harhaji L., Raicevic N., Nikolic Z., Trajkovic V. Distinct cytotoxic mechanisms of pristine versus hydroxylated fullerene // *Toxicol Sci*. Vol. 91, No. 1, pp. 173-183, 2006.
13. Kamat J.P., Devasagayam T.P., Priyadarsini K.I., Mohan H., Mittal J.P. Oxidative damage induced by the fullerene C60 on photosensitization in rat liver microsomes // *Chem Biol Interact*. Vol. 114, No. 3, pp. 145-159, 1998.
14. Klein H.J., Rath S.A., Göppel F. The use of EEG spectral analysis after thiopental bolus in the prognostic evaluation of comatose patients with brain injuries // *Acta Neurochir Suppl*. Vol. 42, pp.31-34, 1988.
15. Kreuter J. Nanoparticulate systems for brain delivery of drugs // *Adv Drug Deliv Rev*. Vol. 47, No. 1, pp. 65-81, 2001.
16. Lyon D.Y., Alvarez P.J. Fullerene water suspension (nC60) exerts antibacterial effects via ROS-independent protein oxidation // *Environ Sci Technol*. Vol. 42, No. 21, pp. 8127-8132, 2008.
17. Maloney K.J., Cape E.G., Gotman J., Jones B.E. High-frequency γ electroencephalogram activity in association with sleep-wake states and spontaneous behaviors in the rat // *Neurosci*. Vol. 76, No. 2, pp. 541-555, 1997.
18. Misirkic M.S., Todorovic-Markovic B.M., Vucicevic L.M., Janjetovic K.D., Jokanovic V.R., Dramicanin M.D., Markovic Z.M., Trajkovic V.S. The protection of cells from nitric oxide-mediated apoptotic death by mechanochemically synthesized fullerene (C(60)) nanoparticles // *Biomaterials*. Vol. 30, No. 12, pp. 2319-2328, 2009.
19. Podolski I.Y., Podlubnaya Z.A., Kosenko E.A., Mugantseva E.A., Makarova E.G., Marsagishvili L.G., Shpagina M.D., Kaminsky Y.G., Andrievsky G.V., Klochkov V.K. Effects of hydrated forms of C60 fullerene on amyloid 1-peptide fibrillization in vitro and performance of the cognitive task // *J Nanosci Nanotechnol*. Vol. 7, No. 4-5, pp. 1479-1485, 2007.
20. Porter A.E., Muller K., Skepper J., Midgley P., Welland M. Uptake of C60 by human monocyte macrophages, its localization and implications for toxicity: studied by high resolution electron microscopy and electron tomography // *Acta Biomater*. Vol. 2, No. 4, pp. 409-419, 2006.
21. Selvi B.R., Jagadeesan D., Suma B.S., Nagashankar G., Arif M., Balasubramanyam K., Eswaramoorthy M., Kundu T.K. Intrinsically fluorescent carbon nanospheres as a nuclear targeting vector: delivery of membrane-impermeable molecule to modulate gene expression in vivo // *Nano Lett*. Vol. 8, No. 10, pp. 3182-3188, 2008.
22. Tobler I., Deboer T. Sleep in the blind mole rat *Spalax ehrenbergi* // *Sleep*. Vol. 24, No. 2, pp. 147-54, 2001. *Comment in: Sleep*. Vol. 25, No. 1, pp. 11-13. 2002.
23. Xu J., Zheng C., Liu X., Pei X., Jing G. Detecting brain activity variation of rat during anesthesia by spectral entropy // *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc*. Vol. 7, pp 6985-6988, 2005.
24. Yamada T., Jung D.Y., Sawada R., Matsuoka A., Nakaoka R., Tsuchiya T. Effects intracerebral microinjection and intraperitoneal injection of [60]fullerene on

brain functions differ in rats // *J Nanosci Nanotechnol. Vol. 8, No. 8, pp. 3973-3980, 2008.*

25. Yamago S., Tokuyama H., Nakamura E., Kikuchi K., Kananishi S.,

Sueki K., Nakahara H., Enomoto S., Ambe F. In vivo biological behavior of a water-miscible fullerene: 14C labeling, absorption, distribution, excretion and acute toxicity // *Chem Biol. Vol. 2, No. 6, pp. 385-389, 1995.*

THE CHANGES OF EEG POWER SPECTRA AFTER INTRAPERITONEAL INJECTION OF FLUORINE-CONTAINING C₆₀ FULLERENE DERIVATIVES

N.N. Karkischenko¹, D.S. Sakharov¹, A.A. Filippov², V.B. Sokolov²

¹Scientific center of biomedical technologies RAMS, Moscow

²Russian Research Center "Kurchatov Institute", Moscow

In the future fullerenes and their derivatives widely can be applied in the technician and medicine. We investigated influence of fluorine-containing C₆₀ fullerene derivatives (fullerenyles) upon a brain functional state of waking rats by spectral analysis of EEG method. The EEG was recorded within an hour after 3 minutes of the intraperitoneal injection of carbon nanoparticles in a dose of 100 mg/kg. In different experimental days we introduced one of the fullerenyles solved in a dimethylsulfoxide (C₆₀F₂₄, C₆₀F(NO₂)C₆₀F₄₈) or in a water (C₆₀F₃₆(NH₂)₁₂, C₆₀[FNC₅H₅]⁺F⁻). EEG data normalized to the background value or at influence of simple dimethylsulfoxide. It has been fined fullerenyles even after the intraperitoneal injection cross the blood-brain barrier and evoke relative long-term effect considerable change of a brain functional state for short time. These reactions are different and probably depend on physical and chemical properties of carbon nanoparticles. Results of each fullerenyles injection are discussed.

Key words: EEG power spectra, intraperitoneal injection, fluorine-containing C₆₀ fullerene derivatives, fullerenyles.