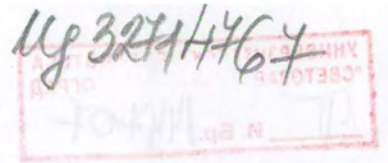


PA 19216



UNIVERZITET U BEOGRADU
BIOLOŠKI FAKULTET

Menitori:

Dr Lidija Radonović

Vanredni profesor Biološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu
Vini naučni saradnik IBSS-a

Dr Zlatko Pražić

Vini naučni saradnik IBSS-a

Mr Branka B. Janić

Dr Lidija Radonović

**UTICAJ PROMENLJIVOG MAGNETNOG POLJA NA MOTORNO
PONAŠANJE PACOVA U LABORATORIJSKIM USLOVIMA**

Vini naučni saradnik IBSS-a

-doktorska disertacija-

Beograd, 2007.



Beograd, 2007.

УНИВЕРЗИТЕТСКА БИБЛИОТЕКА
"СВЕТОЗАР" БЕОГРАД
И. Бр. 14707

UNIVERZITET U BEOGRADU
BIOLOŠKI FAKULTET

Mr Branka B. Janić

UTICAJ PROMENLJIVOG MAGNETNOG POLJA NA MOTORNO
PONAŠANJE PACOVA U LABORATORJSKIM USLOVIMA

-doktorska disertacija-



Beograd, 2007.

Mentori:

Dr Lidija Radenović,

*Vanredni profesor Biološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu,
Viši naučni saradnik IBISS-a*

Dr Zlatko Prolić,

Viši naučni saradnik IBISS-a

Članovi komisije:

Dr Lidija Radenović,

*Vanredni profesor Biološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu,
Viši naučni saradnik IBISS-a*

Dr Zlatko Prolić,

Viši naučni saradnik IBISS-a

Dr Mirko Tomić,

*Docent Biološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu,
Viši naučni saradnik IBISS-a*

Ova doktorska disertacija je urađena u okviru projekta «Uticaj magnetnih polja kao ekofiziološkog faktora na različite biološke sisteme i moguća primena u biomedicini», finansiranom od strane Ministarstva za nauku i zaštitu životne sredine Republike Srbije.

Ovom prilikom želim da se zahvalim mentorima i članovima komisije dr Lidiji Radenović, dr Zlatku Proliću i dr Mirku Tomiću na velikoj pomoći, značajnim i zanimljivim diskusijama i korisnim savetima koji su omogućili da ova disertacija dobije konačnu formu. Njihova podrška i razumevanje u svakoj fazi izrade ovog rada za mene su bili od izuzetnog značaja.

Koleginici dr Slavici Ristić veliko hvala na podršci, praktičnim savetima i dragocenoj pomoći u toku izvođenja eksperimentalnog dela ove disertacije.

Veliku zahvalnost dugujem dr Milanu Jokanoviću na ukazanom poverenju i spremnosti da pomogne u realizaciji doktorske disertacije.

Gordani Tovilović i Vladi Antoniću hvala na nesebičnoj pomoći u eksperimentalnom radu.

Najiskrenije se zahvaljujem Dajani Todorović na podršci u oblikovanju i konačnoj izradi ovog rada.

Veri Tucović dugujem veliku zahvalnost na pomoći u radu sa životinjama.

Dr Gordani Karteliji, dr Miodragu Nedeljkoviću, Ljiljani Nikolić i Snežani Rauš hvala na prijatnoj i opuštajućoj atmosferi u trenucima predaha.

Uticaj promenljivog magnetnog polja na motorno ponašanje pacova u laboratorijskim uslovima

Promenljiva magnetna polja (MP) širokog spektra frekvencija i intenziteta predmet su mnogobrojnih studija koje se bave ispitivanjem efekata ovih polja, kao ekofiziološkog faktora, na žive sisteme. Iako su brojne studije pokazale da promenljiva MP ekstremno niskih frekvencija (ENF) utiču na strukturu i funkciju centralnog nervnog sistema eksperimentalnih životinja i ljudi, mehanizmi veze između promena u putevima signalne transdukcije neurotransmiterskih sistema odgovornih za kontrolu motorne aktivnosti i promena u ponašanju još uvek nisu u potpunosti razjašnjena.

Cilj ovih istraživanja je ispitivanje efekata akutnog (1, 3 i 7 dana) i hroničnog (tokom celog života, od začeca do starosti od oko 3 meseca) izlaganja ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) na različite parametre motornog ponašanja (lokomocija, stereotipija, uspravljanje, rotacije i vreme mirovanja) pacova Wistar soja. Motorna aktivnost životinja je automatski registrovana, neposredno nakon prestanka izlaganja MP, uređajem Columbus Auto-Track Sistem («open field» test). Da bi se promene u motornoj aktivnosti izazvane MP učinile uočljivijim, praćen je i efekat ENF-MP na motorni odgovor životinja izazvan primenom neuroaktivne supstance i dopaminergičkog agoniste amfetamina (AMPH, 1.5 mg/kg, i.p.). S obzirom na ulogu dopamina i serotoninina u kontroli motornog ponašanja, analizirana je aktivnost receptora za dopamin (D_1 i D_2) u strijatumu i serotonin ($5-HT_{2A}$) u prefrontalnoj kori velikog mozga eksperimentalnih životinja izlaganih akutno i hronično ENF-MP, metodom *in vitro* vezivanja radioaktivnog liganda za receptor. Pored toga, primenom HPLC metode određena je koncentracija nukleotida (IMP, cAMP, ATP i GTP), koji na direktan i/ili indirektan način učestvuju u signalnoj transdukciji, u kori velikog mozga i strijatumu životinja akutno i hronično izlaganih ENF-MP.

Rezultati naših eksperimenata su pokazali da akutno izlaganje ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) u trajanju od jednog dana povećava lokomociju i stereotipiju i smanjuje uspravljanje i vreme mirovanja, dok tretman MP u trajanju od tri i sedam dana smanjuje uspravljanje eksperimentalnih životinja. S druge strane, hronično izlaganje ENF-MP povećava motornu aktivnost i smanjuje vreme mirovanja eksperimentalnih životinja, ukazujući na generalno ekscitatorni efekat MP na centralni nervni sistem. Akutni tretman ENF-MP smanjuje efikasnost AMPH da poveća lokomotorni i stereotipni odgovor nakon izlaganja tri i sedam dana, kao i rotacije nakon tretmana u trajanju od 7 dana, dok hronično izlaganje MP smanjuje samo uspravljanje životinja izazvano primenom AMPH. Afinitet $5-HT_{2A}$ receptora se smanjuje i

njihova gustina povećava u prefrontalnoj kori velikog mozga eksperimentalnih životinja pod uticajem akutnog tretmana ENF-MP. Hronično izlaganje ENF-MP povećava afinitet D_1 receptora u strijatumu i smanjuje afinitet $5-HT_{2A}$ receptora u prefrontalnoj kori velikog mozga eksperimentalnih životinja. Određivanjem koncentracije nukleotida je pokazano da se sadržaj cAMP smanjuje nakon akutnog izlaganja ENF-MP 3 i 7 dana, kao i sadržaj IMP nakon tretmana MP 7 dana u kori velikog mozga eksperimentalnih životinja. Pored toga, akutni tretman MP u trajanju od 1 i 3 dana stimuliše stvaranje ATP u kori velikog mozga životinja. Za razliku od akutnog tretmana, hronično izlaganje ENF-MP povećava koncentraciju cAMP u kori velikog mozga i strijatumu eksperimentalnih životinja.

Na osnovu dobijenih rezultata možemo zaključiti da spoljašnja ENF-MP modulišu motorno ponašanje eksperimentalnih životinja posredstvom direktnog i/ili indirektnog uticaja na sinaptičku neurotransmisiju u kori velikog mozga i strijatumu, pri čemu karakter ovih promena zavisi od dužine izlaganja MP.

Ključne reči: promenljiva MP; motorno ponašanje; AMPH, dopaminski D_1 i D_2 receptori; serotoniniski $5-HT_{2A}$ receptori; IMP; cAMP; ATP; GTP

Effect of an alternating magnetic field on motor behaviour of rats in laboratory conditions

Alternating magnetic fields (MF) of a broad spectrum of frequencies and intensities are the subject of many studies that investigate the effects of these fields as an ecophysiological factor on living systems. Although a great number of studies have shown that alternating MF of extremely low frequency (ELF) affect structure and function of the central nervous system of experimental animals and humans, mechanisms that connect the changes in signal transduction pathways of neurotransmitter systems involved in motor activity control and the changes in behaviour are not yet completely explained.

The purpose of the present studies is to examine the effects of acute (1, 3, and 7 days) and chronic (life-long, from conception to about 3 months old) exposure to ELF-MF (50 Hz, 0.5 mT) on different parameters of motor behaviour (locomotion, stereotypy, rearing, rotation, and resting time) of Wistar rats. Motor activity of animals is automatically registered, immediately after MF disappearance, by a Columbus Auto-Track System device ("open field" test). In order to make MF-induced changes in motor activity more obvious, the effect of ELF-MF on motor response of animals induced by application of neuroactive substance and dopaminergic agonist amphetamine (AMPH, 1.5 mg/kg, i.p.) is monitored. Having in mind the role of dopamine and serotonin in the control of motor behaviour, the activity of dopamine receptors (D₁ and D₂) in striatum, as well as serotonin receptors (5-HT_{2A}) in the prefrontal cortex of experimental animals acutely and chronically exposed to ELF-MF, are analysed by the *in vitro* radioligand receptor binding assay. In addition, concentrations of nucleotides (IMP, cAMP, ATP, and GTP) which directly and/or indirectly affect signal transduction, are determined by HPLC in the cortex and striatum of the animals acutely and chronically exposed to ELF-MF.

The results of our experiments have shown that acute exposure to ELF-MF (50 Hz, 0.5 mT) during one day increases locomotion and stereotypy, and decreases rearing and resting time, while an MF treatment of 3 and 7 days reduces rearing of experimental animals. On the other hand, chronic exposure to ELF-MF enhances motor activity and decreases resting time of the experimental animals, indicating a general excitatory effect of the MF on the central nervous system. Acute treatment with ELF-MF decreases the AMPH efficacy to increase locomotor and stereotypic response after the exposure of 3 and 7 days, as well as rotation after a 7 day treatment. Chronic exposure to MF decreases only the AMPH-induced rearing of animals. The affinity of 5-HT_{2A} receptors decreases and their density increases in the prefrontal cortex of

experimental animals under acute ELF-MF treatment. Chronic exposure to ELF-MF increases affinity of D₁ receptors in the striatum and decreases the affinity of the 5-HT_{2A} receptor in the prefrontal cortex. By determining the nucleotide concentration it was shown that the cAMP content is reduced after acute exposure to ELF-MF for 3 and 7 days, as well as the IMP content in the cortex of experimental animals after a 7 day MF treatment. In addition, an acute MF treatment of 1 and 3 days stimulates production of ATP in the cortex of the animals. In contrast to the acute treatment, chronic exposure to ELF-MF increases cAMP concentrations both in the cortex and striatum of experimental animals.

It can be concluded that an external ELF-MF modulates motor activity of experimental animals by exerting direct and/or indirect influence on synaptic neurotransmission in the cortex and striatum, with the character of these changes being dependent of the duration of MF exposure.

Keywords: *alternating MF; motor behaviour; AMPH; dopamine D₁ and D₂ receptors; serotonin 5-HT_{2A} receptors; IMP; cAMP; ATP; GTP*

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Izvori i karakteristike spoljašnjih magnetnih polja	1
<i>1.1.1. Principi magnetorecepcije</i>	6
1.2. Uticaj spoljašnjih magnetnih polja na orijentaciju i motorno ponašanje bioloških sistema različitog nivoa organizacije	10
<i>1.2.1. Evolutivno niži biološki sistemi</i>	10
<i>1.2.2. Evolutivno viši biološki sistemi</i>	12
1.3. Motorno ponašanje	14
<i>1.3.1. Anatomsko-funkcionalna osnova motornog ponašanja</i>	15
<i>1.3.2. Osnovni oblici motornog ponašanja</i>	19
<i>1.3.3. Primena magnetnih polja u terapiji motornih poremećaja kod ljudi</i>	21
2. CILJEVI RADA	23
3. MATERIJAL I METODE	24
3.1. Eksperimentalne životinje	24
3.2. Sistem za izlaganje promenljivom magnetnom polju	24
3.3. Registracija motorne aktivnosti	25
<i>3.3.1. Eksperimentalna procedura</i>	26
3.4. Metoda vezivanja radioaktivnog liganda do zasićenja receptora (saturaciono vezivanje)	27
<i>3.4.1. Analiza aktivnosti centralnih receptora za dopamin i serotonin</i>	28
3.5. Određivanje koncentracije nukleotida u izolovanim regionima mozga	30
<i>3.5.1. Hromatografska metoda i uslovi hromatografisanja</i>	31
3.6. Statistička analiza podataka	32
4. REZULTATI	34
4.1. Efekti promenljivog magnetnog polja na motorno ponašanje	34
4.2. Efekti promenljivog magnetnog polja na motorni odgovor izazvan primenom amfetamina (1.5 mg/kg, i.p.)	38
4.3. Efekti promenljivog magnetnog polja na aktivnost centralnih dopaminskih D₁ i D₂ i serotonininskih 5-HT_{2A} receptora	44
4.4. Efekti promenljivog magnetnog polja na koncentraciju nukleotida IMP, cAMP, ATP i GTP	47
4.5. Efekti hroničnog tretmana promenljivim magnetnim poljem na telesnu masu	53
5. DISKUSIJA	54
6. ZAKLJUČCI	67
7. LITERATURA	69

SKRAĆENICE

AMP	Adenozin 5'-monofosfat
AMPH	Amfetamin
ATP	Adenozin 5'-trifosfat
cAMP	Ciklični adenozin 5'-monofosfat
CNS	Centralni nervni sistem
ENF	Ekstremno niska frekvencija
GABA	γ -aminobuterna kiselina
GP	Globus palidus ili palidum
GPs	Spoljašnji ili lateralni palidum
GPu	Unutrašnji segment ili medijalni palidum
GTP	Guanozin 5'-trifosfat
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
i.p.	Intraperitonealno
IMP	Inozin 5'-monofosfat
MLR	Mezencefalični lokomotorni region
MP	Magnetno polje
PLS	Pontomedularni lokomotorni snop
PPN	Pedunkulopontinsko tegmentalno jedro
rTMS	Repetitivna transkranijalna magnetna stimulacija
SLR	Subtalamični lokomotorni region
SN	Supstancija nigra
SNc	Supstancija nigra pars kompakta
SNr	Supstancija nigra pars retikulata
TMS	Transkranijalna magnetna stimulacija
VA	Ventralno prednje jedro talamusa
VL	Ventralno lateralno jedro talamusa
VTA	Ventralna tegmentalna oblast

1. UVOD

Magnetna polja (MP) različitih karakteristika stalno su prisutna u sredini u kojoj živimo i radimo, pa se može pretpostaviti da kao takva i utiču na sve biološke sisteme. Pored prirodnih MP, u čijem prisustvu se razvio živi svet, poslednjih godina se susrećemo sa problemom sve češće pojave «veštačkih» MP. Među njima su i promenljiva MP ekstremno niske frekvencije (ENF) poreklom od kućnih aparata, električnih vodova, saobraćajnih sredstava do različitih industrijskih tehnologija. Zbog toga je pažnja velikog broja istraživača usmerena na ispitivanje bioloških efekata ovih polja, i to njihovih štetnih uticaja kao sredinskog faktora, ali i mogućih korisnih svojstava koja bi mogla imati u medicini i biologiji.

1.1. Izvori i karakteristike spoljašnjih magnetnih polja

Elektromagnetni spektar obuhvata frekvencije od ekstremno niskih (0 – 300 Hz) do gama zraka (tabela 1).

Tabela 1. Prikaz elektromagnetnog spektra

Kategorija polja	Frekvencija (ν) (Hz)	Talasna dužina (λ) (m)	Energija (E)	
			(eV)	(J)
Konstantno	0			
Kvazi - statičko	30	1×10^7	1.24×10^{-13}	1.99×10^{-32}
Ekstremno nisko frekventno	300	1×10^6	1.24×10^{-12}	1.99×10^{-31}
	3×10^3	1×10^5	1.24×10^{-11}	1.99×10^{-30}
Veoma nisko frekventno	VNF			
	30×10^3	1×10^4	1.24×10^{-10}	1.99×10^{-29}
Nisko frekventno	NF			
	300×10^3	1×10^3	1.24×10^{-9}	1.99×10^{-28}
Srednje frekventno	SF			
	3×10^6	1×10^2	1.24×10^{-8}	1.99×10^{-27}
Visoko frekventno	VF			
	30×10^6	1×10^1	1.24×10^{-7}	1.99×10^{-26}
Veoma visoko frekventno	VVF			
	300×10^6	1	1.24×10^{-6}	1.99×10^{-25}
Ultra visoko frekventno	UVF			
	3×10^9	1×10^{-1}	1.24×10^{-5}	1.99×10^{-24}
Super visoko frekventno	SVF			
	30×10^9	1×10^{-2}	1.24×10^{-4}	1.99×10^{-23}
Ekstremno visoko frekventno	EVF			
	300×10^9	1×10^{-3}	1.24×10^{-3}	1.99×10^{-22}
Infracrveni zraci	IC			
	300×10^{12}	1×10^{-6}	1.24	1.99×10^{-19}
Vidljivi zraci				
Ultraljubičasti zraci	UV			
	3×10^{15}	1×10^{-7}	1.24×10^1	1.99×10^{-18}
	30×10^{15}	1×10^{-8}	1.24×10^2	1.99×10^{-17}
Meki X zraci				
	300×10^{15}	1×10^{-9}	1.24×10^3	1.99×10^{-16}
	3×10^{18}	1×10^{-10}	1.24×10^4	1.99×10^{-15}
Tvrđi X zraci				
	30×10^{18}	1×10^{-11}	1.24×10^5	1.99×10^{-14}
Gama zraci				
	300×10^{18}	1×10^{-12}	1.24×10^6	1.99×10^{-13}

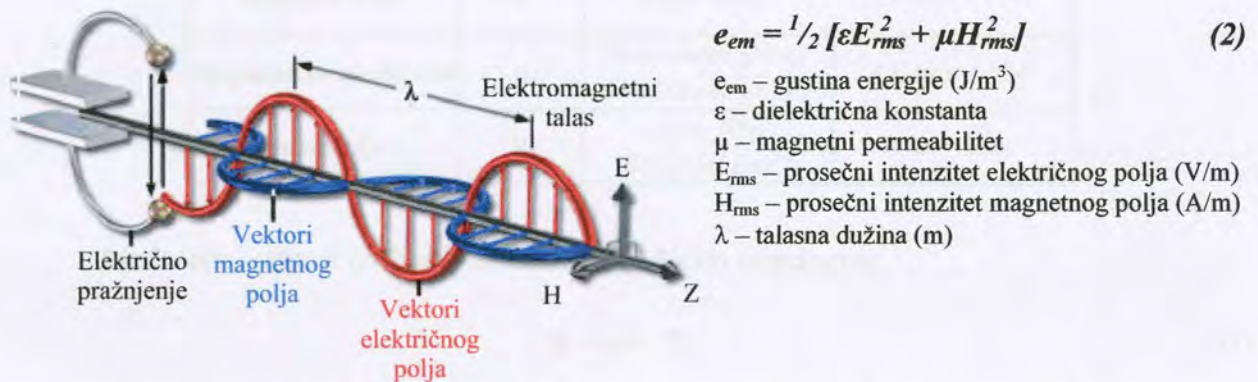
Kao što se može videti iz tabele 1., sa povećanjem frekvencije povećava se i energija emitujućeg zračenja, što je u skladu sa relacijom:

$$E = h\nu (J)$$



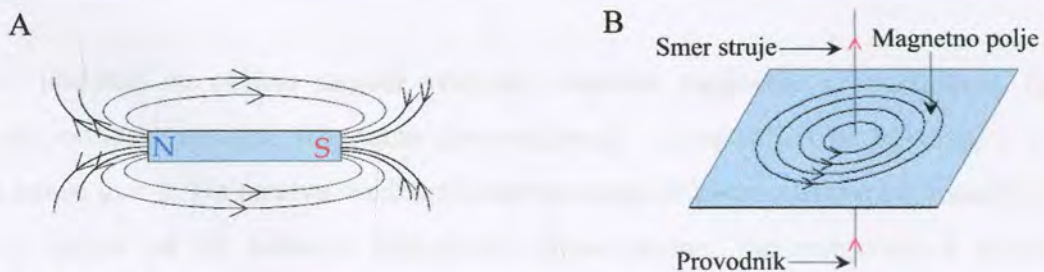
Energija (E) se izražava u džulima (J) ili elektronVoltima (eV), pri čemu je $1 \text{ J} = 6.24 \times 10^{18} \text{ eV}$, h označava Plankovu konstantu koja iznosi $6.624 \times 10^{-34} \text{ Jsec}$, a ν frekvenciju u hercima (Hz).

Elektromagnetni talasi veoma velike energije, označeni i kao jonizujuće zračenje, imaju dovoljno energije da prouzrokuju promene na nivou molekula izazivajući jonizaciju. Ostali oblici elektromagnetnih talasa (ENF-MP) nemaju dovoljno energije da bi prouzrokovali stvaranje jona pa se često zovu nejonizujuće zračenje. U delu spektra iznad 100 kHz, efekti električnih i magnetnih polja se obično analiziraju zajedno kao elektromagnetna polja i u skladu sa osnovnom Maksvelovom jednačinom propagirajućeg polja (slika 1). Međutim, u delu spektra ispod 100 kHz, električna i magnetna polja se posmatraju kao odvojena i spora vremenski – varirajuća polja (Deno i Carpenter, 1994).



Slika 1. Prostiranje elektromagnetnog talasa (<http://micro.magnet.fsu.edu/primer/java/polarizedlight/emwave/>)

Uvođenjem koncepta linija sile, Faradej je uspeo vizuelno da opiše MP i njegove osobine. U slučaju magnetne šipke, sa severnim polom na jednom kraju i južnim na drugom, linije sile počinju iz severnog pola magneta i prateći manje ili više zakrivljeni put vraćaju se u južni pol (slika 2A). Kada je u pitanju naelektrisanje u kretanju ili provodnik u kojem teče električna struja, linije sile zatvaraju krugove sa naelektrisanjem ili provodnikom kao centrom (slika 2B).



Slika 2. Oblici linija sile MP

A – magnetna šipka (<http://www.gcsechemistry.com/Magnetic-Field-Bar-Magnet.gif>)

B – provodnik (<http://www.gcsechemistry.com/Magnetic-Field-Current-Wire.gif>)

Pored prirodnih magneta, koji su rezultat posebno uređenih atoma u strukturi materije, postoje i veštački magneti. Magnetna polja mogu biti konstantna i promenljiva, u zavisnosti da li nastaju pod dejstvom jednosmerne struje ili struje promenljivog smera. Veličine koje ih definišu navedene su u tabeli 2.

Tabela 2. Veličine koje opisuju MP i njihove jedinice. * – jedinice koje nisu po SI sistemu ili međunarodnom sistemu jedinica. Jedinica za magnetnu indukciju tesla (T) je proglašena 27. juna 1956. godine od strane Međunarodne elektrotehničke komisije. Ime je dobila u čast Nikole Tesle, naučnika čiji je rad na elektromagnetnoj indukciji doveo do stvaranja prvih generatora i motora koji koriste naizmeničnu ili promenljivu struju.

VELIČINA	OZNAKA	JEDINICA
Magnetna indukcija	B	<i>Gaus (G)*</i> <i>Tesla (T)</i> $1 G = 10^{-4} T$
Intenzitet MP	H	<i>Amper/metar (A/m)</i> <i>Ersted (Oe)*</i> $1 A/m = 0.01256 Oe$
Magnetni fluks	Φ	<i>Veber (Wb)</i> $1 Wb = T \times m^2$
Magnetna propustljivost	μ	<i>Henri/metar (H/m)</i> <i>Njutn/Amper² (N/A²)</i> $1 H/m = 1 N/A^2$
Frekvencija	ν	<i>Herc (Hz)</i> <i>Sekunda⁻¹ (sec⁻¹)</i> $1 Hz = 1 sec^{-1}$

Međusobni odnosi ovih veličina dati su sledećim relacijama:

$$B = \mu H (T) \quad (3)$$

$$\Phi = SB (Wb) \quad (4)$$

gde S označava jedinicu površine u m^2 . Apsolutna magnetna propustljivost (μ) je osobina materijala i u opštem slučaju iznosi:

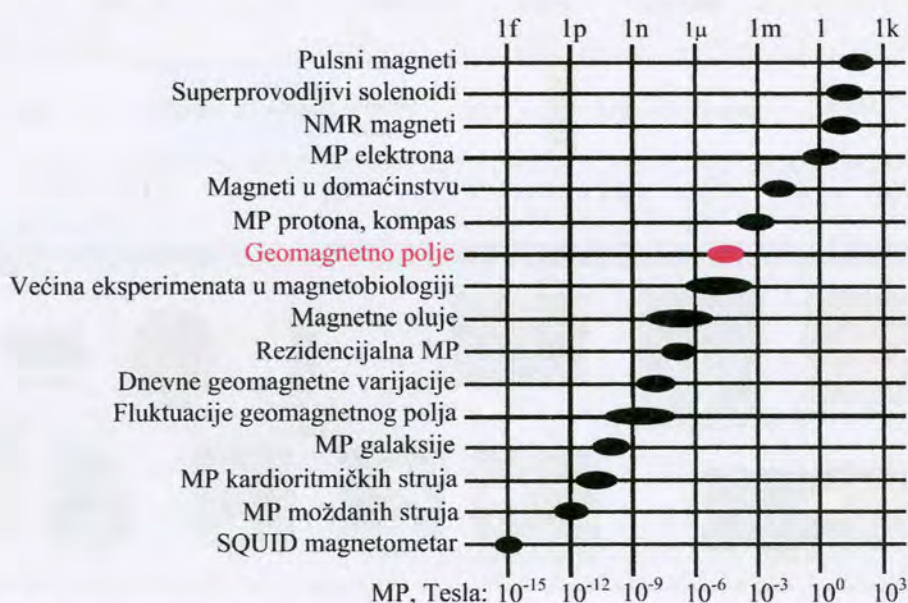
$$\mu = \mu_0 (1 + \chi_m) (H/m) \quad (5)$$

Konstantna μ_0 predstavlja propustljivost vakuma i njena vrednost iznosi $\mu_0 = 4\pi \times 10^{-7} H/m$. Magnetna osetljivost materijala (χ_m) je pokazatelj stepena magnetizacije materijala u odgovoru na MP.

U literaturi se obično navodi vrednost relativne magnetne propustljivosti (μ_r), koja predstavlja odnos apsolutne magnetne propustljivosti i propustljivosti vakuma, i u slučaju vakuma iznosi $\mu_r = 1$. Na osnovu vrednosti relativne magnetne propustljivosti, materije se mogu svrstati u jednu od tri osnovne kategorije: *dijamagnetne*, *paramagnetne* i *feromagnetne supstance*. *Dijamagnetne supstance*, kao što je većina organskih i neorganskih jedinjenja osim slobodnih radikala i jedinjenja prelaznih elemenata, imaju relativnu magnetnu propustljivost

neznatno nižu od jedinice. Za razliku od njih, *paramagnetne supstance*, kao što su soli, slobodni radikali i izvesni kompleksi prelaznih elemenata, imaju relativnu magnetnu propustljivost neznatno višu od jedinice. *Feromagnetne supstance*, u koje spadaju gvožđe, kobalt, nikl, i neke legure, su posebne u smislu da njihova relativna magnetna propustljivost može dostići vrednosti do 25.000.

Magnetno svojstvo Zemlje kao planete potiče od dinamičnih procesa jonizovanih delova jezgra i prisutno je u evoluciji Zemlje od samog njenog nastanka. Geomagnetno polje je orijentisano kao magnetna šipka sa dva pola, mada polovi ne odgovaraju geografskom severnom i južnom polu. Ovo polje je relativno konstantno i kreće se u opsegu od 20 – 50 μT , a na polovima i do 70 μT (slika 3).



Slika 3. Nivo geomagnetnog polja u odnosu na različite izvore prirodnog i veštačkog porekla (Binhi, 2002)

Geomagnetno polje je pod direktnim uticajem kosmičkih polja, koja prvenstveno potiču od Sunca, i koja modulišu prirodnu geomagnetnu aktivnost posebno za vreme Sunčevih oluja. Poznato je da je u toku proteklih 70 miliona godina MP Zemlje okrenulo polaritet najmanje 10 puta. U toku ovog perioda, intenzitet geomagnetnog polja se menjao periodično tj. pravilno ili nepravilno, kao rezultat interakcije unutrašnjih promena u Zemljinom jezgru i Sunčeve aktivnosti (Deno i Carpenter, 1994).

Pravilne promene geomagnetnog polja koje zovemo **varijacije** mogu biti dnevne, godišnje, 11-to godišnje i vekovne, i u pogledu frekvencija nalaze se na samom dnu elektromagnetnog spektra. Dnevne varijacije su u vezi sa dnevnim prividnim kretanjem Sunca i

ova kolebanja su veća leti nego zimi. Jedanaestogodišnja periodičnost pokazuje vezu sa pojavom periodičnosti Sunčevih pega, koja dostiže maksimum svakih 11.8 godina. Nepravilne promene geomagnetnog polja ili magnetne **perturbacije** se dešavaju iznenada kao posledica poremećaja Sunčeve aktivnosti, vulkanskih erupcija ili zemljotresa. Ove promene su često viših frekvencija sve do nivoa mili- i mikrosekundi, i intenziteta koji karakterišu mirnu, odnosno burnu geomagnetnu aktivnost.

Pored prirodnih MP, na koje organizmi postaju prilagođeni tokom svoje evolucije, danas evoluciju živog sveta opterećuje prisustvo dodatnih MP poreklom od izvora koje je stvorio čovek i čiji je intenzitet znatno veći u odnosu na polja prirodnog porekla (slika 4).



Slika 4. Tip talasa, frekvencija i talasna dužina različitih izvora

http://science.uniserve.edu.au/school/curric/stage6/phys/communicates/Student_section/student_physics/physics_spectrum1.htm

Prisustvo ovih polja utiče na vrednost specifične apsorbovane doze elektromagnetnog zračenja (**SAR**), koja predstavlja količinu apsorbovane energije od strane biološkog sistema po jedinici mase.

$$SAR = 4186 \frac{C_H \Delta T}{t} (W/kg) \quad (6)$$

C_H je specifični toplotni kapacitet tkiva (kcal/kg°C), 4186 je konverzioni faktor kcal u J, ΔT je povećanje temperature u °C i t je vreme izlaganja u sec.

1.1.1. Principi magnetorepcije

Eksperimenti u kojima se prati ponašanje životinja pokazali su da različite vrste organizama koriste MP Zemlje kao način za prostornu orijentaciju u toku migriranja, povratka na stanište ili kretanja oko svojih staništa, što je od posebnog značaja u uslovima smanjene vidljivosti (Wiltschko i Wiltschko, 1995a). Relativno malo se zna o fiziološkim mehanizmima koji su u osnovi ove senzorne sposobnosti. Do sada su iznete brojne hipoteze o mogućim mehanizmima magnetorepcije među kojima su i one bazirane na **elektromagnetnoj indukciji** (Kalmijn, 1974; Rosenblum i sar., 1985; Paulin, 1995), **hemijskim reakcijama** (Schulden i Windemuth, 1986; Ritz i sar., 2000), postojanju **magnetita** ili **magnetoreceptora** (Kirschvink i Gould, 1981; Kirschvink i sar., 1985; Shcherbakov i Winklhofer, 1999). Međutim, još uvek ima malo direktnih neurobioloških i anatomskih dokaza koji bi podržali bilo koji od predloženih mehanizama. Činjenica je da MP slobodno prolaze kroz biološko tkivo, tako da magnetoreceptori ne moraju biti u kontaktu sa spoljašnjom sredinom, već bilo gde unutar tela životinje. Pored toga, magnetoreceptori mogu biti sićušni i razbacani unutar velike zapremine tkiva (Kirschvink, 1982) ili se proces prenosa informacije o MP sastoji od niza hemijskih reakcija (Schulden i Windemuth, 1986), pa nema potrebe za postojanjem jasne strukture ili organa odgovornog za magnetorepciju.

Princip poznat kao elektromagnetna indukcija iskorišćen je za objašnjenje sposobnosti vrlo aktivnih vrsta kao što su ajkule i raže da oseću MP Zemlje (Kalmijn, 1974). U skladu sa ovom hipotezom, strukture ribe poznate kao ampule Lorencini funkcionišu kao provodljiva tela, a okolna morska voda kao nepokretna provodljiva sredina. Visoko otporni i osetljivi elektrosenzorni receptori koji postoje kod ovih riba registruju promenu napona indukovane struje. Iako ova hipoteza nije direktno dokazana, za raže i ajkule je već pokazano da poseduju visoko osetljivi električni organ kojim otkrivaju slaba električna polja poreklom od tkiva plena (Kalmijn, 1971). Osetljivost ovog elektrosenzornog sistema je dovoljna da omogući osećanje MP Zemlje (Kalmijn, 1988). Pošto vazduh nije visoko provodljiva sredina kao morska voda, ptice i druge kopnene životinje ne mogu ostvariti magnetorepciju putem indukcije na način koji je predložen kod morskih riba.

Drugi mogući mehanizam magnetorepcije predviđa hemijske reakcije koje su modulirane MP jačine kao što je Zemljino. Model parova radikala koji su predložili Schulden i Windemuth (1986), a kasnije do detalja razradili Ritz i sar. (2000), pretpostavlja «hemijski kompas» zasnovan na specifičnoj interakciji parova radikala sa okolnim MP. Smatra se da u

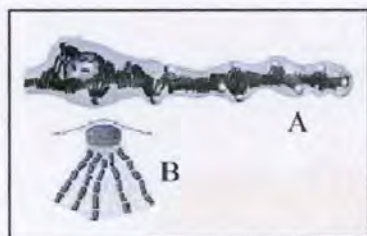
ovim procesima važnu ulogu imaju fotopigmenti, a dokazi o vezi između magnetorecepcije i vizuelnog sistema dobijeni su kod ptica i vodozemaca (Phillips i Borland, 1992a,b; Phillips i sar., 2001; Wiltschko i Wiltschko, 2001). Elektrofiziološki zapisi registrovani kod golubova ukazuju da se informacija o MP obrađuje u delovima vizuelnog sistema (Semm i sar., 1984; Semm i Demaine, 1986). Rezultati su u skladu sa pretpostavkama modela pošto su zapaženi samo u prisustvu svetlosti i izgleda da vode poreklo iz retine, jer zahtevaju neoštećenu retinu i optički nerv. Interesantan nalaz nedavnih istraživanja da je magnetorecepcija kod ptica ograničena na desno oko ukazuje da se, zbog veoma malo veza između dve hemisfere mozga, informacija o MP obrađuje isključivo u levoj hemisferi mozga (Wiltschko i sar., 2002, 2003). Kod daždevnjaka je pokazano da su receptori za MP smešteni u pinealnoj žlezdi, starom trećem oku kičmenjaka, koja je direktno osetljiva na svetlost (Deutschlander i sar., 1999b; Phillips i sar., 2001).

Još od ranije je poznata veza između magnetorecepcije i pinealne žlezde kod različitih životinja, kao i da izlaganje različitim tipovima MP modifikuje stvaranje melatonina (Semm i sar., 1980; Demaine i Semm, 1985; Reiter, 1993; Deutschlander i sar., 1999a). Osetljivost pinealne žlezde sisara na veštačko MP je pokazana kod zamorca čije pinealocite menjaju stopu «aktiviranja» kada se poremeti veštačko MP kojem su izložene (Semm i sar., 1980). Elektrofiziološki zapisi dobijeni iz pinealnih ćelija golubova takođe su otkrili ćelije koje odgovaraju na postepene promene MP jačine kao što je Zemljino (Demaine i Semm, 1985). Ovi odgovori su smanjeni, ali ne i ukinuti kada su optički nervi i drugi izvori ulaza u pinealnu žlezdu oštećeni. Reuss i sar. (1983) su našli da se i električna aktivnost ćelija pinealne žlezde pacova menja kada je obrnuta horizontalna komponenta okolnog MP. U isto vreme su se pojavila i prva dva saopštenja koja su pokazala da cirkadijalno stvaranje melatonina od strane pinealne žlezde pacova može biti sprečeno izlaganjem životinja izmenjenom geomagnetnom polju (Semm, 1983; Welker i sar., 1983).

Otkriće da su kristali magnetita (Fe_3O_4) odgovorni za sposobnost magnetotaktičnih bakterija da plivaju duž linija MP (Blakemore i Frankel, 1981), navelo je istraživače na traženje biogenih magnetita kod različitih životinja. Pored bakterija, biogeni magnetiti su otkriveni kod medonosnih pčela, morskih kornjača, ptica i brojnih drugih vrsta koje se orijentišu uz pomoć MP Zemlje (Kirschvink i sar., 1985). Većina magnetita izolovanih iz životinja bila je kao kod magnetotaktičnih bakterija u obliku kristala pojedinačnog domena (Kirschvink i Gould, 1981). Magnetni kristali pojedinačnog domena ponašaju se kao stalno namagnetisani magnetni štapovi i postavljaju se u liniju sa MP Zemlje, ako im je dopušteno da slobodno rotiraju. Ovi kristali bi mogli da prenose informaciju o geomagnetnom polju do nervnog sistema na nekoliko različitih

načina (Presti i Pettigrew, 1980; Kirschvink i Gould, 1981). Jedna mogućnost je da kristali vrše pritisak na sekundarne receptore, kao što su elastične ćelije, ćelije dlake ili mehanoreceptori, pošto pokušavaju da se postave u pravu liniju sa geomagnetnim poljem. Drugi način je da kretanje unutarćelijskih kristala dovodi do direktnog otvaranja jonskih kanala ako npr. filamenta citoskeleta povezuju kristale sa kanalima. Kod nekih životinja kristali magnetita su u obliku superparamagnetnih čestica, koje su manje u odnosu na čestice pojedinačnog domena i imaju različite magnetne osobine (Kirschvink i Gould, 1981; Shcherbakov i Winklhofer, 1999).

Da bi funkcionisali kao magnetoreceptori, kristali magnetita moraju biti u vezi sa nervnim sistemom. Istraživanja Walker i sar. (1997) su pokazala da ćelije u mirisnom organu pastrmke koje sadrže magnetit funkcionišu kao magnetoreceptori i da šalju informaciju o MP u mozak posredstvom trigeminalnog nerva. Do sličnih rezultata došlo se i u eksperimentima sa pticama. Kod njih je magnetni materijal koji se smatra magnetitom otkriven u gornjem kljunu (Beason i Nichols, 1984; Beason i Brennan, 1986), a region koji sadrži magnetit inerviše oftalamična grana trigeminalnog nerva (slika 5; Semm i Beason, 1990).



Slika 5. Shematska rekonstrukcija struktura nađenih u gornjem kljunu golubova (Fleissner i sar., 2003)

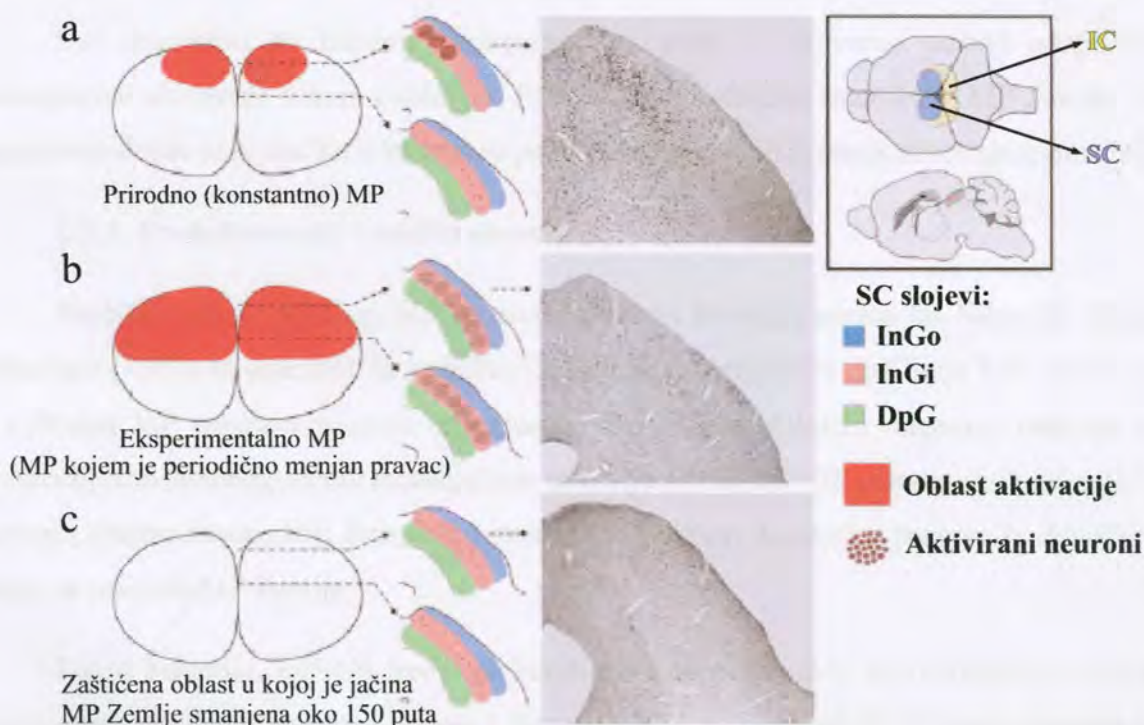
- A – terminalni region nerva koji sadrži osnovu od pločica gvožđa i brojne sferule superparamagnetnih čestica magnetita
- B – sferule superparamagnetnih čestica i strukture koje ih okružuju

Dodatni dokazi o ulozi magnetita u magnetorecepciji potiču iz eksperimenata sa pulsnom magnetizacijom, u kojima se snažno MP veoma kratkog trajanja koristi za promenu pravca magnetizacije magnetnih čestica pojedinačnog domena (Kalmijn i Blakemore, 1978). Ova procedura može da promeni ili uništi magnetorecepciju zasnovanu na magnetitima i na taj način promeni ponašanje životinja koje koriste ove receptore da bi od geomagnetnog polja dobile informaciju o smeru ili poziciji (Wiltschko i sar., 1994; Wiltschko i Wiltschko, 1995b; Beason i sar., 1997).

Biološki smisao postojanja više mehanizama magnetorecepcije je u prikupljanju različitih tipova informacija. Osnovna razlika između navedenih mehanizama je u osetljivosti na promene MP Zemlje. Za razliku od elektromagnetne indukcije i hemijskih reakcija, receptori bazirani na magnetitima su najosetljiviji i reaguju na izuzetno male promene MP (Yorke, 1981). Tako npr. ptice posredstvom ovih receptora smeštenih u gornjem kljunu registruju razlike u intenzitetu MP,

dok mehanizam parova radikala u desnom oku daje informaciju o pravcu MP. Zbog toga se za ptice kaže da imaju kompas u oku i magnetometar u kljunu.

Istraživanja kod glodara, u kojima je imunocitohemijski obeležavan transkripcioni regulatorni protein c-Fos, su identifikovala superior kolikule ili gornje mezencefalične kvržice kao mesto neuronalne aktivnosti izazvane magnetnom stimulacijom (slika 6; Nėmec i sar., 2001). Poreklo ove aktivnosti je nepoznato, ali izgleda da uključuje receptore bazirane na magnetitu, što je i pokazano posredstvom pulsog efekta. Superior kolikuli su poznati senzomotorni integratori koji imaju važnu ulogu u orijentaciji na različite stimulse (Dean i sar., 1989; Stein, 1998). Jedinstvena unutrašnja kōla superior kolikula mogu da služe integraciji magnetne informacije sa multimodalnom senzornom i motornom informacijom. Na taj način, magnetni stimulusi mogu direktno izazvati orijentacioni odgovor putem pokretanja aktivnosti premotornih eferentnih kolikularnih puteva.



Slika 6. Imunocitohemijsko obeležavanje transkripcionog regulatornog proteina c-Fos u superior kolikulima (SC) glodara (*Cryptomys anelli*) kao odgovor na prisustvo «magnetnog kompasu» (Nėmec i sar., 2005). Shematski prikazi (a – c) pokazuju ekspresiju c-Fos proteina u SC glodara koji se gnezde u nefamilijarnoj sredini izloženoj različitim eksperimentalnim uslovima. Na levoj strani su prikazane oblasti aktivacije određene posredstvom obeležavanja c-Fos proteina i relativna jačina c-Fos obeležavanja (broj c-Fos pozitivnih neurona). U sredini je prikazana ekspresija c-Fos proteina viđena na presecima kroz rostralni SC. Na desnoj strani je shema koja pokazuje položaj SC u mozgu glodara. DpG – duboki sivi sloj, IC – inferior kolikuli, InGi – unutrašnji podsloj intermedijernog sivog sloja i InGo – spoljašnji podsloj intermedijernog sivog sloja. Glodari koji su koristili MP za određivanje položaja gnezda u novoj sredini imali su povećanu ekspresiju c-Fos proteina u specifičnim regionima SC u odnosu na glodare koji su izvršavali isti zadatak u zaštićenoj sredini u kojoj je jačina MP Zemlje smanjena oko 150 puta. Pored toga, ekspresija c-Fos proteina u SC je bila više lokalizovana kod glodara koji su pravili gnezda u konstantnom MP, u odnosu na one koji su tokom pravljenja gnezda bili izloženi promenljivoj MP jačine kao što je Zemljino i čiji je pravac više puta okrenut za 120° (magnetni sever je pomeran od 360° do 240° i nazad).

Rezultati studija koje su uradili Kirschvink i sar. (1992) i nešto kasnije Schultheiss-Grassi i Dobson (1999) pokazali su prisustvo feromagnetnog materijala u različitim tkivima mozga ljudi. Identifikovani su minerali iz familije magnetit (Fe_3O_4) – maghemit (Fe_2O_3), čija je morfologija i struktura kristala slična mineralima nađenim kod magnetotaktičnih bakterija i riba. Korišćenjem različitih tehnika procenjeno je prisustvo minimum 5 miliona kristala pojedinačnog domena po gramu za većinu moždanog tkiva i > 100 miliona kristala po gramu za moždane ovojnice (*pia* i *dura mater*), raspoređenih u grupama od 50 do 100 čestica (Kirschvink i sar., 1992). Iako su kod većine organizama ove magnetne čestice odgovorne za magnetorecepciju, biogeni magnetit i/ili maghemit prisutan u mozgu ljudi verovatno nije povezan samo sa sposobnošću da oseće geomagnetno polje (Schultheiss-Grassi i Dobson, 1999).

1.2. Uticaj spoljašnjih magnetnih polja na orijentaciju i motorno ponašanje bioloških sistema različitog nivoa organizacije

Svi organizmi su izloženi geomagnetnom polju i verovatno postoji adaptacija na geomagnetno okruženje tokom evolucije. Jedan od prvih dokaza interakcije MP Zemlje i živih organizama došao je iz studija u kojima se pratila orijentacija ili kretanje životinja u prostoru.

1.2.1. Evolutivno niži biološki sistemi

Najbolji dokaz za uticaj MP na smer kretanja životinja potiče od bakterija. Frankel i Blakemore (1989) su pokazali da se bakterije orijentišu i migriraju duž linija MP Zemlje, kao i da veštačka MP menjaju njihovu orijentaciju. Ovi magnetotaktični odgovori bazirani su na unutarćelijskim feromagnetnim materijalima sastavljenim od 20 – 25 pojedinačnih kristala Fe_3O_4 nazvanih magnetozomi, koji čine ćeliju stalnim magnetnim dipolom i pasivno je dovode u isti pravac sa smerom MP Zemlje.

Pored bakterija, različiti tipovi elektromagnetnih polja utiču na fiziologiju, ponašanje i lokomotornu aktivnost protozoa. Rosen i Rosen (1990) su pokazali da izlaganje paramecijuma (*Paramecium*) relativno jakom konstantnom MP (0.126 T) dovodi do smanjenja i narušavanja kretanja, koje je posledica promena u jonskoj ravnoteži. Pored toga, slabo (0.5 mT) horizontalno MP remeti pokretljivost i prostornu orijentaciju flagelata *Volvox aureus* (Palmer, 1963).

U seriji studija, Brown (1962, 1966, 1971) i Brown i Park (1965a,b) su ispitivali efekte MP na orijentaciju negativno fototaksičnih planarija (*Dugesia dortocephala*) od izvora svetlosti. Pokazano je da planarije odgovaraju na horizontalnu komponentu MP, pri čemu poništavanje i

menjanje MP (0.005 – 0.4 mT) menja smer kojim se planarija kreće od izvora svetlosti. Takođe, očigledan je i kasniji efekat MP na orijentaciju prisutan u toku 20 – 30 min nakon što je stimulus uklonjen. Pored toga, Brown i Park (1965a,b) su pokazali da postoje mesečne i sezonske promene odgovora planarije na MP.

Za kišne gliste (*Lumbricus terrestris*) je pokazano da ispoljavaju relativno dobro definisane ritmične aktivnosti i reflekse sklanjanja od svetlosti. Kišne gliste održavane u prisustvu MP Zemlje pokazuju dnevnu ritmičnu osetljivost na svetlost, sklanjajući se brže noću nego u toku dana (Bennett i Huguenin, 1969). Međutim, ovaj odgovor izostaje kada se neutralizuje MP Zemlje.

Račić *Talitrus saltator* se orijentiše u potpunom mraku uz pomoć MP Zemlje, skakanjem u smeru koji je paralelan liniji obale iz koje dolaze (Arendse, 1978). Poništavanje lokalnog geomagnetnog polja primenom Helmholtzovih kalemova ima za posledicu nasumičnu orijentaciju ovih rakova. Međutim, kada je prirodno polje kompenzovano i pomereno, životinje su se orijentisale prema veštačkom polju (Arendse i Kruyswijk, 1981). Slični odgovori u pogledu orijentacije na prirodna i izmenjena MP nađeni su kod noćne amfipode (*Orchestia cavimana*) i morskog raka (*Panulirus argus*) (Arendse i Barendregt, 1981; Lohmann, 1985).

Efekti MP na ponašanje pokazani su u mnogo više detalja kod medonosne pčele (*Apis mellifera*) nego kod bilo koje druge vrste (Towne i Gould, 1985). Za pčele je poznato da koriste male pravilne dnevne cikluse u jačini MP Zemlje za orijentaciju u vremenu. Na osnovu toga, one mogu biti obučene da dođu do izvora hrane u određeno vreme. Martin i Lindauer (1977) su našli da stavljanje košnice u polje koje je 10 puta jače od normalnog eliminiše ovaj osećaj kod pčela. U seriji eksperimenata Walker i Bitterman (1985, 1989a,b,c) su demonstrirali sposobnost pčela da osete i odgovore na ekstremno male promene intenziteta MP, za šta je neophodno da se kreću (Walker i sar., 1989). Pored pčela, i kod drugih vrsta insekata je pokazan uticaj MP na ponašanje i orijentaciju (Picton, 1966; Baker i Mather, 1982; Baker, 1987; Rickli i Leuthold, 1988). U laboratorijskim uslovima, Prolić i sar. (2003) su pokazali da izlaganje ENF-MP (50 Hz, 2 mT) utiče na motornu aktivnost mužjaka i ženki strižibube (*Morimus funereus*).

Veliki broj podataka ukazuje da gastropode koriste geomagnetno polje za orijentaciju. Tako su Brown i Webb (1960) i Brown i sar. (1960) pokazali da puž (*Nassarius obsoletus*) pravi razliku između dva slaba MP, ali i da pokazuje dnevne i mesečne ritmove orijentacije. Rezultati istraživanja na vodenom pužu (*Helisoma duryi endiscus*) takođe su potvrdili nalaze koji ukazuju na mesečne promene u efektima MP (0.025 – 1 mT) na orijentaciju i aktivnost (Gottlieb i

Caldwell, 1967). Lohmann i Willows (1987) su pokazali da morski mekušac (*Tritonia diomedea*) pokazuje ciljanu orijentaciju tela kada se testira u uslovima MP Zemlje, a da poništavanje horizontalne komponente geomagnetnog polja ima za posledicu njegovu nasumičnu orijentaciju.

1.2.2. Evolutivno viši biološki sistemi

Nalazi do kojih se došlo u mnogim studija nedvosmisleno ukazuju na sposobnost riba da osete i odgovore na magnetne stimuluse. Tako se aktivnost evropskih jegulja (*Anguilla anguilla*) i atlantskog lososa (*Salmo salar*) povećava kao odgovor na povećanje MP (Branover i sar., 1971; Varanelli i McCleave, 1974; Smith, 1985). U drugim studijama, tune (*Thunnus albacares*) se pojedinačno obučavaju da prave razliku između dva intenziteta geomagnetnog polja (Walker, 1984). Za razliku od ovih pozitivnih rezultata, dnevno-noćni ritmovi lokomotorne aktivnosti odraslih jedinki atlantskog lososa (*Salmo salar*) i američkih jegulja (*Anguilla rostrata*) nisu podložni promenama pod uticajem slabih MP (Richardson i sar., 1976). Iako su raniji nalazi ukazali na osetljivost zlatnih ribica (*Carassius auratus*) na MP, Walker i Bitterman (1986) nisu bili u mogućnosti da pokažu bilo kakav odgovor ovih riba na MP.

Vodozemci su takođe osetljivi na magnetne stimuluse i mogu koristiti MP Zemlje kao signal za orijentaciju i navigaciju. Prvi neposredni dokaz orijentacije vodozemaca uz pomoć MP Zemlje dobijen je od pećinskog daždevnjaka (*Eurycea lucifuga*) (Phillips, 1977). Ovaj daždevnjak, koji živi u neosvetljenim pećinskim sredinama, oseća MP Zemlje i pokazuje naučeni usmereni odgovor koristeći geomagnetno polje kao signal za orijentaciju. Najdetaljnija informacija o ulozi MP u procesima orijentacije i navigacije vodozemaca potiče iz istraživanja daždevnjaka koji naseljava istočne oblasti Amerike (*Notophthalmus viridescens*) (Phillips, 1986, 1987; Phillips i Borland, 1992b).

Za razliku od vodozemaca, mali broj studija posvećen je uticaju MP na gmizavce. Kopnena kornjača (*Terrapene carolina*) koristi MP Zemlje za orijentaciju i može se obučiti da se orijentiše u pravcu istok – zapad, pri čemu pričvršćivanje magnetna na njen oklop poništava ovu sposobnost (Mathis i Moore, 1988). Morska kornjača (*Caretta caretta*) i aligatori (*Alligator mississippiensis*) su takođe sposobni da se orijentišu uz pomoć MP Zemlje (Rodda, 1984; Lohmann, 1991; Rodda i Phillips, 1992), dok za zmije još uvek nisu urađena ova istraživanja.

Iako većina rezultata koji ukazuju na korišćenje magnetne informacije za orijentaciju ptica potiče od vrsta koje migriraju noću, nekoliko dnevnih migratornih vrsta takođe odgovara na MP Zemlje (Southern, 1978). Jedina vrsta koja ne migrira i čiji je odgovor na MP dobro ispitan

je golub (*Columbia livia*). Poznato je da golubovi koriste geomagnetno polje za orijentaciju u prostoru i da na ovu sposobnost utiču prirodne promene MP Zemlje (Walcott, 1978; Kowalski i sar., 1988; Lednor i Walcott, 1988), kao i magneti eksperimentalno postavljeni na njihova tela (Keeton, 1971; Walcott i Green, 1974; Larkin i Keeton, 1978), što posebno dolazi do izražaja kada je oblačno vreme.

Burda i sar. (1990), a kasnije Kimchi i Terkel (2001) su u svojim istraživanjima ukazali na sposobnost slepog kučeta (*Spalax ehrenbergi*) da oseti i koristi MP Zemlje za orijentaciju u prostoru. Za razliku od vodozemaca i ptica, ovaj odgovor ne zavisi od stimulacije svetlom. Slični rezultati su dobijeni kod miševa *Apodemus sylvaticus* i *Peromyscus leucopus* (Mather i Baker, 1981; August i sar., 1989). Magnetna osetljivost je takođe zapažena kod kitova i delfina, a dovodi se u vezu sa magnetnim materijalom nađenim u glavi ovih životinja (Zoeger i sar., 1981; Fuller i sar., 1985; Klinowska, 1985; Kirschvink i sar., 1986; Walker i sar., 1992). Kod njih je jedino magnetorepcija posredstvom magnetnih čestica pojedinačnog domena dovoljno osetljiva da registruje male promene MP Zemlje (Kirschvink i Gould, 1981; Yorke, 1981).

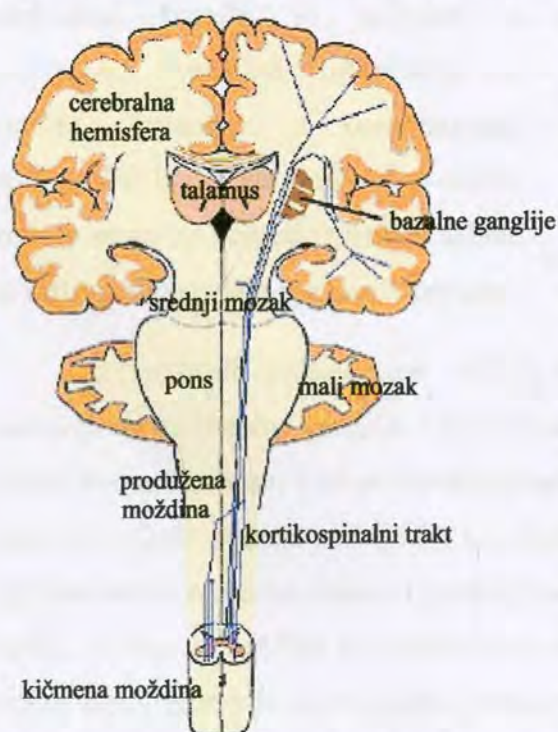
Od davnina je poznato da moreplovci koriste orijentaciju sever – jug prirodnog geomagnetnog polja za navigaciju. Pretpostavljeni su različiti mehanizmi koji bi mogli biti u osnovi ove sposobnosti ljudi, a jedan od njih je i uticaj geomagnetnog polja na vizuelni sistem, za koji je još ranije pokazano da ima ulogu u magnetnoj orijentaciji nekih vrsta životinja (Phillips i Borland, 1992a; Phillips i Sayed, 1993; Wiltschko i Wiltschko, 2001). U seriji eksperimenata koji su usledili poslednjih godina, registrovan je uticaj promene pravca i jačine geomagnetnog polja na osetljivost vizuelnog sistema ljudi (Thoss i sar., 1999, 2002; Thoss i Bartsch, 2003). Potvrda da su zapaženi efekti specifični za vizuelni sistem je izostanak uticaja geomagnetnog polja na osetljivost slušnog sistema ljudi u identičnim uslovima. Legros i Beuter (2005) i Legros i sar. (2006) su ispitivali uticaj MP od 50 Hz na motorno ponašanje i motornu kontrolu kod ljudi. Rezultati njihovih istraživanja ukazuju da MP mogu imati zakasneli efekat na ponašanje ljudi koji očigledno nije patološki. Pored toga, relaksirajući efekat ENF-MP na motornu kontrolu ima za posledicu smanjenje intenziteta posturalnog tremora.

Pored eksperimenata u kojima se prati uticaj MP na orijentaciju glodara u prostoru, veliki broj studija je posvećen ispitivanju efekata MP različitih karakteristika na motorno ponašanje ovih životinja u **laboratorijskim uslovima**, što je bilo i predmet naših istraživanja. Još ranije su Persinger i sar. (1972) pokazali značajno povećanje aktivnosti pacova koji su bili izloženi MP (0.5 Hz, 0.3 – 3 mT). Kasnije su Ossenkopp i Ossenkopp (1983) našli da izlaganje MP (0.5 Hz,

0.05 – 3 mT) povećava aktivnost samo mladih mužjaka pacova, ali ne i mladih ženki pacova. Rudolph i sar. (1985) su prateći efekte MP (50 Hz, 0.04 mT) uočili povećano uspinjanje i u manjoj meri kretanje pacova u toku dana, dok je noću efekat izostao. Za razliku od ovih istraživanja, druge studije su pokazale da izlaganje miševa pulsnom ENF-MP i rotirajućem MP (0.5 Hz, 0.15 – 9 mT, 30 min) smanjuje eksploratorno ponašanje, odnosno lokomotornu hiperaktivnost izazvanu stresom (Kavaliers i Ossenkopp, 1986; Choleris i sar., 2001). U sličnim eksperimentima, Persinger (1969) je izlagao polju (50 Hz, 0.3 – 3 mT) skotne ženke pacova i našao smanjenu aktivnost potomstva koje je bilo staro 27 dana u poređenju sa kontrolnim životinjama. U literaturi postoje dokazi i o izostanku efekta MP na ponašanje glodara. Tako su studije Davis i sar. (1984) otkrile odsustvo promena u ponašanju miševa izlaganih konstantnom (1.5 T, 72 h) i promenljivom (60 Hz, 1.65 mT, 72 h) MP, kao i istraživanja Trzeciak i sar. (1993) u kojima nisu registrovane promene u ponašanju pacova nakon dugotrajnog izlaganja elektromagnetnom (50 Hz, 18 mT) i snažnom konstantnom polju (0.49 T). Pešić i sar. (2004) su pokazali da izlaganje ENF-MP (50 Hz, 6 mT, 15 min) nema uticaja na motornu aktivnost, ali da modifikuje lokomotorni odgovor izazvan primenom psihostimulansa amfetamina (AMPH).

1.3. Motorno ponašanje

Motorno ponašanje složenih organizama je posledica usklađene i integrisane aktivnosti više moždanih struktura (slika 7, Ghez i sar., 1991). U hijerarhiji struktura koje kontrolišu



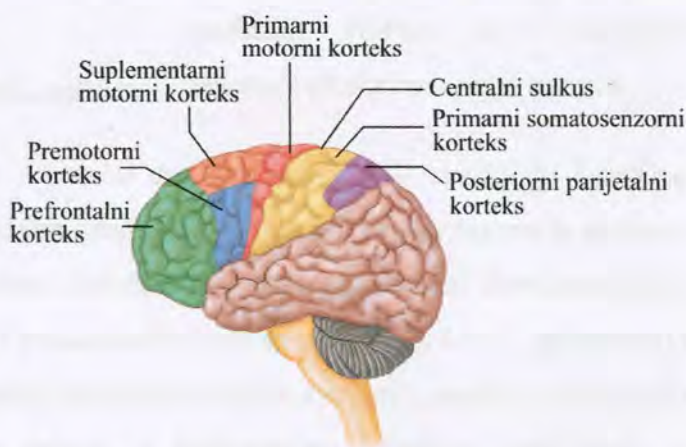
motornu funkciju, na najvišem nivou se nalazi **kora velikog mozga**. Sledeći niži nivo kontrole je **moždano stablo** koje obuhvata produženu moždinu, pons i srednji mozak, a najniži **kičmena moždina**, koja ima fundamentalnu ulogu i predstavlja mesto konačne odluke voljnih i refleksnih radnji. Dve subkortikalne strukture, **bazalne ganglije** i **mali mozak**, takođe imaju važnu ulogu u oblikovanju i finaliziranju motornog odgovora. Nijedna od ovih struktura ne šalje aksone direktno u kičmenu moždinu, već svoj uticaj ostvaruju putem veza sa motornim oblastima kore velikog mozga i usklađivanja aktivnosti moždanog stabla i kortikospinalnog sistema.

Slika 7. Nivoi kontrole motornog ponašanja
<http://web.lemoyne.edu/~hevern/psy340/graphics/tracts.ventromedial.2.jpg>

1.3.1. Anatomsko-funkcionalna osnova motornog ponašanja

Opšti plan građe centralnog nervnog sistema (CNS) je u osnovi isti kod svih sisara. Motorni korteks je izraz za regione kore velikog mozga koji imaju ulogu u planiranju, kontroli i izvođenju voljnih motornih pokreta. Motorne oblasti su smeštene u obe hemisfere kore velikog mozga, pri čemu motorne oblasti desne hemisfere kontrolišu levu stranu tela i obrnuto. Oblasti kore velikog mozga koje se obično smatraju motornim su **primarni motorni korteks**, **suplementarna motorna oblast** i **premotorni korteks** (slika 8). Pored njih, motorne funkcije se pripisuju i **posteriornom parijetalnom** i **dorzolateralnom prefrontalnom korteksu**.

Primarni motorni korteks je smešten u frontalnom lobusu duž precentralnog girusa i ima ulogu u stvaranju nervnih impulsa koji kontrolišu izvođenje pokreta. Premotorni korteks se takođe nalazi u frontalnom lobusu mozga neposredno ispred primarnog motornog korteksa i uključen je u planiranje pokreta zasnovanih na spoljašnjim (posebno vizuelnim) znacima. Suplementarna motorna oblast koja se nalazi iznad premotorne oblasti je odgovorna za planiranje i koordinaciju složenih pokreta kao što su oni koji zahtevaju obe ruke. Obe ove oblasti šalju informacije na primarni motorni korteks i na motorne regione moždanog stabla. Posteriorni parijetalni korteks je uključen u pretvaranje vizuelne informacije u motorne komande, a dorzolateralni prefrontalni korteks u donošenje odluke koji će se voljni pokreti izvršiti u skladu sa instrukcijama viših moždanih centara.

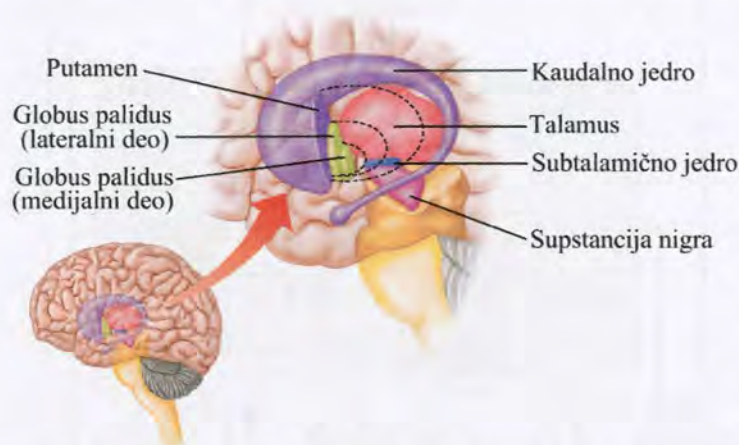


Slika 8. Motorne oblasti kore velikog mozga čoveka
http://cti.itc.virginia.edu/~psyc220/kalat/JK237.fig8.8.principle_area.jpg

Iz motornih oblasti kore velikog mozga informacija se šalje direktno na kičmenu moždinu ili na bazalne ganglije i mali mozak, odakle se ponovo vraća na koru velikog mozga posredstvom talamusa. Vlakna kortikospinalnog (piramidalnog) trakta predstavljaju glavni put za kontrolu voljnih pokreta kod ljudi. Ova vlakna potiču od neurona primarnog motornog korteksa, suplementarne motorne oblasti i premotornog korteksa i spuštaju se celom dužinom moždanog stabla. Većina njih (85%) na granici između produžene i kičmene moždine prelazi na suprotnu stranu tela i nastavlja da se spušta kontralateralno kao **lateralni kortikospinalni trakt** do α motoneurona. Preostala vlakna (15%) nastavljaju da se spuštaju ipsilateralno kao **ventralni**

kortikospinalni trakt. Pored piramidalnog postoje i **ekstrapiramidalni putevi** koji polaze od subkortikalnih jedara kao što su kaudalno jedro, putamen, globus palidus (GP), supstancija nigra (SN), talamus, crveno i subtalamično jedro. Njihova osnovna funkcija je kontrola položaja i ravnoteže, grubih pokreta proksimalnih mišića i koordinacija pokreta glave, vrata i očiju u odgovoru na vizuelne znake.

Bazalne ganglije su glavna subkortikalna jadra koja klasično uključuju **kaudalno jedro** i



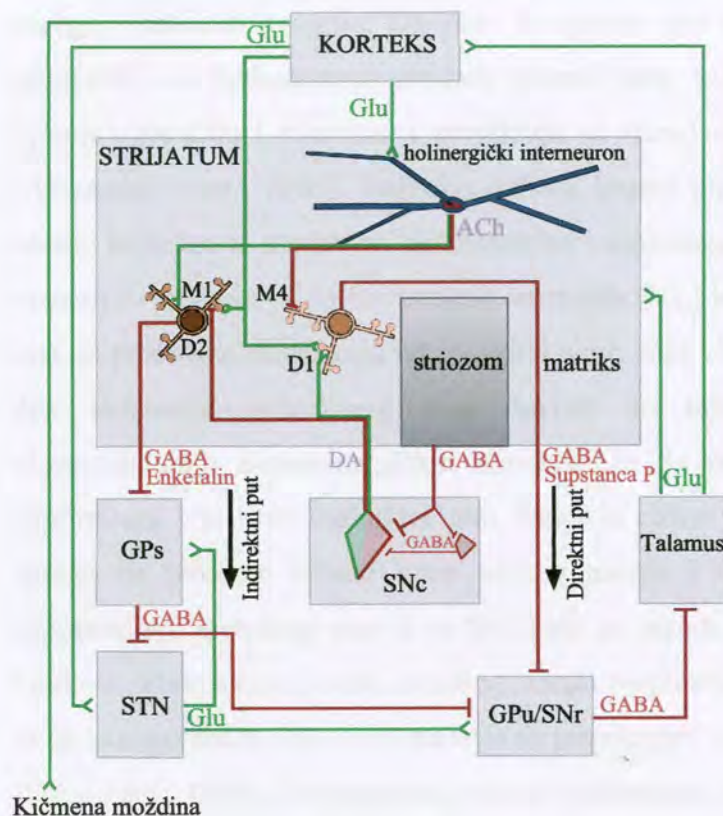
Slika 9. Struktura bazalnih ganglija čoveka
http://cti.itc.virginia.edu/~psyc220/kalat/JK246.fig8.15.basal_ganglia.jpg

putamen, koji se zajedno nazivaju **strijatium** i jednu od glavnih projekcionih oblasti strijatuma, **globus palidus** ili **palidum** (slika 9). Kod primata, palidum je podeljen na **spoljašnji** ili **lateralni palidum** (GPs), koji odgovara GP kod pacova i **unutrašnji segment** ili **medijalni palidum** (GPu), koji odgovara entopedunkularnom jedru pacova.

Centralna komponenta je strijatium. Dorzalni deo strijatuma, koji zauzimaju kaudalno jedro i putamen, ima aferentnu ulogu u bazalnim ganglijama. Ventralni deo strijatuma je povezan sa limbičkim strukturama, a čine ga **nukleus akumbens** i **ventromedijalni deo kaudalnog jedra** i **putamena**. Zbog bliske anatomske i funkcionalne veze sa strijatumom i GP, **supstancija nigra** i **subtalamično jedro** se takođe smatraju integralnim delom bazalnih ganglija. Supstancija nigra, koja morfološki pripada srednjem mozgu, a funkcionalno bazalnim ganglijama, je podeljena na dve zone: ventralna bleđa zona – **pars retikulata** (SNr) i dorzalna pigmentisana zona – **pars kompakta** (SNc), koja sadrži dopaminergičke neurone čija tela sintetišu melanin. Pošto imaju identičnu citološku građu, GPu i SNr se mogu smatrati jednom strukturom arbitrarno podeljenom unutrašnjom kapsulom, sa koje potiče najveći broj eferentnih projekcija bazalnih ganglija.

Neuroni strijatuma primaju mnogobrojne sinaptičke ulaze poreklom od različitih izvora (slika 10). Aferentne glutamatergičke projekcije iz gotovo svih oblasti kore velikog mozga i intralaminarnih jedara talamusa predstavljaju najvažniji izvor ekscitatornih aminokiselina, dok nigrostrijatalni dopaminergički put i unutrašnja kôla snabdevaju strijatium dopaminom, acetilholinom, γ -aminobuternom kiselinom (GABA), azot oksidom i adenzinom (Graybiel,

1990; Wichmann i DeLong, 1996). Pored toga, projekcije iz dorzalnog jedra rafe, koje se nalazi u retikularnoj formaciji moždanog stabla, obezbeđuju serotonergičku inervaciju strijatuma (Bonvento i sar., 1992). Zajedničkim delovanjem navedenih neurotransmiterskih sistema reguliše se sinaptička transmisija unutar ovog jedra i određuje izlazni signal iz strijatuma na druge strukture bazalnih ganglija.



Slika 10. Shematski prikaz aferentno-eferentnih projekcija različitih struktura bazalnih ganglija. Ceo sistem je organizovan po principu "levka", gde je korteks ulazna struktura, strijatum srednja, a GPU, GPs, ventralni palidum i SNr izlazne strukture (Kemp i Powell, 1970). Striozom i matriks su odeljci strijatuma kod pacova, koji se mogu razlikovati primenom biohemijskih markera. Legenda: ACh – acetilholin; DA – dopamin; D₁ i D₂ – tipovi receptora za dopamin; GABA – γ -aminobuterna kiselina; Glu – glutamat; GPs – spoljašnji segment globus palidusa; GPU – unutrašnji segment globus palidusa; M₁ i M₄ – tipovi muskarinskih receptora za acetilholin; SNc – supstancija nigra pars kompakta; SNr – supstancija nigra pars reticulata; STN – subtalamično jedro

http://edoc.hu-berlin.de/dissertationen/pruess-harald-2004-03-15/HTML/Pruess_html_5afaeaf.jpg

Od svih neurona u strijatumu pacova, više od 90% predstavljaju trnoliki neuroni srednje veličine (Kawaguchi i sar., 1995), koji koriste GABA-u kao neurotransmiter i projektuju se na izlazne strukture bazalnih ganglija, GPU i SNr (Wilson i Groves, 1980; Kawaguchi i sar., 1990). Ovi neuroni se mogu podeliti u dve jednake podgrupe na osnovu peptida koje sadrže i oblasti na koju se projektuju (Kawaguchi i sar., 1990; Gerfen, 1992). Pored GABA-e, jedna polovina izlaznih neurona sadrži supstancu P i dinorfin i projektuje se direktno na izlazne strukture, a druga polovina izlaznih neurona sadrži enkefalin i projektuje se indirektno na ove strukture preko GPs i subtalamičnog jedra (slika 10). Gerfen i sar. (1990) su pokazali da većina neurona direktnog puta (strijatonigralni – strijatoentopedunkularni) eksprimira dopaminske D₁, a većina neurona indirektnog puta (strijato-palidalni) dopaminske D₂ receptore. Preostali neuroni strijatuma su veliki holinerški interneuroni i netrnoliki GABAerški neuroni srednje veličine (Kawaguchi i sar., 1995). Holinerški interneuroni su glavni izvor acetilholina u strijatumu i

imaju ulogu u prenosu informacija od dopaminergičkih aferenata na trnolike GABAerģičke neurone.

Izlazne strukture bazalnih ganglija (GPU i SNr) šalju eferentne GABAerģičke projekcije na talamus, sa kojeg se zatim glutamaterģički neuroni projektuju na koru velikog mozga (slika 10). Na ovaj naēin se talamus umeēe u kružni sistem veza koje postoje između kore velikog mozga i bazalnih ganglija. Do sada je opisano pet kružnih puteva koji poēinju iz nekoliko odvojenih ali funkcionalno srodnih oblasti kore velikog mozga, prelaze specifiēne delove bazalnih ganglija i talamusa i projektuju se nazad na jednu od oblasti kore velikog mozga (Alexander i sar., 1986). Najbolje opisani kružni put povezuje senzomotorne i premotorne oblasti korteksa sa motornim, premotornim i suplementarnim motornim korteksom posredstvom ventralnih prednjih (VA) i ventralnih lateralnih (VL) jedara talamusa. Aktivacija direktnog puta ima za posledicu ekscitaciju talamokortikalnih kōla i olakšano kortikalno otpoēinjanje pokreta, dok aktivacija indirektnog puta dovodi do inhibicije talamokortikalnih kōla. Uticaj nigrostrijatalnih dopaminergičkih aferenata je da pojaēaju transmisiju kroz direktni put i suprimiraju istu kroz indirektni put. Stoga je efekat dopamina da pojaēa pozitivnu povratnu spregu na motorne oblasti kore velikog mozga i olakša voljne pokrete. Bazalne ganglije uspostavljaju eferentne veze i sa SN, koja se takoēe projektuje na talamus, ali i na superior kolikule. Vlakna koja potiču iz malog mozga projektuju se na crveno jedro, a zatim na talamus i to na ista ona jedra (VA i VL) na koja se projektuju i eferentni GABAerģički neuroni GPU i SNr (Sakai i sar., 1996). Pretpostavka je da se u talamusu, odnosno u tim jedrima, na osnovu nervnih impulsa koji potiču iz bazalnih ganglija i malog mozga vrše integracioni procesi vezani za motoriku.

Bazalne ganglije uspostavljaju veze i sa strukturama moždanoģ stabla i hipotalamusa, ēija stimulacija dovodi do posturalnih promena i lokomotornih pokreta (slika 11).



Slika 11. Lokomotorni regioni moždanoģ stabla i hipotalamusa maēke. Legenda: CFN – kuneiformno jedro; IC – inferior kolikuli; LHA – lateralna oblast hipotalamusa; MLR – mezencefaliēni lokomotorni region; NRG – gigantocelularno retikularno jedro; NRMC – magnocelularno retikularno jedro; NRTP – tegmentalno pontinsko retikularno jedro; PLS – pontomedularni lokomotorni snop; PPN – pedunkulopontinsko tegmentalno jedro; RN – crveno jedro; SC – superior kolikuli; SLR – subtalamični lokomotorni region; SN – supstancija nigra

<http://www.nada.kth.se/~jeanette/KTH-2006-handouts-locomotion.pdf>

Povezanost bazalnih ganglija i **mezencefaličnog lokomotornog regiona (MLR)**, koji se nalazi u zadnjem delu srednjeg mozga, doprinosi objašnjenju izvesnih fizioloških i patoloških fenomena ponašanja. Dva jedra srednjeg mozga, za koja se smatra da su glavne komponente MLR, su **kuneiformno jedro** i **pedunkulopontinsko tegmentalno jedro (PPN)**. Radovi na intaktnim mačkama su pokazali da električna stimulacija kuneiformnog jedra značajno povećava lokomotornu brzinu (Mori i sar., 1989), dok je uloga PPN u inicijaciji lokomocije pretpostavljena na osnovu njegovih veza sa limbičkim strukturama i bazalnim ganglijama (Skinner i Garcia-Rill, 1990, Garcia-Rill, 1991; Mogenson i sar., 1993; Skinner i Garcia-Rill, 1993; Inglis i Winn, 1995). Na neurone PPN stižu projekcije iz motorne kore, subtalamičnog jedra i centralnog medijalnog jedra talamusa, što ga prema shvatanju Garcia-Rill i Skinner (1985) stavlja u stratejski položaj iz koga utiče na ulazne projekcije u strijatum i tako vrši ulogu značajnog regulatora jedra u koordinaciji lokomotornih funkcija bazalnih ganglija. Nishodna vlakna MLR/PPN se završavaju na retikularnim jedrima produžene moždine i na rafe jedrima ponsa, na neuronima koji čine **pontomedularni lokomotorni snop (PLS)** koji se spušta u kičmenu moždinu. Pored MLR/PPN, postoji i direktna projekcija od lateralnog hipotalamusa na retikulospinalni sistem iz oblasti označene kao **subtalamični lokomotorni region (SLR)** (Sinnamon i Stopford, 1987). Aksonski snopovi koji potiču iz ove oblasti kreću se kroz ventralni deo srednjeg mozga i odvojeni su od MLR sistema.

Ventralni tegmentum ili **ventralna tegmentalna oblast (VTA)** nalazi se u srednjem mozgu blizu SN i crvenog jedra i predstavlja još jednu oblast moždanog stabla čija stimulacija dovodi do lokomotornih pokreta. Ova oblast je bogata dopaminergičkim i serotoninergičkim neuronima i deo je dva glavna dopaminergička puta: mezolimbičkog koji povezuje VTA sa nukleus akumbensom i mezokortikalnog koji povezuje VTA sa kortikalnim oblastima u frontalnim lobusima.

1.3.2. Osnovni oblici motornog ponašanja

Spontana **lokomotorna aktivnost** je primer jednostavnog, centralno posredovanog ponašanja, koje je podložno farmakološkoj manipulaciji. Zbog toga je procena lokomotorne sposobnosti životinja važna komponenta mnogih studija u kojima se prati motorno ponašanje. Ovo se posebno odnosi na istraživanja u kojima se koriste animalni modeli bolesti kao što su oštećenje kičmenog stuba i moždani udar, gde je oporavak lokomocije osnovna svrha eksperimentalne terapije (Goldstein, 2003; Jolkkonen i sar., 2003; Ballermann i sar., 2006). Pored toga, izvršenje mnogih komplikovanijih zadataka u laboratorijskim uslovima zavisi od

kretanja pacova po površini podloge i njegove sposobnosti da koristi ekstremitete. Za produkciju funkcionalne lokomocije, lokomotorna kôla u kičmenoj moždini zahtevaju dovode iz dva važna izvora. Prvi izvor je segmentalna aferentna povratna sprega poreklom od nekoliko receptora raspoređenih celom dužinom ekstremiteta, a drugi supraspinalni dovodi iz moždanog stabla i kore velikog mozga.

Spontano **podizanje na zadnje noge** ili **uspravljanje** predstavlja motorno ponašanje koje se često može videti kod životinja kao odgovor na izlaganje novoj sredini (Semenova i sar., 2001; Wesierska i sar., 2003; Christensson i Garwicz, 2005; Anderson i sar., 2006). Za ovo ponašanje se smatra da je odraz motorne aktivnosti i eksploratornog ponašanja (Archer, 1973; Rotta i sar., 1988; Mohammed i sar., 1990; Crusio, 2001). Studije sa lezijama su pokazale da je hipokampus bitna komponenta nervnog sistema odgovorna za kontrolu uspravljanja u novoj sredini (Lever i sar., 2006). Zbog toga je uspravljanje jedan od nekoliko parametara koji se koristi za procenu učenja i pamćenja u studijama ponašanja.

Stereotipno ponašanje ili **stereotipija** predstavlja motorno ponašanje koje se ponavlja bez očigledne svrhe ili funkcije (Powell i sar., 1999). Često se može videti kod životinja zatvorenih u malom prostoru koji im ne omogućava normalno ponašanje, pa se i opisuje kao «ponašanje koje nagoveštava neprirodnu sredinu» pre nego kao neprirodno ponašanje. Ovi oblici ponašanja se nekada mogu smanjiti ili ukloniti obogaćivanjem sredine u kojoj se životinja nalazi ili držanjem socijalnih životinja kao što su primati sa drugim članovima njihovih vrsta. Pored spontane stereotipije, postoje i stereotipna ponašanja izazvana klinički i eksperimentalno putem nekog farmakološkog sredstva ili lezije (Lyon i Robbins, 1975; Owens i sar., 1982; Joyce i Iversen, 1984; Albin i sar., 1989; Turner, 1997). Ona su posledica disfunkcije bazalnih ganglija, tačnije izmenjene funkcije dorzalnog strijatuma koja je uzrok smanjene inhibicije ponašanja.

Prirodno **bišćenje** glodara se sastoji od složenih nizova pokreta koji uključuju timarenje, oblizivanje i češanje, a u cilju čišćenja i održavanja krzna i kože tela. Lako se uočava s obzirom da pacovi u budnom stanju provode i do polovine svog vremena u bišćenju (Bolles, 1960). Pored toga, može se i izazvati kod laboratorijskih glodara u uslovima izlaganja novoj sredini i tada se opisuje kao stereotipija. Bišćenje je model ponašanja pogodan za procenu funkcionalne organizacije i neuronalnih mehanizama sekvenci kretanja. Berridge i sar. (1987) su pokazali da ključnu ulogu u obavljanju ovih motornih sekvenci imaju bazalne ganglije.

Mada se još uvek ne znaju tačni mehanizmi i neuronalni putevi koji su odgovorni za **rotaciono ponašanje**, smatra se da je ono odraz disbalansa dopaminergičkih mehanizama

(Costall i sar., 1976). Rotacije u pravcu lezirane strane su glavna karakteristika životinja sa unilateralnim oštećenjem nigrostrijatalnog sistema i nepovređenih životinja sa očiglednom razlikom u količini dopamina između dve hemisfere mozga. Kod životinja se rotaciono ponašanje može farmakološki izazvati primenom različitih supstanci koje modulišu dopaminergičku neurotransmisiju, kao što su 6-hidroksidopamin koji prouzrokuje lezije dopaminergičkih neurona u SN ili apomorfin koji je agonist dopaminskih D₂ receptora (Ungerstedt i Arbuthnott, 1970; Ungerstedt, 1971a; Ungerstedt, 1971b). Dominantno rotaciono kretanje eksperimentalnih životinja se može izazvati i unilateralnom intranigralnom injekcijom GABA-e ili GABA agoniste muscimola (Kaakkola i Kääriäinen, 1980) i unilateralnom aplikacijom karbahola (agonist acetilholinskih receptora) u nukleus akumbens (Moribe i sar., 2005). U oba ova slučaja se uočeni efekti pripisuju GABAergičkoj odnosno holinergičkoj modifikaciji dopaminergičke neurotransmisije koja je u vezi sa rotacionim ponašanjem.

Imobilnost ili **nepokretnost** je privremeno stanje potpune motorne inhibicije. U prirodi, imobilnost je deo antipredatorskog ponašanja i poslednje pomoćno sredstvo koje plen koristi da bi smanjio verovatnoću daljeg napada predatora (Klemm, 1971; Monassi i sar., 1999). U laboratorijskim uslovima, imobilnost životinja se može izazvati različitim eksperimentalnim manipulacijama (De la Cruz i sar., 1990; Pellis i sar., 1990) i koristiti kao jedan od parametara u studijama ponašanja. Mnogi regioni moždanog stabla i bazalnog prednjeg mozga su umešani u kontrolu imobilnosti. Jedan deo neuronalnih mehanizama uključuje nishodnu motornu inhibiciju, za koju je poznato da potiče iz medijalne retikularne formacije. Modulatorni uticaji na ovu formaciju dolaze iz drugih delova mozga, pri čemu su najznačajniji iz limbičkog sistema (strah potencira imobilni odgovor), neokorteksa (inhibira imobilni odgovor) i bazalnih ganglija (dopaminergička blokada u strijatumu doprinosi imobilnom odgovoru) (Klemm, 2001).

1.3.3. Primena magnetnih polja u terapiji motornih poremećaja kod ljudi

Jedan od mnogobrojnih fizičkih faktora koji se poslednjih godina koristi u terapijske svrhe je i magnetno polje. Barker i saradnici su 1985. godine razvili neinvazivnu i bezbolnu metodu transkranijalne magnetne stimulacije (TMS) i na taj način otvorili novo polje u istraživanju motorne kontrole i funkcije kore velikog mozga (Barker i sar., 1985). Ova metoda je zasnovana na principu da promenljivo MP indukuje električnu struju unutar prostora kroz koji prolazi. Efekti TMS zavise od načina stimulacije koji može biti pojedinačnim stimulusima, parovima stimulusa razdvojenih različitim intervalima (na istu ili nekoliko oblasti mozga) ili nizovima ponovljenih stimulusa različite frekvencije (repetitivna TMS ili rTMS). Pojedinačni

stimulusi prouzrokuju izazvane motorne potencijale koji imaju klinički značaj i služe u dijagnostičke svrhe. Sa druge strane, rTMS koja je prvobitno razvijena za mapiranje i merenje funkcionalnosti mozga, sve više se koristi kao pomoćno sredstvo u terapijske svrhe.



Slika 12. Primena TMS

http://www.tinnitusformula.com/infocenter/rtms_head.gif

Elektromagneti se putem jake električne struje pulsno pale i gase neposredno iznad glave (slika 12). Kada ciljano MP izazvano rTMS prolazi kroz mozak, ono utiče na nadražljivost neurona kore velikog mozga u određenim oblastima. Međutim, uočeni efekat nije ograničen samo na koru velikog mozga nego se širi i na susedne subkortikalne strukture. Ovaj nalaz je dao osnovu za terapijsku primenu rTMS u slučajevima patološkog smanjenja ili povećanja kortikalne nadražljivosti.

Veliki broj kliničkih studija ukazuje na moguću primenu rTMS u terapiji različitih psihijatrijskih oboljenja kao što su depresija (George i sar., 1999), manija (Grisaru i sar., 1998), post-traumatsko stresno oboljenje (Cohen i sar., 2004) i shizofrenija (Hoffman i sar., 2000). Do sada je glavni fokus istraživanja rTMS u psihijatriji bio ispitivanje terapijskih efekata stimulacije prefrontalnog regiona velikog mozga na simptome depresije (George i sar., 1999; Kahkonen i sar., 2005). Pored toga, poslednjih godina sve više nalaza ukazuje na poboljšanje stanja pacijenata koji pate od Parkinsonove bolesti nakon tretmana rTMS (Mally i Stone, 1999; Siebner i sar., 2000). Postoje dve primene ovog metoda u Parkinsonovoj bolesti: povećanje kortikalne nadražljivosti talamokortikalnog puta i modifikacija subkortikalnog metabolizma kateholamina putem stimulacije kore velikog mozga.

Neki istraživači su pokušali da koriste niskofrekventnu rTMS za lečenje epilepsije i drugih manifestacija kortikalne hiperekscitabilnosti, ali su uočeni efekti bili prolazni i kontradiktorni (Tergau i sar., 1999; Menkes i Gruenthal, 2000). Primena rTMS se pokazala korisnom i kod rehabilitacije pacijenata koji su doživeli moždani udar, omogućavajući im poboljšanje i brži oporavak motornih funkcija (Kim i sar., 2006).

2. CILJEVI RADA

Na osnovu iznetih podataka o uticaju spoljašnjih MP na biološke sisteme postavljeni su sledeći ciljevi ovog eksperimentalnog rada:

- Ispitati da li postoje značajni efekti promenljivog MP, u opsegu «komercijalnog»^{*} dela spektra (ENF, 50 Hz, 0.5 mT), na različite parametre motornog ponašanja eksperimentalnih životinja nakon akutnog (1, 3 i 7 dana) i hroničnog (tokom celog života) izlaganja.
- Ispitati da li izlaganje ENF-MP moduliše motorni odgovor eksperimentalnih životinja izazvan primenom psihomotornog stimulansa i dopaminergičkog agoniste amfetamina (1.5 mg/kg, i.p.) i ustanoviti karakter promena u zavisnosti od dužine izlaganja.
- S obzirom na ulogu dopamina i serotonina u kontroli motornog odgovora, analizirati aktivnost centralnih receptora za dopamin (D₁ i D₂) i serotonin (5-HT_{2A}) kod eksperimentalnih životinja akutno (1, 3 i 7 dana) i hronično izlaganih ENF-MP.
- Odrediti koncentraciju nukleotida (inozin 5'-monofosfat – IMP, ciklični adenzin 5'-monofosfat – cAMP, adenzin 5'-trifosfat – ATP i guanozin 5'-trifosfat – GTP), koji na direktan i/ili indirektan način učestvuju u signalnoj transdukciji, u određenim regionima mozga eksperimentalnih životinja akutno (1, 3 i 7 dana) i hronično izlaganih ENF-MP.

^{*}«komercijalni» deo elektromagnetnog spektra obuhvata ENF-MP koja su u širokoj primeni u domaćinstvu, industriji i saobraćaju i odnose se na frekvencije od 50 Hz u Evropi i 60 Hz u severnoj Americi.

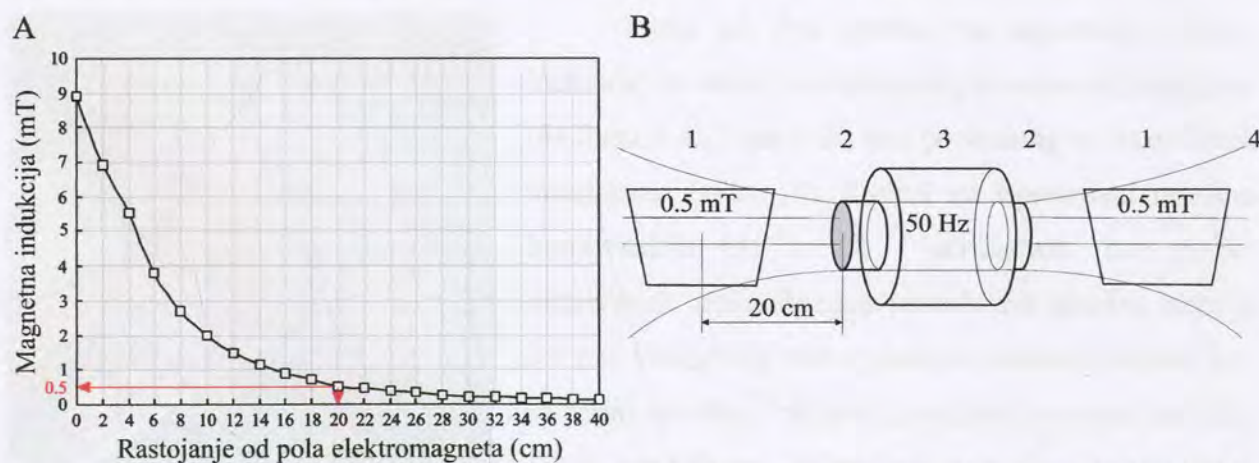
3. MATERIJAL I METODE

3.1. Eksperimentalne životinje

U eksperimentima su korišćeni mužjaci pacova Wistar soja starosti 2.5 – 3.5 meseca i prosečne težine od 250 do 350 grama, poreklom iz vivarijuma Instituta za biološka istraživanja «Siniša Stanković» u Beogradu. Životinje su gajene u grupama od 4 do 5 jedinki po kavezu u standardnim uslovima (temperatura sobe $23 \pm 2^\circ\text{C}$, relativna vlažnost 60 – 70%, cirkadijalni svetlosni režim od po 12 časova, hrana i voda *ad libitum*), koji su u skladu sa principima izloženim u *Vodiču za brigu i korišćenje eksperimentalnih životinja*, NIH publikacija No 85–23. Na osnovu rešenja Etičkog komiteta Instituta za biološka istraživanja «Siniša Stanković», životinje su bile izložene eksperimentalnom protokolu koji je u skladu sa propisanim etičkim normama.

3.2. Sistem za izlaganje promenljivom magnetnom polju

Promenljivo MP je generisano korišćenjem elektromagneta sa jezgrom od metalnih transformatorskih pločica i prečnikom od 9.5 cm. Elektromagnet je napajan sinusoidalnom strujom (50 Hz, 40 V, 4.5 A) i stvarao je homogeno ENF-MP sa gradijentom magnetne indukcije (slika 13A). Maksimalna vrednost magnetne indukcije $B = 8.9 \text{ mT}$ je izmerena na polovima elektromagneta uz pomoć GM05 gausmetra (Hirsst) sa PT2837 sondom. Frekvencija od 50 Hz je izabrana zato što je u Evropi električno napajanje kućnih i drugih aparata sa ovom frekvencijom (dok u severnoj Americi električni aparati rade na frekvenciji od 60 Hz).



Slika 13. Promene gradijenta magnetne indukcije (A) i shematski prikaz sistema za izlaganje ENF-MP (B) 1 – kavezi sa životinjama; 2 – polovi magneta sa magnetnim jezgrom od gvožđa; 3 – namotaji; 4 – linije magnetnih sila. Crvena strelica pokazuje vrednost magnetne indukcije ($B = 0.5 \text{ mT}$) na udaljenosti 20 cm od polova elektromagneta, koja odgovara rastojanju središnjih delova kaveza sa životinjama.

Linije magnetnih sila su zaklapale ugao od 11° istočno u odnosu na pravac sever-jug horizontalne komponente lokalnog geomagnetnog polja. U toku eksperimenata, vrednosti geomagnetnog polja u oblasti gde su rađena ispitivanja ($44^\circ 38'$ severno, $20^\circ 46'$ istočno) su bile uglavnom u okviru prosečnih vrednosti (GSM 10 proton magnetometar, Geomagnetni institut, Beograd). Ambijentalno MP nije prelazilo vrednost od 10^{-5} mT.

Tokom izlaganja ENF-MP životinje su bile u kavezima standardnih dimenzija (26 cm širina x 43 cm dužina x 15 cm visina), fiksiranim na polistirenskom postolju da bi se isključio kontakt sa metalnim delovima sistema. Temperatura prostorije je bila $23 \pm 2^\circ\text{C}$, relativna vlažnost oko 60%, intenzitet veštačkog osvetljenja oko 100 luxa i cirkadijalni svetlosni režim od po 12 časova. U sistem za izlaganje ENF-MP istovremeno su stavljana dva kaveza, po jedan sa leve i desne strane elektromagneta (slika 13B). Centar svakog kaveza je bio 20 cm od polova elektromagneta, što je bilo dovoljno da se izbegne kontakt spoljašnjih ivica kaveza sa elektromagnetom i samim tim eventualne vibracije. Središnji deo svakog kaveza je bio izložen ENF-MP prosečne magnetne indukcije $B = 0.5$ mT. Ova vrednost magnetne indukcije je bila maksimalna koja se mogla postići primenom elektromagneta datih karakteristika, a da se pri tome ne izazovu neželjeni termički efekti.

3.3. Registracija motorne aktivnosti

Motorna aktivnost eksperimentalnih životinja je registrovana u «open field»-u korišćenjem automatskog uređaja Columbus Auto-Track Sistem (Version 3.0 A, Columbus Institute, OH, USA).



Slika 14. Uređaj za registraciju motorne aktivnosti životinja

Svaki od dva uređaja za registraciju (Opto-Varimex) se sastoji od četvrtastog kaveza od pleksiglasa (44.2 cm x 43.2 cm x 20 cm) povezanog sa Auto-Track interfejsom (slika 14). Kavezi su ispresecani mrežom horizontalnih (15×15) i vertikalnih (dva nivoa) infracrvenih zraka. Razmak između dva susedna zraka je 2.4 cm. Prekidanje zraka generiše električni impuls koji se zatim obrađuje i šalje u kompjuter povezan sa Auto-Track interfejsom. Prikupljeni podaci se kontinuirano memorišu na disku kompjutera i nakon završetka eksperimenta očitavaju u željenim intervalima vremena.

Opto-Varimex uređaji su smešteni u kutije, koje doprinose izolaciji od svetlosti i zvuka iz okoline, sa veštački regulisanom ventilacijom i osvetljenjem (100 lx). Na ovaj način se eliminiše eventualna reakcija životinje na stimuluse iz spoljašnje sredine u toku merenja motorne aktivnosti. Pre stavljanja nove životinje, pod svakog kaveza je opran vodom i osušen da bi se neutralisali mirisi od prethodne životinje.

Auto-Track sistem detektuje 11 parametara motornog ponašanja uključujući **lokomotornu aktivnost** (pređeni put u cm), **stereotipnu aktivnost** (kao što je bišćenje (eng. self - grooming), njuškanje, oblizivanje, kružni pokreti glave), **vertikalnu aktivnost** ili **uspravljanje** (podizanje obe prednje šapice od poda), **vreme mirovanja** (vreme u toku kojeg izostaju bilo kakvi pokreti), **rotacije u smeru i suprotno od smera kazaljke na satu**. Opisani parametri su definisani u skladu sa Uputstvom za rukovanje Auto-Track sistemom (1990). Tip aktivnosti je određen veličinom kvadrata, u našem slučaju opisanog sa 5 infracrvenih zraka, koju određuje sam eksperimentator u skladu sa dimenzijom životinje koja se ispituje. To znači da pacov mora da preseče više od 5 infracrvenih zraka da bi aktivnost bila klasifikovana kao lokomotorna. Kretanje unutar prostora definisanog spoljašnjim ivicama kvadrata formiranog uz pomoć horizontalnih zraka (oko 10 cm x 10 cm), se registruje kao stereotipna aktivnost. Vertikalna aktivnost predstavlja broj vertikalnih zraka koje životinja preseče podizanjem na zadnje šapice.

3.3.1. Eksperimentalna procedura

Motorni odgovor eksperimentalnih životinja je registrovan u periodu od 9 do 15 časova, zbog uticaja cirkadijalnog ritma na ponašanje i fiziologiju pacova. Pre početka eksperimenta, životinje nisu bile izložene bilo kakvoj eksperimentalnoj proceduri uključujući «open field» test i testirane su samo jednom.

U akutnom eksperimentu, u sistem za izlaganje MP su stavljeni kavezi sa 3 – 4 jedinke starosti od oko 3 meseca. Životinje su bile kontinuirano izložene ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) u toku 7 dana, izuzev 120-minutnog perioda kada je registrovana motorna aktivnost. Motorno ponašanje ovih životinja je registrovano nakon prvog, trećeg i sedmog dana izlaganja MP, uvek u isto doba dana, i upoređeno sa motornim odgovorom kontrolnih životinja. Kao kontrola su korišćene tzv. *sham* životinje koje su prošle istu eksperimentalnu proceduru, ali je u njihovom slučaju elektromagnet bio isključen.

Hronični efekat promenljivog MP je ispitivan na životinjama koje su tokom celog života, od začeca do starosti od oko 3 meseca, bile izložene ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT). Na početku

eksperimenta, u sistem za izlaganje ENF-MP prvo su stavljeni kavezi sa po jednim mužjakom (starosti oko 6 meseci) i tri ženke (starosti oko 4 meseca). Dve nedelje nakon sparivanja mužjaci su odstranjeni iz eksperimenta. Skotne ženke su i dalje ostale pod uticajem ENF-MP datih karakteristika, da bi se 21. dana od začeca okotile. Iako je u daljim eksperimentima korišćeno samo muško potomstvo, ceo okot je ostao sa majkama narednih 30 dana, da bi se izbegli efekti seksualne izolacije kod potomaka (De Cabo i sar., 1993). Nakon ovog perioda, majke su uklonjene iz dalje eksperimentalne procedure. U isto vreme, muško potomstvo je odvojeno od ženskog, raspoređeno u grupe od 4 – 5 jedinki po kavezu i vraćeno u sistem za izlaganje ENF-MP do starosti od oko 3 meseca. Motorna aktivnost ovih životinja je registrovana neposredno nakon prestanka hroničnog izlaganja MP i upoređena sa motornim odgovorom kontrolnih životinja. Tokom hroničnog eksperimenta nismo bili u mogućnosti da pratimo tzv. *sham* efekat ENF-MP, odnosno efekat koji je posledica boravka životinja u blizini isključenog elektromagneta. Razlog za ovo je što je period trajanja eksperimenta dug (oko 4 meseca), pa bi se u tom slučaju susreli sa problemom razvića kontrolnih (*sham*) i tretiranih životinja u periodima različite geomagnetne aktivnosti. Zbog toga su kontrolne životinje bile istovremeno izložene istoj eksperimentalnoj proceduri kao i tretirane, sa tom razlikom da su kavezi sa njima postavljeni na dovoljno velikoj udaljenosti od elektromagneta da se ne registruje njegov uticaj. U toku hroničnog eksperimenta praćena je i telesna masa kontrolnih i tretiranih jedinki. Pre razdvajanja muškog i ženskog potomstva merena je telesna masa okota unutar jednog kaveza, a nakon razdvajanja su praćene odvojeno telesne mase muških i ženskih jedinki.

U eksperimentima sa amfetaminom (AMPH), d-AMPH sulfat (ICN Pharmaceuticals, Costa Mesa, USA) rastvaran je u fiziološkom rastvoru (1.5 mg AMPH u 1 ml 0.9% NaCl) i primenjivan intraperitonealno (i.p.) u zapremini od 1 ml/kg telesne mase. Životinje su injecirane AMPH neposredno nakon prestanka akutnog (1, 3 i 7 dana) i hroničnog izlaganja ENF-MP i stavljene u «open field» u toku 120 min. Dobijeni rezultati su upoređeni sa motornom aktivnošću *sham* (akutni eksperiment) i kontrolnih (hronični eksperiment) životinja koje su tretirane istom dozom AMPH. Efekat samog AMPH na motorno ponašanje je procenjen u odnosu na *sham*, odnosno kontrolne životinje koje su injecirane fiziološkim rastvorom (1 ml/kg, i.p.).

3.4. Metoda vezivanja radioaktivnog liganda do zasićenja receptora (saturaciono vezivanje)

Ova metoda koja se izvodi *in vitro* omogućava dobijanje dva parametra koji farmakološki definišu svojstva receptora. **Konstanta disocijacije – K_d** je pokazatelj afiniteta vezivanja

radioaktivno obeleženog liganda za receptor, i što je veća to je afinitet manji. Kvantitativno K_d odgovara onoj koncentraciji liganda pri kojoj je $\frac{1}{2}$ od ukupnog broja receptorskih mesta popunjena ligandom. **Maksimalni kapacitet vezivanja liganda ili gustina receptora na ćelijskoj membrani – B_{max}** predstavlja ukupan broj aktivnih receptora, izražen u molarnom obliku kroz jedinicu zapremine rastvora ili ukupnu masu proteina u rastvoru.

Da bi se dobili ovi parametri, u puferu se pripreme različite koncentracije obeleženog liganda koje se mešaju sa konstantnom koncentracijom receptora (tj. membranske frakcije). Reakcija se izvodi pri stalnoj temperaturi (najčešće 20, 25 ili 37°C), u rastvorima sa definisanim koncentracijama soli i pH vrednošću, i za ono vreme koje je potrebno da se uspostavi ekvilibrijum, tj. stabilan ravnotežni odnos između procesa asocijacije i disocijacije liganda i receptora. Zatim se filtriranjem reakcionih smeša kroz filtre i utvrđivanjem nivoa aktiviteta zaostalog na filtrima određuje ona količina liganda koja je ostala vezana. Ta vrednost predstavlja **ukupno ili totalno vezivanje (T)** koje je dobrim delom nespecifično, jer se ligand vezuje i za druge molekule osim za specifični receptor. Da bi se dobilo specifično vezivanje koristi se još jedna serija koncentracija obeleženog liganda koja se meša sa stalnom koncentracijom receptora, ali u prisustvu visoke koncentracije liganda koji nije radioaktivno obeležen i koji ima visoku specifičnost i afinitet za ispitivani receptor. To podrazumeva da će vrednosti vezivanja obeleženog liganda u ovoj reakciji predstavljati **nespecifično vezivanje (N)** za neku određenu koncentraciju tog liganda, pošto je receptor popunjen drugim neobebeženim ligandom. Razlika između totalnog i nespecifičnog vezivanja ($T - N$) predstavlja **specifično vezivanje liganda (S)**, tj. količinu liganda vezanu za receptor pri nekoj koncentraciji liganda u rastvoru. Konstrukcijom krive pomoću tačaka koje daju odnos između koncentracije liganda u rastvoru i specifičnog vezivanja pri datim koncentracijama, dobija se rektangularna hiperbola poznata kao Langmirova adsorpciona izoterma. Za upoznavanje i kvantifikovanje interakcija receptor – ligand u upotrebi je najčešće Skačardova analiza ove krive ili preciznije rečeno njena transformacija u linearnu krivu, čiji nagib određuje K_d prema formuli $K_d = -1/\text{ugao nagiba}$, a odsečak na X osi predstavlja B_{max} (Scatchard, 1949; Weder i sar., 1974; Zivin i Waud, 1982).

3.4.1. Analiza aktivnosti centralnih receptora za dopamin i serotonin

Nakon završetka akutnog (1, 3 i 7 dana) i hroničnog izlaganja ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) eksperimentalne životinje su žrtvovane dekapitacijom, izvađeni mozgovi stavljeni su na led. Odmah su izolovane moždane strukture (prefrontalni korteks i strijatum), izmerene i zamrznute

na -70°C do analize. U cilju dobijanja dovoljne količine polaznog materijala odabrani regioni mozga su pulovani od tri životinje (u proseku dva pula po eksperimentalnoj grupi).

Priprema strijatalnih i kortikalnih membrana pacova, kao i *in vitro* eksperimenti vezivanja su urađeni korišćenjem standardnih farmakoloških procedura (Vogel, 2002). Tkivo (0.5 – 3 grama) je prvo homogenizovano uz pomoć rotacionog homogenizera sa teflonskim tučkom (6 – 10 zaveslaja, 800 rpm) u 10 zapremina odgovarajućeg reakcionog pufera u odnosu na zapreminu početnog tkiva. Homogenat je zatim centrifugiran 15 – 20 minuta (rotor Ti-50, 20000 rpm, 4°C), a dobijeni talog resuspendovan u 10 zapremina istog pufera i ponovo centrifugiran kao što je već opisano. Talog dobijen nakon drugog centrifugiranja je finalno resuspendovan u duplo većoj zapremini pufera, naliven u mikrotube, zamrznut u tečnom azotu i čuvan na -70°C do analize. Za analizu aktivnosti centralnih receptora, sinaptosomalne membrane se odmrzavaju na sobnoj temperaturi, razblažuju odgovarajućim puferom i nalivaju u mikrotube. Zatim se dodaje radioligand i reakciona smeša stavlja u vodeno kupatilo da se inkubira 10 minuta na 37°C . Reakcija se prekida dodavanjem 1 ml hladnog pufera. Nakon vakum filtracije (Whatman GF/B filteri) i ispiranja 2 puta sa 3.5 ml hladnog pufera, radioaktivnost preostala na filterima se meri u tečnom scintilacionom koktelu koji sadrži PPO (2,5-difeniloksazol, Sigma Chemical, USA), POPOP ([2,2'-p-fenilen-bis(5-feniloksazol)], Beckman) i toluen (Lach – Ner). Eksperimenti su uvek rađeni u duplikatu, pri konstantnoj koncentraciji membranske frakcije i sa 5 ili 6 rastućih koncentracija odgovarajućeg radioliganda razblaženog u puferu, da bi imali što više tačaka za konstrukciju krive.

Parametri aktivnosti dopaminskih D_1 i D_2 receptora su određivani na sinaptosomalnim membranama dobijenim iz strijatuma, a serotoninских 5-HT_{2A} receptora na membranskim preparatima poreklom iz korteksa. Za kortikalno tkivo se kao pufer koristi Tris-HCl (ICN Pharmaceuticals, USA), pH 7.7, a za strijatalno tkivo smeša sastavljena od 1 mM MgCl_2 (Merck), 2 mM CaCl_2 (Merck), 5 mM KCl (Alkaloid, Skoplje), 50 mM Tris-HCl i 120 mM NaCl (Merck), pH 7.5. Za obeležavanje dopaminskih D_1 receptora je korišćen visoko afinitetni antagonist [^3H]-SCH23390 (Amersham, USA, 91 Ci/mmol), dopaminskih D_2 receptora antagonist [^3H]-spiperon (Amersham, USA, 77.8 Ci/mmol), a serotoninских 5-HT_{2A} receptora antagonist [^3H]-ketanserin (Perkin-Elmer, USA, 88 Ci/mmol). Nespecifično vezivanje je određeno u prisustvu hladnog liganda 1 μM (+)butaklamola (Sigma Chemical, USA) kada su ispitivani D_1 i D_2 receptori, odnosno hladnog liganda 1 μM ketanserina (Sigma Chemical, USA) kada se radilo o 5-HT_{2A} receptoru, za svaku koncentraciju radioliganda. Zbog visokog afiniteta

[³H]-spiperona za serotonininske receptore, u svaku koncentraciju ovog radioliganda je dodavan i 50 nM ketanserin.

Koncentracija proteina u uzorku je određena modifikovanom Lowry-evom metodom koju su opisali Markwell i sar. (1978), koja se zasniva na merenju apsorpcije svetlosti od strane dva obojena kompleksa pri određenoj talasnoj dužini. Za konstrukciju standardne krive se koristi standardni rastvor poznate koncentracije proteina, u našem slučaju 0.5 mg/ml goveđeg seruma albumina (Sigma Chemical, USA – 96 – 99% albumina), pri čemu se zapremine standarda uzimaju tako da koncentracija proteina bude u intervalu od 10 – 100 µg/ml. Različitim koncentracijama standarda, slepoj probi (samo dH₂O) i uzorcima razblaženim 20 puta dH₂O dodaje se po 600 µl rastvora C. Ovaj rastvor se priprema pre upotrebe mešanjem 100 zapremine rastvora A (2% Na₂CO₃ (Sigma Chemical, USA), 0.4% NaOH (Lach – Ner), 0.16% Na-tartarat (Sigma Chemical, USA) i 1% Na-dodecilsulfat (SDS, Sigma Chemical, USA) i 1 zapremine rastvora B (4% CuSO₄ x 5H₂O (ICN Pharmaceuticals, USA)). Nakon mešanja, reakcione smeše se inkubiraju 15 minuta na sobnoj temperaturi (inkubaciono vreme može biti od 10 – 60 minuta). Zatim se dodaje po 60 µl Folin-Ciocalteu Fenol reagensa (Sigma Chemical, USA), koji se priprema pre upotrebe mešanjem 1 zapremine Folin-Ciocalteu Fenol reagensa i 1 zapremine dH₂O. Reakcione smeše se ponovo mešaju i inkubiraju 45 minuta na sobnoj temperaturi. Nakon toga se meri apsorbanca na 660 nm prema slepoj probi.

3.5. Određivanje koncentracije nukleotida u izolovanim regionima mozga

Tečna hromatografija visoke efikasnosti (HPLC – High Performance Liquid Chromatography) je tehnika za kvalitativno i kvantitativno određivanje sadržaja organskih supstanci u različitim uzorcima. Ovom tehnikom se može istovremeno odrediti više supstanci, jer se hromatografsko razdvajanje zasniva na različitoj raspodeli supstanci između dve faze: stacionarne i mobilne. Uzorci za HPLC analizu se pripremaju različitim postupcima u zavisnosti od porekla, nakon čega se vrši njihova identifikacija i kvantifikacija.

Za potrebe ovog eksperimenta korišćena je postojeća metoda za istovremeno određivanje većeg broja nukleotida (Jackson i sar., 1977). Limiti detekcije i kvantifikacije su izraženi u nanomolima supstance nanetim na hromatografsku kolonu. Izračunati su matematičkim putem i predstavljaju tri, odnosno deset puta standardnu devijaciju signalnog šuma u vremenskom intervalu u kome se eluira maksimum ispitivanog jedinjenja.

U cilju određivanja koncentracija IMP, cAMP, ATP i GTP, eksperimentalne životinje su žrtvovane dekapitacijom neposredno po prestanku akutnog (1, 3 i 7 dana) i hroničnog izlaganja ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT). Mozgovi su izvađeni i stavljeni na led. Izolovani su regioni mozga (korteks i strijatum) i izmerene im mase za svaku životinju posebno. Izolovani regioni mozga su homogenizovani u 0.15 M KCl, pH 7.4 (Ultra-turax homogenizer max. brzina) 30 sekundi, pri čemu je na 100 mg tkiva dodavano 100 μ l KCl. Uzorci su potom centrifugirani 5 minuta na 12000 obrtaja/min. Po 100 μ l supernatanta je odvojeno od svakog uzorka i tretirano na sledeći način:

- Supernatantu je dodato 100 μ l 0.1 M rastvora HCl u metanolu, a zatim je uzorak ostavljen 5 minuta na -20°C ;
- Uzorku je dodato po 300 μ l 0.3 M perhlorne kiseline i 100 μ l 1 mM rastvora EDTA, uz mešanje;
- Ovaj rastvor je zatim centrifugiran 5 minuta na 12000 obrtaja/min;
- Bistar supernatant je odvojen i neutralisan sa 50 μ l 1.5 M rastvora K_2CO_3 i ponovo centrifugiran 5 minuta na 12000 obrtaja/min;
- Bistar supernatant je odvojen i profiltriran kroz Sartorius filter 0.2 μm i injektovan direktno u tečni hromatograf ili čuvan na -20°C do analize.

3.5.1. Hromatografska metoda i uslovi hromatografisanja

Hromatografska analiza je rađena na tečnom hromatografu Hewlett Packard 1100, sa binarnom pumpom i diode-array detektorom. Identifikacija pikova je izvršena na osnovu retencionog vremena i UV spektara, a kvantifikacija metodom eksternog standarda.

Uslovi hromatografisanja:

Kolona: Whatman, Partisil 10 – SAX, 25 cm x 4.6 mm, 5 μm

Injekciona zapremina: 100 μ l

Talaska dužina: 254 nm

Protok: 2 ml/min

Temperatura: 25°C

Mobilna faza:

Pufer P1: 0.038 M KH_2PO_4 , pH 3.7

Pufer P2: 0.42 M KH_2PO_4 , pH 3.7

Gradijent: 0 min – 0% B

5 min – 0% B

8 min – 100% B

35 min – 100% B

Ekvilibracija: 5 min. sa 100% pufera P1.

Supstance korišćene za pripremu uzoraka i hromatografske analize, neorganske i organske soli, organski rastvarači, kiseline i baze, nabavljene su od firme Merck. Sve navedene hemikalije su bile p.a. i HPLC grade kvaliteta.

3.6. Statistička analiza podataka

Rezultati eksperimenata u kojima je praćeno ponašanje su predstavljeni grafički kao srednja vrednost \pm standardna greška svakog parametra motorne aktivnosti registrovanog u toku 120 minuta, u intervalima od 30 minuta ($n = 6 - 7$ životinja po grupi). Za utvrđivanje razlika između grupa korišćena je dvofaktorijalna ANOVA (tretman \times 30-minutni interval) za ponovljena merenja, a za detaljna statistička poređenja *post hoc* LSD test. Podaci koji nisu imali normalnu distribuciju pri proceni Kolmogorov-Smirnov-im testom, pre analize su transformisani primenom standardnih matematičkih procedura kao što su logaritmovanje i kvadratni koren.

Za procenu efekata hroničnog tretmana ENF-MP na telesnu masu životinja, izračunate su prosečna telesna masa jedinke po okotu pre razdvajanja muškog i ženskog potomstva svaki drugi dan i prosečna telesna masa muških i ženskih jedinki nakon razdvajanja svakih 7 dana. Statistička analiza podataka dobijenih za kontrolne i tretirane životinje je urađena primenom Studentovog t testa.

Parametri aktivnosti ispitivanih receptora (K_d i B_{max}) su dobijeni korišćenjem nelinearne regresione analize u GraphPadPrism 4.0 programu i izračunati za svaku eksperimentalnu grupu kao srednja vrednost \pm standardna greška od tri nezavisna eksperimenta urađena u duplikatu. Dobijene vrednosti su predstavljene grafički kao procentualna promena u odnosu na kontrolnu vrednost koja je uzimana kao 100%. Za utvrđivanje razlika između grupa u akutnom eksperimentu je korišćena jednofaktorijalna ANOVA praćena *post hoc* LSD testom, a u hroničnom eksperimentu Studentov t test.

Podaci dobijeni HPLC analizom su prikazani tabelarno kao srednja vrednost \pm standardna greška koncentracije nukleotida po gramu tkiva ispitivanog regiona mozga ($n = 4 - 5$ životinja po grupi) i procentualno u odnosu na vrednost *sham* životinja koja je uzimana kao 100%. Za statističku analizu podataka dobijenih nakon akutnog tretmana ENF-MP korišćena je jednofaktorijalna ANOVA praćena *post hoc* LSD testom, a nakon hroničnog izlaganja MP Studentov t test.

Rezultati svih navedenih analiza su smatrani statistički značajnim kada je $P < 0.05$.



Slika 14. Uticaj akutnog izlaganja ENF-MP (50 μ g, 0.1 ml) u trajanju od jednog (1), sedam (7) i četrnaest (14) dana na lokomotivnu aktivnost životinja izlaganih akutno ENF-MP u odnosu na kontrolnu jedinicu, na statističkom značajnosti u intervalu od 30. do 90. minuta za lokomotivnu aktivnost (slika 13). U periodu od 60. do 90. minuta registrirana značajna razlika je bila i u odnosu na životinje izlagane MP 7 i 14 dana ista, čije su vrednosti lokomotivnog i stereotipnog odgovora na nivou kontrolnih jedinki.

Statistički značajna razlika u odnosu na kontrolnu jedinicu je bila i u odnosu na životinje izlagane MP 7 i 14 dana ista, čije su vrednosti lokomotivnog i stereotipnog odgovora na nivou kontrolnih jedinki.

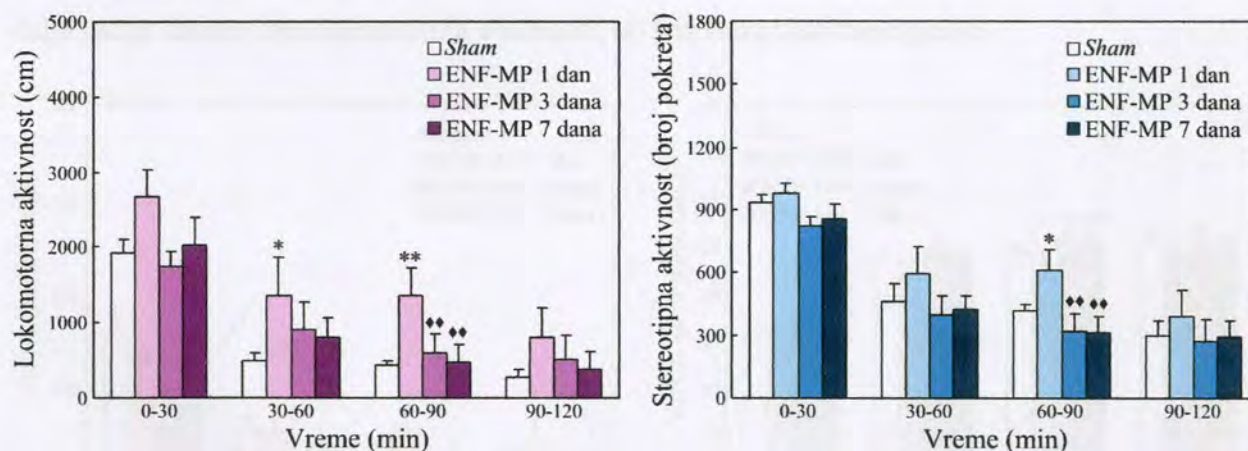
4. REZULTATI

4.1. Efekti promenljivog magnetnog polja na motorno ponašanje

➤ Akutno izlaganje

Vremenski tok spontane motorne aktivnosti tretiranih i kontrolnih životinja je bio sličan (opadajući) tokom celog perioda registrovanja, sa jasno izraženom tendencijom usporavanja nakon izlaganja ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) u toku jednog dana (slike 15 – 17). Statistička analiza dobijenih podataka je pokazala značajan efekat *30-minutnog intervala vremena* za sve ispitivane parametre motornog ponašanja ($24.30 \leq F_{(3,63)} \leq 81.61$, $P < 0.001$), dok su efekti *tretmana* i *interakcije* (tretman x 30-minutni interval) bili bez statističke značajnosti (podaci nisu pokazani).

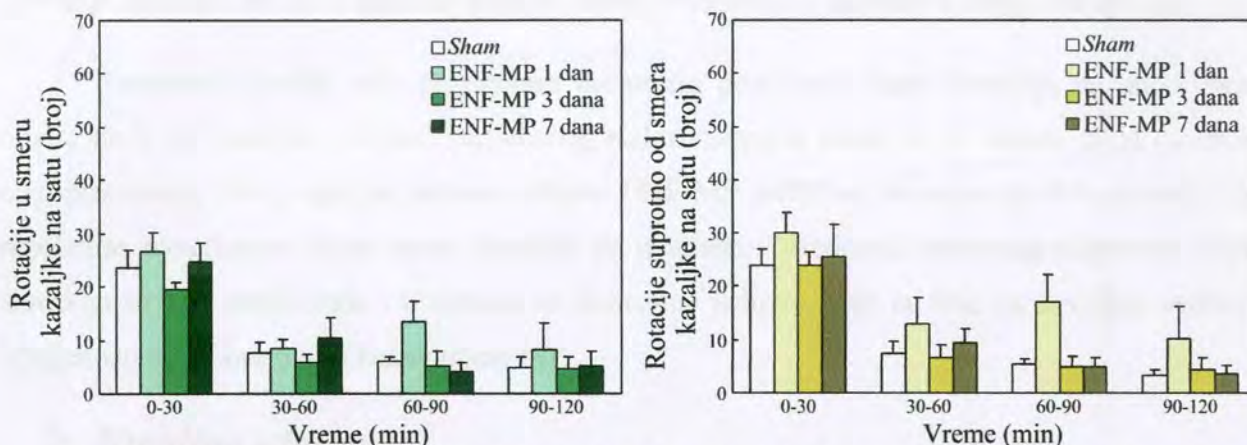
Detaljna poređenja su otkrila da izlaganje ENF-MP jedan dan povećava spontani **lokomotorni** i **stereotipni odgovor** eksperimentalnih životinja u toku celog perioda registrovanja u odnosu na kontrolne jedinice, sa statističkom značajnošću u intervalu od 30. do 90. minuta za lokomociju, odnosno 60. do 90. minuta za stereotipiju (slika 15). U periodu od 60. do 90. minuta registrovanja značajna razlika je bila i u odnosu na životinje izlagane MP tri i sedam dana, čije su vrednosti lokomotornog i stereotipnog odgovora na nivou kontrolnih jedinki.



Slika 15. Uticaj akutnog izlaganja ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) u trajanju od jednog, tri i sedam dana na lokomotornu i stereotipnu aktivnost eksperimentalnih životinja u «open field» testu. Rezultati su izraženi kao srednja vrednost \pm standardna greška za intervale od 30 minuta. * $P < 0.05$ i ** $P < 0.01$ ukazuju na statistički značajne razlike u odnosu na sham životinje. *** $P < 0.001$ ukazuje na statistički značajne razlike u odnosu na životinje izlagane ENF-MP jedan dan (dvofaktorijalna ANOVA za ponovljena merenja, LSD test).

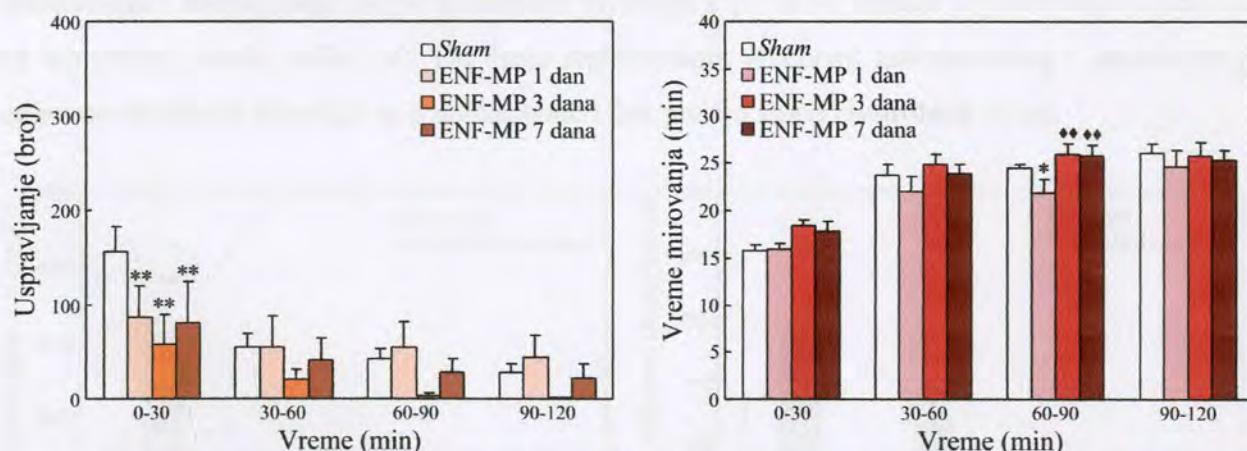
Rotaciono ponašanje eksperimentalnih životinja nije podložno promenama pod uticajem akutnog izlaganja ENF-MP (slika 16). Nakon tretmana MP jedan dan postoji trend povećanja broja rotacija u oba smera, posebno izražen u periodu od 60. do 90. minuta registrovanja. Unutar

svake eksperimentalne grupe nisu uočene razlike u broju rotacija koje jedinice naprave u smeru i suprotno od smera kazaljke na satu u odgovarajućem periodu registrovanja motorne aktivnosti.



Slika 16. Uticaj akutnog izlaganja ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) u trajanju od jednog, tri i sedam dana na rotacije eksperimentalnih životinja u smeru i suprotno od smera kazaljke na satu u «open field» testu. Rezultati su izraženi kao srednja vrednost \pm standardna greška za intervale od 30 minuta.

Vertikalna aktivnost ili uspravljanje eksperimentalnih životinja se nakon akutnog tretmana ENF-MP u trajanju od jednog, tri i sedam dana statistički značajno smanjuje u prvih 30 minuta izlaganja novoj sredini u odnosu na kontrolne životinje (slika 17). U kasnijim periodima registrovanja motornog ponašanja, razlika u vertikalnoj aktivnosti postepeno nestaje kod životinja izlaganih MP jedan i sedam dana, dok broj uspravljanja pacova tretiranih MP tri dana i dalje ostaje daleko ispod kontrolnih vrednosti, ali bez statističke značajnosti.



Slika 17. Uticaj akutnog izlaganja ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) u trajanju od jednog, tri i sedam dana na uspravljanje i vreme mirovanja eksperimentalnih životinja u «open field» testu. Rezultati su izraženi kao srednja vrednost \pm standardna greška za intervale od 30 minuta. * $P < 0.05$ i ** $P < 0.01$ ukazuju na statistički značajne razlike u odnosu na sham životinje. ** $P < 0.01$ ukazuje na statistički značajne razlike u odnosu na životinje izlagane ENF-MP jedan dan (dvofaktorijalna ANOVA za ponovljena merenja, LSD test).

Kao posledica povećane lokomotorne i stereotipne aktivnosti, **vreme mirovanja** eksperimentalnih životinja izlaganih ENF-MP u trajanju od jednog dana je smanjeno od 30.

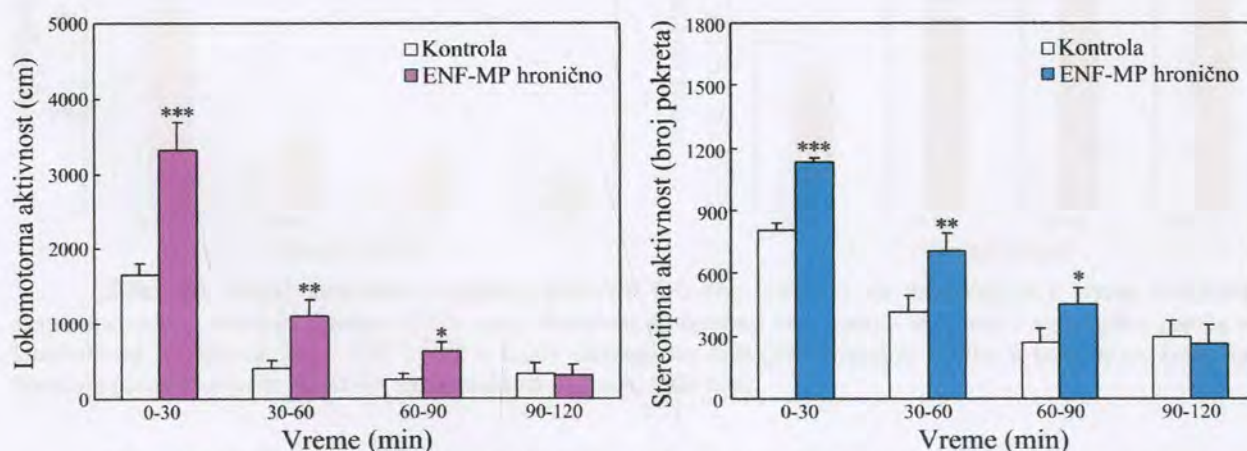
minuta do kraja perioda registrovanja u odnosu na ostale eksperimentalne grupe, pri čemu je ova razlika statistički značajna u intervalu od 60. do 90. minuta (slika 17). Za razliku od ovih životinja, tretman MP 3 i 7 dana ne utiče na vreme koje jedinke provode u stanju mirovanja.

Vremenski profili svih parametara motornog ponašanja *sham* životinja su slični bez obzira da li su boravile u blizini isključenog elektromagneta jedan, tri ili sedam dana (podaci nisu prikazani). Zbog toga pri proceni efekata ENF-MP različitog trajanja nije bilo potrebe za preciznim navođenjem koje *sham* izlaganje je u pitanju. Vrednosti motornog odgovora ovih životinja se nisu razlikovale i u odnosu na kontrolne jedinke, koje su bile na dovoljno velikoj udaljenosti da ne osete bilo kakav uticaj MP.

➤ Hronično izlaganje

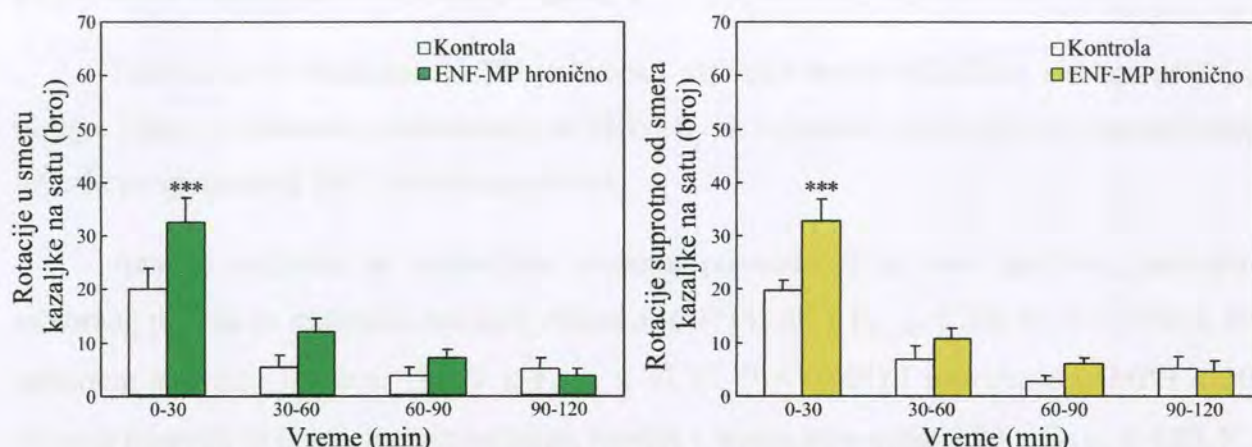
Za sve ispitivane parametre motornog ponašanja, primena statističke analize je pokazala značajan efekat *tretmana* (rotacije: $5.29 \leq F_{(1,12)} \leq 5.99$, $P < 0.05$; lokomocija, stereotipija i uspravljanje: $9.37 \leq F_{(1,12)} \leq 13.29$, $P < 0.01$; vreme mirovanja: $F_{(1,12)} = 24.20$, $P < 0.001$), *30-minutnog intervala vremena* ($39.64 \leq F_{(3,36)} \leq 77.71$, $P < 0.001$) i *interakcije* (tretman x 30-minutni interval) (lokomocija, stereotipija, uspravljanje i rotacije: $3.17 \leq F_{(3,36)} \leq 3.99$, $P < 0.05$; vreme mirovanja: $F_{(3,36)} = 4.84$, $P < 0.01$).

Post hoc poređenja su otkrila da hronični tretman ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) povećava **lokomociju i stereotipiju** eksperimentalnih životinja u prvih 90 minuta registrovanja u odnosu na kontrolne jedinke (slika 18). Do kraja registrovanja vrednosti lokomotornog i stereotipnog odgovora tretiranih životinja se izjednačavaju i čak padaju ispod kontrolnog nivoa.



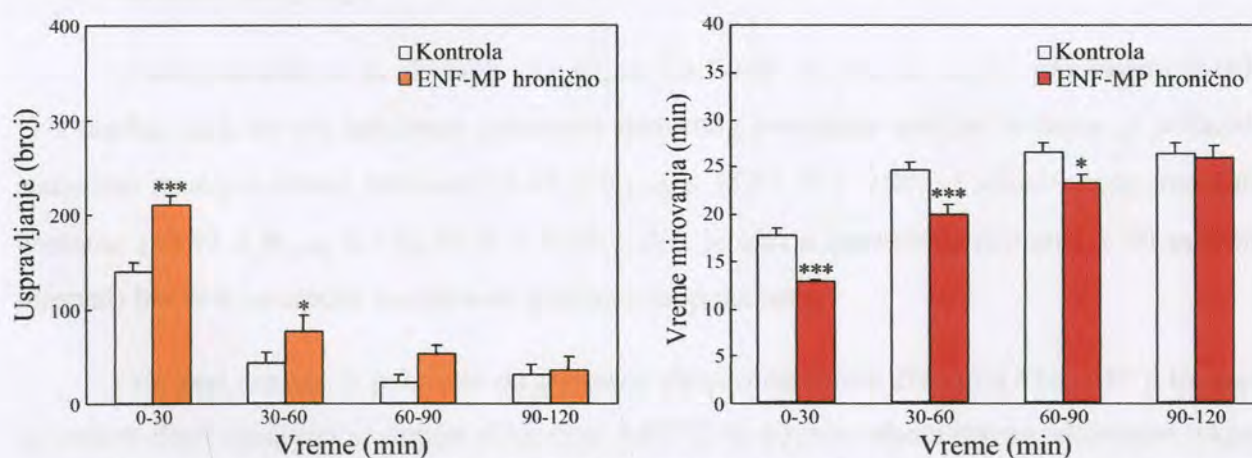
Slika 18. Uticaj hroničnog izlaganja ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) na lokomotornu i stereotipnu aktivnost eksperimentalnih životinja u «open field» testu. Rezultati su izraženi kao srednja vrednost \pm standardna greška za intervale od 30 minuta. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ i *** $P < 0.001$ ukazuju na statistički značajne razlike u odnosu na kontrolne životinje (dvofaktorijalna ANOVA za ponovljena merenja, LSD test).

Rotaciono ponašanje životinja hronično izlaganih ENF-MP je takođe povećano u odnosu na kontrolne jedinice sa statistički značajnom razlikom u prvih 30 minuta registrovanja motorne aktivnosti (slika 19). I u ovom slučaju nisu registrovane razlike u broju rotacija u smeru i suprotno od smera kazaljke na satu među jedinkama kontrolne i tretirane grupe.



Slika 19. Uticaj hroničnog izlaganja ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) na rotacije eksperimentalnih životinja u smeru i suprotno od smera kazaljke na satu u «open field» testu. Rezultati su izraženi kao srednja vrednost \pm standardna greška za intervale od 30 minuta. *** $P < 0.001$ ukazuje na statistički značajne razlike u odnosu na kontrolne životinje (dvofaktorijalna ANOVA za ponovljena merenja, LSD test).

Vertikalna aktivnost ili uspravljanje eksperimentalnih životinja se povećava nakon hroničnog izlaganja ENF-MP sve do 90. minuta registrovanja motorne aktivnosti, ali statistički značajno samo u prvih 60 minuta u odnosu na kontrolne jedinice (slika 20).



Slika 20. Uticaj hroničnog izlaganja ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) na uspravljanje i vreme mirovanja eksperimentalnih životinja u «open field» testu. Rezultati su izraženi kao srednja vrednost \pm standardna greška za intervale od 30 minuta. * $P < 0.05$ i *** $P < 0.001$ ukazuju na statistički značajne razlike u odnosu na kontrolne životinje (dvofaktorijalna ANOVA za ponovljena merenja, LSD test).

Kao posledica povećanih vrednosti svih parametara motornog ponašanja, **vreme mirovanja** eksperimentalnih životinja hronično izlaganih ENF-MP je značajno smanjeno u toku prvih 90 minuta registrovanja motorne aktivnosti u odnosu na kontrolne jedinice, što se poklapa

sa periodom intenzivne motorne hiperaktivnosti (slika 20). U poslednjih 30 minuta registrovanja vreme koje kontrolne i tretirane životinje provode u stanju mirovanja je približno isto.

4.2. Efekti promenljivog magnetnog polja na motorni odgovor izazvan primenom amfetamina (1.5 mg/kg, i.p.)

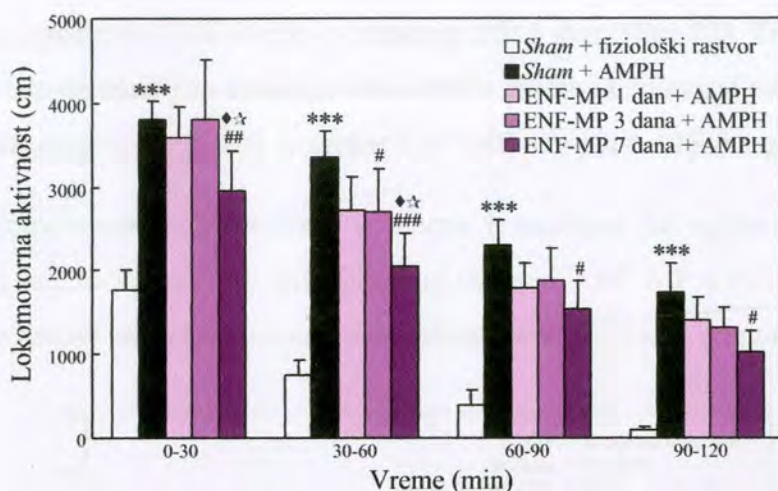
Psihomotorni stimulans AMPH je poznati aktivator dopaminergičkog sistema prednjeg mozga. Njegova primena u kombinaciji sa ENF-MP na indirektan način otkriva moguća mesta interakcije spoljašnjeg MP i biološkog sistema.

Analiza varijanse za ponovljena merenja pokazala je za sve ispitivane parametre motornog ponašanja statistički značajan efekat AMPH ($41.60 \leq F_{(1,11)} \leq 209.40$, $P < 0.001$), 30-minutnog intervala vremena ($11.99 \leq F_{(3,33)} \leq 41.23$, $P < 0.001$) i interakcije (AMPH x 30-minutni interval) (lokomocija, uspravljanje, rotacije i vreme mirovanja: $3.20 \leq F_{(3,33)} \leq 4.20$, $P < 0.05$; stereotipija: $F_{(3,33)} = 5.69$, $P < 0.01$). Detaljna poređenja su pokazala da aplikacija AMPH (1.5 mg/kg, i.p.) statistički značajno povećava sve ispitivane parametre motornog ponašanja eksperimentalnih životinja tokom celog perioda registrovanja u odnosu na sham/kontrolne jedinice injeciranje fiziološkim rastvorom (slike 21 – 29). Ova motorna hiperaktivnost je korišćena za procenu efekata akutnog i hroničnog pretretmana ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT).

➤ Akutno izlaganje

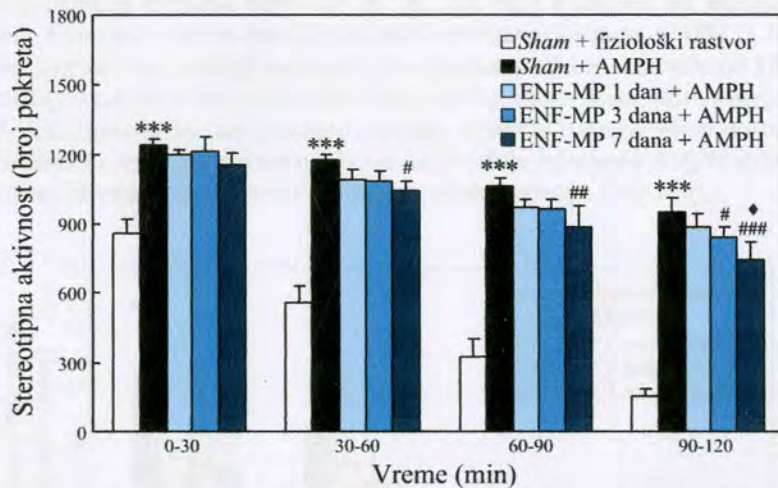
U eksperimentima sa akutnim izlaganjem ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) i primenom AMPH (1.5 mg/kg, i.p.), za sve ispitivane parametre motornog ponašanja analiza varijanse je pokazala statistički značajan efekat tretmana ($6.18 \leq F_{(4,26)} \leq 38.47$, $P < 0.001$) i 30-minutnog intervala vremena ($43.93 \leq F_{(3,78)} \leq 136.50$, $P < 0.001$), dok je efekat interakcije (tretman x 30-minutni interval) bio bez statističke značajnosti (podaci nisu pokazani).

Post hoc analiza je pokazala da izlaganje eksperimentalnih životinja ENF-MP u trajanju od sedam dana značajno smanjuje efikasnost AMPH da poveća **lokomotornu aktivnost** tokom celog perioda registrovanja u poređenju sa kontrolnim jedinkama tretiranim AMPH. Isti efekat je zabeležen i u odnosu na jedinice injecirane AMPH nakon tretmana MP jedan i tri dana u prvih 60 minuta registrovanja motorne aktivnosti (slika 21). U intervalu od 30. do 60. minuta je registrovano značajno smanjenje AMPH odgovora životinja prethodno tretiranih MP u trajanju od tri dana u odnosu na kontrolne jedinice. Efekat izlaganja MP u toku jednog dana, iako se pokazao inhibitornim na AMPH lokomotorni odgovor, nije bio statistički značajan.



Slika 21. Uticaj akutnog tretmana ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) u trajanju od jednog, tri i sedam dana na lokomotornu aktivnost eksperimentalnih životinja izazvanu primenom AMPH (1.5 mg/kg, i.p.) u «open field» testu. Rezultati su izraženi kao srednja vrednost \pm standardna greška za intervale od 30 minuta. *** $P < 0.001$ ukazuje na statistički značajne razlike u odnosu na sham životinje injicirane fiziološkim rastvorom (1 ml/kg, i.p.). # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ i ### $P < 0.001$ predstavljaju statistički značajne razlike u odnosu na sham životinje tretirane istom dozom AMPH. * $P < 0.05$ i ** $P < 0.05$ ukazuju na statistički značajne razlike u odnosu na životinje injicirane AMPH nakon izlaganja ENF-MP jedan dan, odnosno tri dana (dvofaktorijalna ANOVA za ponovljena merenja, LSD test).

Poređenjem slika 21. i 22. može se uočiti sličnost u dinamici promena stereotipne i lokomotorne aktivnosti za svaku ispitivanu grupu.

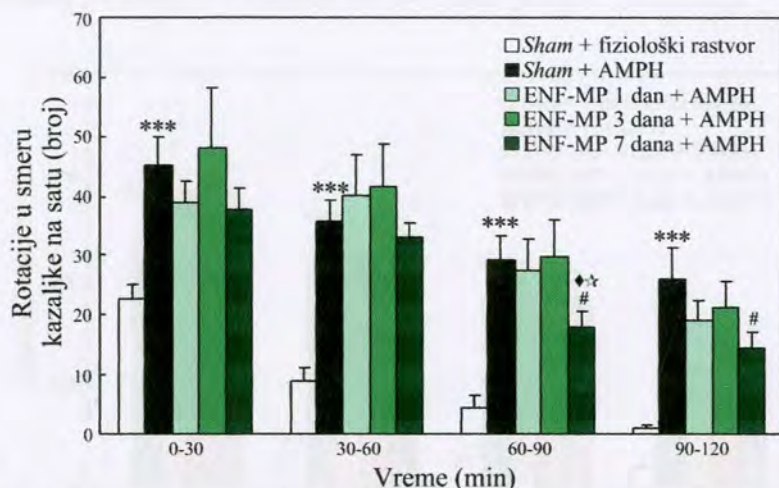


Slika 22. Uticaj akutnog tretmana ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) u trajanju od jednog, tri i sedam dana na stereotipnu aktivnost eksperimentalnih životinja izazvanu primenom AMPH (1.5 mg/kg, i.p.) u «open field» testu. Rezultati su izraženi kao srednja vrednost \pm standardna greška za intervale od 30 minuta. *** $P < 0.001$ ukazuje na statistički značajne razlike u odnosu na sham životinje injicirane fiziološkim rastvorom (1 ml/kg, i.p.). # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ i ### $P < 0.001$ predstavljaju statistički značajne razlike u odnosu na sham životinje tretirane istom dozom AMPH. * $P < 0.05$ ukazuje na statistički značajne razlike u odnosu na životinje injicirane AMPH nakon izlaganja ENF-MP jedan dan (dvofaktorijalna ANOVA za ponovljena merenja, LSD test).

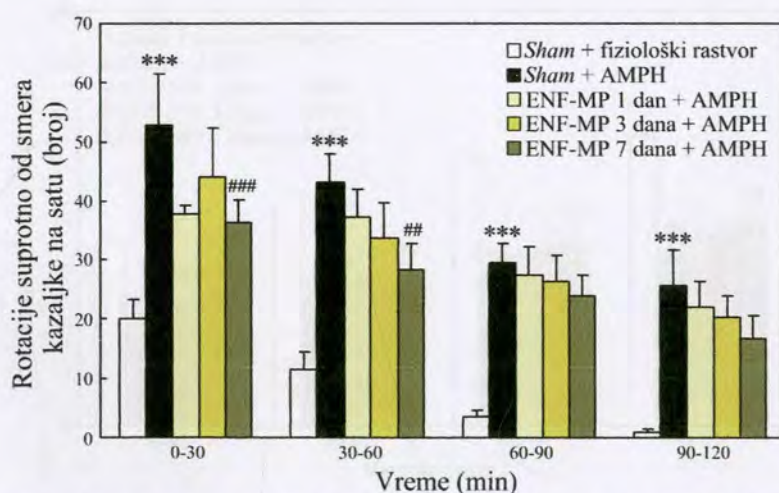
Izlaganje eksperimentalnih životinja ENF-MP u toku 7 dana statistički značajno smanjuje efikasnost AMPH da stimuliše **stereotipnu aktivnost** od 30. do 120. minuta u poređenju sa kontrolnim jedinkama tretiranim AMPH i u periodu od 90. do 120. minuta registrovanja u

odnosu na životinje injecirane AMPH nakon izlaganja MP 1 dan (slika 22). Tretman ENF-MP u trajanju od 3 dana takođe značajno smanjuje stereotipiju životinja izazvanu primenom AMPH u poslednjih 30 minuta registrovanja, dok je efekat ENF-MP u trajanju od jednog dana izostao.

Rotacije eksperimentalnih životinja u smeru i suprotno od smera kazaljke na satu izazvane AMPH se statistički značajno smanjuju pod uticajem ENF-MP u trajanju od 7 dana i to u drugom, odnosno prvom satu registrovanja u poređenju sa kontrolnom grupom (slike 23 – 24).



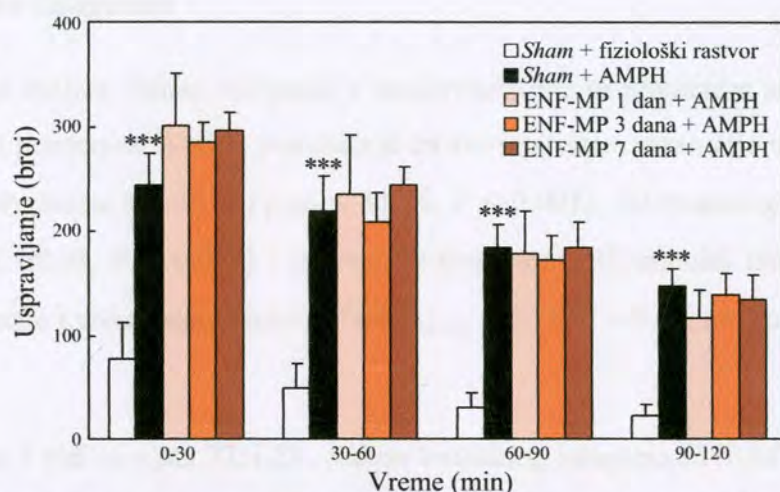
Slika 23. Uticaj akutnog tretmana ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) u trajanju od jednog, tri i sedam dana na rotacije eksperimentalnih životinja u smeru kazaljke na satu izazvane primenom AMPH (1.5 mg/kg, i.p.) u «open field» testu. Rezultati su izraženi kao srednja vrednost \pm standardna greška za intervale od 30 minuta. *** $P < 0.001$ ukazuje na statistički značajne razlike u odnosu na sham životinje injecirane fiziološkim rastvorom (1 ml/kg, i.p.). # $P < 0.05$ predstavlja statistički značajne razlike u odnosu na sham životinje tretirane istom dozom AMPH. * $P < 0.05$ i * $P < 0.05$ ukazuju na statistički značajne razlike u odnosu na životinje injecirane AMPH nakon izlaganja ENF-MP jedan dan, odnosno tri dana (dvofaktorijalna ANOVA za ponovljena merenja, LSD test).



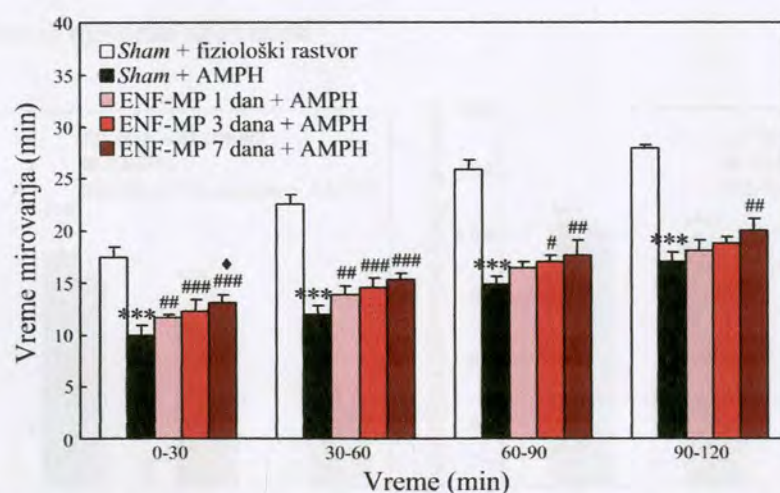
Slika 24. Uticaj akutnog tretmana ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) u trajanju od jednog, tri i sedam dana na rotacije eksperimentalnih životinja suprotno od smera kazaljke na satu izazvane primenom AMPH (1.5 mg/kg, i.p.) u «open field» testu. Rezultati su izraženi kao srednja vrednost \pm standardna greška za intervale od 30 minuta. *** $P < 0.001$ ukazuje na statistički značajne razlike u odnosu na sham životinje injecirane fiziološkim rastvorom (1 ml/kg, i.p.). ### $P < 0.01$ i #### $P < 0.001$ predstavlja statistički značajne razlike u odnosu na sham životinje tretirane istom dozom AMPH (dvofaktorijalna ANOVA za ponovljena merenja, LSD test).

Značajno smanjenje rotacija izazvanih AMPH u smeru kazaljke na satu nakon tretmana MP 7 dana je uočeno i u odnosu na životinje izlagane MP 1 i 3 dana od 60. do 90. minuta. Bitno zapažanje je da ni kod jedne od ispitivanih grupa nije nađena razlika u broju rotacija koje jedinke naprave u toku odgovarajućeg intervala vremena u smeru i suprotno od smera kazaljke na satu.

Uspravljanje eksperimentalnih životinja izazvano primenom AMPH se ne menja kao rezultat akutnog tretmana ENF-MP, iako postoji tendencija povećanja u prvih 30 minuta registrovanja motornog ponašanja u odnosu na kontrolne jedinke (slika 25).



Slika 25. Uticaj akutnog tretmana ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) u trajanju od jednog, tri i sedam dana na uspravljajanje eksperimentalnih životinja izazvano primenom AMPH (1.5 mg/kg, i.p.) u «open field» testu. Rezultati su izraženi kao srednja vrednost \pm standardna greška za intervale od 30 minuta. *** $P < 0.001$ ukazuje na statistički značajne razlike u odnosu na *sham* životinje injicirane fiziološkim rastvorom (1 ml/kg, i.p.) (dvofaktorijalna ANOVA za ponovljena merenja, LSD test).



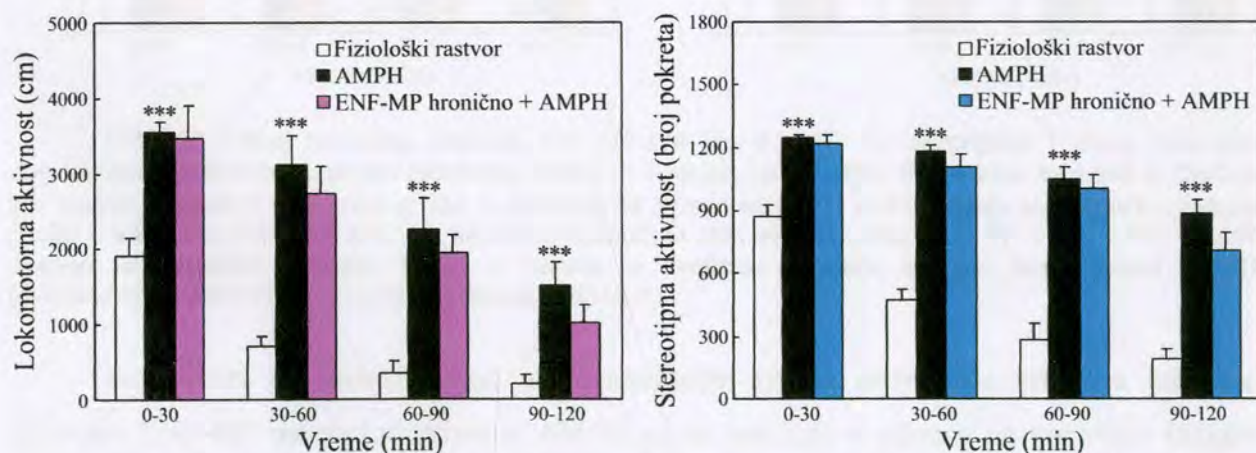
Slika 26. Uticaj akutnog tretmana ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) u trajanju od jednog, tri i sedam dana na vreme mirovanja eksperimentalnih životinja izazvano primenom AMPH (1.5 mg/kg, i.p.) u «open field» testu. Rezultati su izraženi kao srednja vrednost \pm standardna greška za intervale od 30 minuta. *** $P < 0.001$ ukazuje na statistički značajne razlike u odnosu na *sham* životinje injicirane fiziološkim rastvorom (1 ml/kg, i.p.). # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ i #### $P < 0.001$ predstavljaju statistički značajne razlike u odnosu na *sham* životinje tretirane istom dozom AMPH. * $P < 0.05$ ukazuje na statistički značajne razlike u odnosu na životinje injicirane AMPH nakon izlaganja ENF-MP jedan dan (dvofaktorijalna ANOVA za ponovljena merenja, LSD test).

S obzirom na pretežno inhibitorni uticaj akutnog tretmana ENF-MP na motornu aktivnost izazvanu primenom AMPH, **vreme mirovanja** eksperimentalnih životinja je povećano u prvih 60 i 90 minuta nakon tretmana ENF-MP jedan i tri dana, odnosno tokom celog perioda registrovanja nakon izlaganja ENF-MP sedam dana, u poređenju sa kontrolnim jedinkama tretiranim AMPH (slika 26). Pored toga, u prvih 30 minuta registrovanja motorne aktivnosti uočena je razlika između jedinki tretiranih ENF-MP u toku jednog i sedam dana u vremenu koje provode u stanju mirovanja nakon primene AMPH.

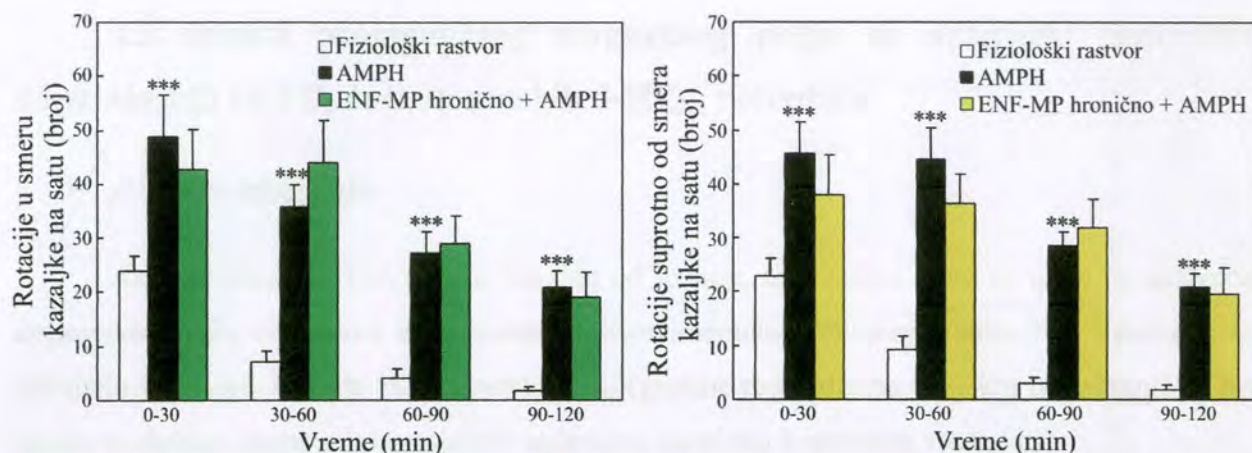
➤ *Hronično izlaganje*

Statistička analiza podata dobijenih u eksperimentima sa hroničnim izlaganjem ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) i primenom AMPH pokazala je za sve ispitivane parametre motornog ponašanja značajan efekat *tretmana* ($15.54 \leq F_{(2,16)} \leq 85.76$, $P < 0.001$), *30-minutnog intervala vremena* ($21.59 \leq F_{(3,48)} \leq 68.98$, $P < 0.001$) i *interakcije* (tretman x 30-minutni interval) (lokomocija, uspravljanje, rotacije i vreme mirovanja: $2.74 \leq F_{(6,48)} \leq 3.12$, $P < 0.05$; stereotipija: $F_{(6,48)} = 4.20$, $P < 0.01$).

Kao što se i vidi sa slika 27. i 28., nakon hroničnog izlaganja ENF-MP vremenski profili **lokomotornog, stereotipnog i rotacionog odgovora** (u smeru i suprotno od smera kazaljke na satu) eksperimentalnih životinja izazvanog i.p. primenom AMPH u dozi od 1.5 mg/kg su slični kontrolnim jedinkama tretiranim istom dozom AMPH. Kod obe grupe odgovor je najintenzivniji u prvih 30 minuta, neposredno nakon stavljanja životinja u novu sredinu, nakon čega se smanjuje do kraja registrovanja motorne aktivnosti.

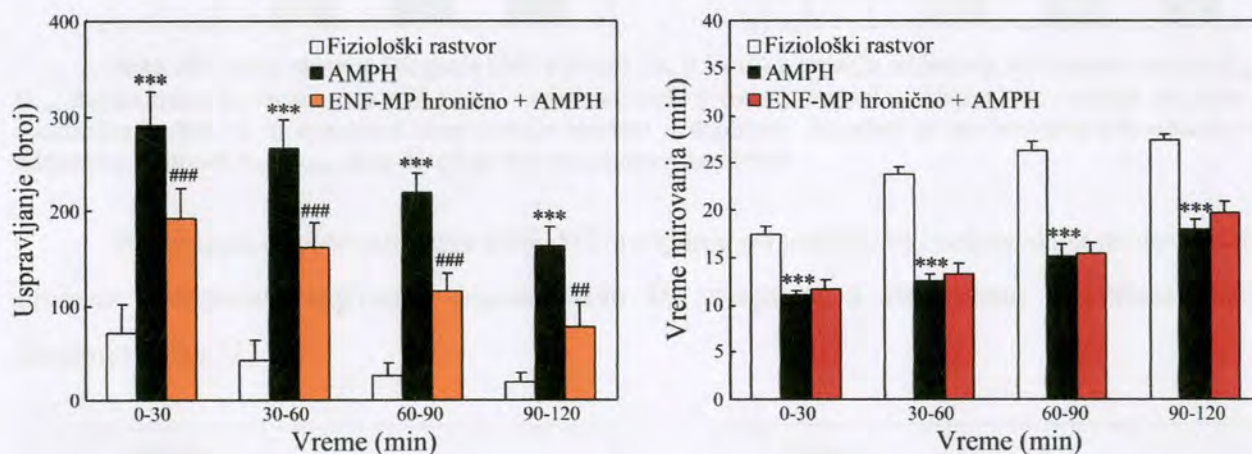


Slika 27. Uticaj hroničnog tretmana ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) na lokomotornu i stereotipnu aktivnost eksperimentalnih životinja izazvanu primenom AMPH (1.5 mg/kg, i.p.) u «open field» testu. Rezultati su izraženi kao srednja vrednost \pm standardna greška za intervale od 30 minuta. *** $P < 0.001$ ukazuje na statistički značajne razlike u odnosu na kontrolne životinje injecirane fiziološkim rastvorom (1 ml/kg, i.p.) (dvofaktorijalna ANOVA za ponovljena merenja, LSD test).



Slika 28. Uticaj hroničnog tretmana ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) na rotacije eksperimentalnih životinja u smeru i suprotno od smera kazaljke na satu izazvane primenom AMPH (1.5 mg/kg, i.p.) u «open field» testu. Rezultati su izraženi kao srednja vrednost \pm standardna greška za intervale od 30 minuta. *** $P < 0.001$ ukazuje na statistički značajne razlike u odnosu na kontrolne životinje injicirane fiziološkim rastvorom (1 ml/kg, i.p.) (dvofaktorijalna ANOVA za ponovljena merenja, LSD test).

Međutim, hronični tretman ENF-MP statistički značajno smanjuje efikasnost AMPH da poveća **vertikalnu aktivnost** ili **uspravljanje** životinja tokom ukupnog perioda registrovanja motorne aktivnosti u odnosu na kontrolne jedinke tretirane AMPH (slika 29).



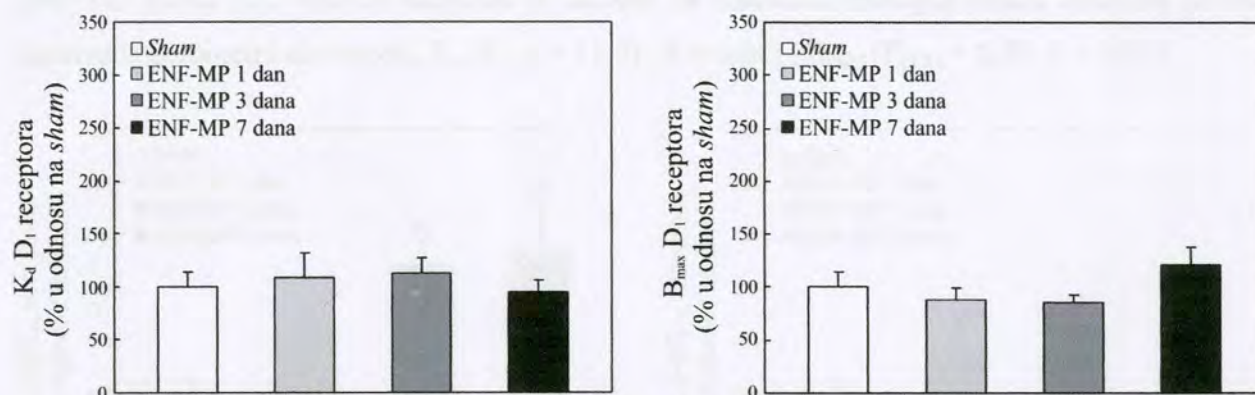
Slika 29. Uticaj hroničnog tretmana ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) na uspravljanje i vreme mirovanja eksperimentalnih životinja izazvano primenom AMPH (1.5 mg/kg, i.p.) u «open field» testu. Rezultati su izraženi kao srednja vrednost \pm standardna greška za intervale od 30 minuta. *** $P < 0.001$ ukazuje na statistički značajne razlike u odnosu na kontrolne životinje injicirane fiziološkim rastvorom (1 ml/kg, i.p.). ## $P < 0.01$ i ### $P < 0.001$ ukazuju na statistički značajne razlike u odnosu na kontrolne životinje tretirane istom dozom AMPH (dvofaktorijalna ANOVA za ponovljena merenja, LSD test).

Bez obzira na uočeni efekat na uspravljanje, **vreme mirovanja** životinja hronično tretiranih ENF-MP nakon i.p. primene AMPH se ne razlikuje u odnosu na kontrolne jedinke tretirane AMPH (slika 29).

4.3. Efekti promenljivog magnetnog polja na aktivnost centralnih dopaminskih D_1 i D_2 i serotoniniskih $5-HT_{2A}$ receptora

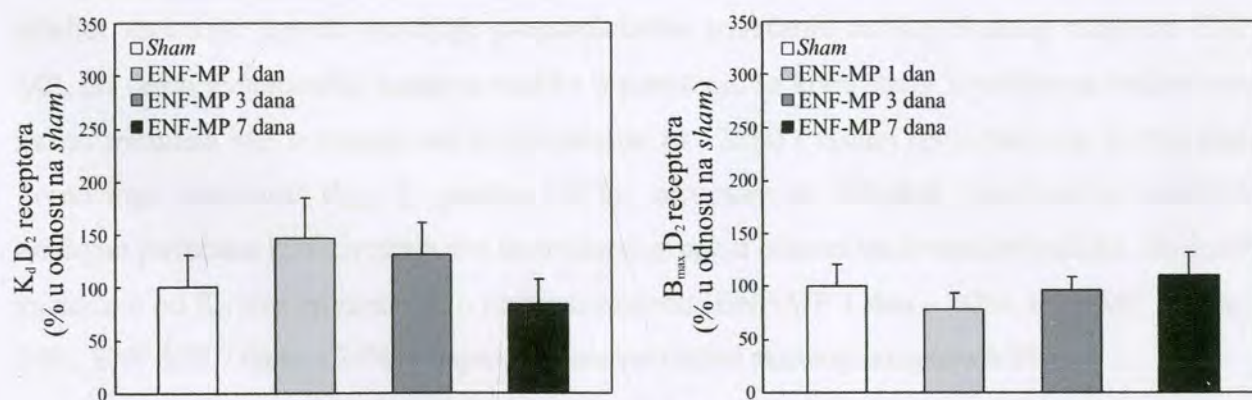
➤ Akutno izlaganje

Akutno izlaganje ENF-MP u trajanju od jednog, tri i sedam dana ne utiče na aktivnost dopaminskih D_1 receptora u strijatumu eksperimentalnih životinja (slika 30). Vrednosti K_d (afiniteta vezivanja liganda za receptor) i B_{max} (gustine receptora na ćelijskoj membrani) su bez obzira na dužinu akutnog izlaganja MP uglavnom na nivou kontrolnih vrednosti.



Slika 30. Uticaj akutnog izlaganja ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) u trajanju od jednog, tri i sedam dana na K_d i B_{max} dopaminskih D_1 receptora u strijatumu eksperimentalnih životinja. Podaci su izraženi kao srednja vrednost \pm standardna greška od tri nezavisna eksperimenta urađena u duplikatu. Rezultati su predstavljani procentualno u odnosu na vrednosti K_d i B_{max} sham životinja koje su uzimane kao 100%.

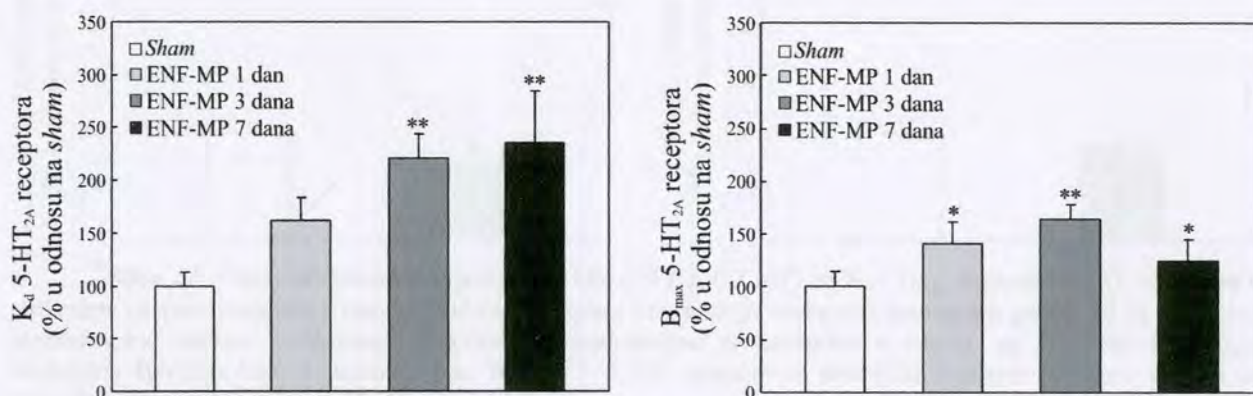
Pored toga, akutno izlaganje ENF-MP u trajanju od jednog, tri i sedam dana ne dovodi do promene parametara aktivnosti dopaminskih D_2 receptora u strijatumu eksperimentalnih životinja (slika 31).



Slika 31. Uticaj akutnog izlaganja ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) u trajanju od jednog, tri i sedam dana na K_d i B_{max} dopaminskih D_2 receptora u strijatumu eksperimentalnih životinja. Podaci su izraženi kao srednja vrednost \pm standardna greška od tri nezavisna eksperimenta urađena u duplikatu. Rezultati su predstavljani procentualno u odnosu na vrednosti K_d i B_{max} sham životinja koje su uzimane kao 100%.

Međutim, za razliku od D_1 receptora u ovom slučaju je očigledna tendencija povećanja K_d (tj. smanjenja afiniteta vezivanja liganda za receptor) nakon izlaganja MP u trajanju od jednog i tri dana u poređenju sa kontrolnim životinjama, ali bez statističke značajnosti. Vrednosti B_{max} (gustine receptora na membrani) za ovaj tip dopaminskog receptora su, sa izuzetkom životinja izlaganih MP jedan dan kod kojih je uočena tendencija smanjenja, kod ostale dve tretirane grupe bile slične vrednosti kontrolnih životinja.

Aktivnost serotoninskih $5-HT_{2A}$ receptora u prefrontalnoj kori velikog mozga eksperimentalnih životinja je podložna promenama u zavisnosti od dužine akutnog izlaganja ENF-MP (slika 32). Analiza varijanse je ukazala na statistički značajan efekat tretmana za oba ispitivana parametra aktivnosti, K_d ($F_{(3,8)} = 11.51, P < 0.01$) i B_{max} ($F_{(3,8)} = 8.89, P < 0.01$).



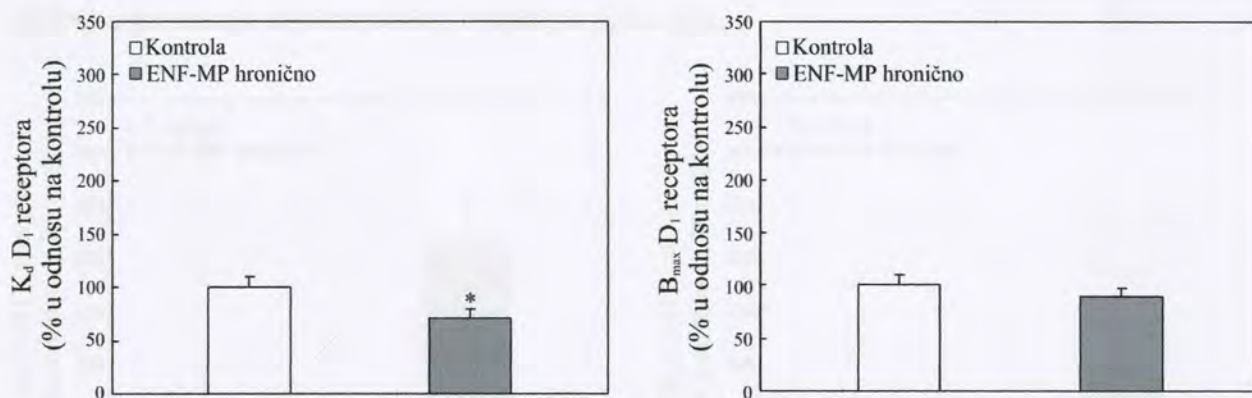
Slika 32. Uticaj akutnog izlaganja ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) u trajanju od jednog, tri i sedam dana na aktivnost serotoninskih $5-HT_{2A}$ receptora u prefrontalnoj kori velikog mozga eksperimentalnih životinja. Podaci su izraženi kao srednja vrednost \pm standardna greška od tri nezavisna eksperimenta urađena u duplikatu. Rezultati su predstavljani procentualno u odnosu na vrednosti K_d i B_{max} sham životinja koje su uzimane kao 100%. * $P < 0.05$ i ** $P < 0.01$ ukazuju na statistički značajne razlike u odnosu na sham životinje (jednofaktorijalna ANOVA, LSD test).

Post hoc poređenja su pokazala da se K_d ovih receptora povećava, odnosno njihov afinitet vezivanja liganda smanjuje proporcionalno povećanju dužine akutnog izlaganja ENF-MP, pri čemu je statistički značajna razlika u poređenju sa kontrolnim životinjama registrovana nakon tretmana MP u trajanju od tri (povećanje za 120%) i sedam (povećanje za 136%) dana. Pored toga, vrednosti B_{max} tj. gustina $5-HT_{2A}$ receptora na ćelijskoj membrani je statistički značajno povećana kod životinja sve tri tretirane grupe u odnosu na kontrolne jedinice. Međutim, za razliku od K_d ove promene su u manjem stepenu (ENF-MP 1 dan – 40%; ENF-MP 3 dana – 64%; ENF-MP 7 dana – 24%) i neproporcionalne dužini akutnog izlaganja MP.

Parametri aktivnosti (K_d i B_{max}) centralnih dopaminskih D_1 i D_2 , i serotoninskih $5-HT_{2A}$ receptora sham životinja se ne razlikuju u zavisnosti od toga da li su jedinice bile u blizini isključenog magneta 1, 3 ili 7 dana, kao i u odnosu na kontrolnu grupu (podaci nisu prikazani).

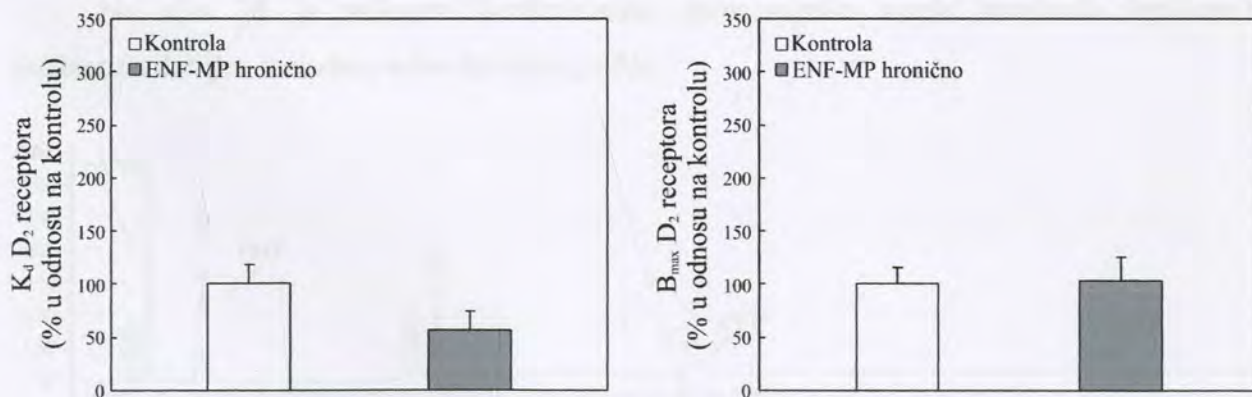
➤ Hronično izlaganje

Hronični tretman eksperimentalnih životinja ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT), od začeca do starosti od oko 3 meseca, statistički značajno smanjuje K_d ($t = 4.29$, d.f. = 4, $P < 0.05$), odnosno povećava afinitet **dopaminskih D_1 receptora u strijatumu** u odnosu na kontrolnu grupu (slika 33). Za razliku od K_d , gustina D_1 receptora na membranama strijatuma (B_{max}) eksperimentalnih životinja i pored pokazane tendencije smanjenja pod uticajem hroničnog izlaganja MP, nije se značajno menjala u poređenju sa kontrolnim jedinkama (slika 33).



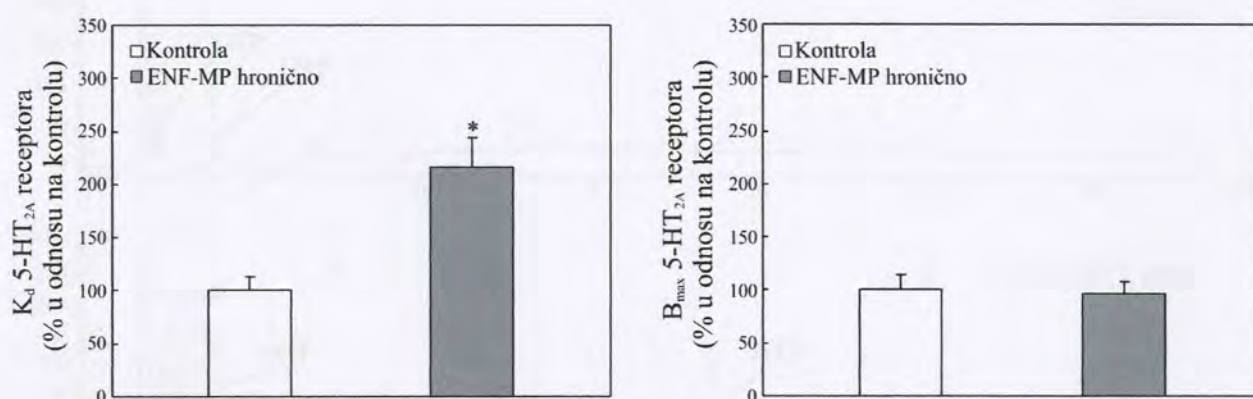
Slika 33. Uticaj hroničnog izlaganja ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) na K_d i B_{max} dopaminskih D_1 receptora u strijatumu eksperimentalnih životinja. Podaci su izraženi kao srednja vrednost \pm standardna greška od tri nezavisna eksperimenta urađena u duplikatu. Rezultati su predstavljene procentualno u odnosu na vrednosti K_d i B_{max} kontrolnih životinja koje su uzimane kao 100%. $P < 0.05$ ukazuje na statistički značajne razlike u odnosu na kontrolne životinje (Studentov t test).

Dopaminski D_2 receptori u strijatumu eksperimentalnih životinja pokazuju trend smanjenja K_d na 56% od kontrolne vrednosti kod jedinki hronično izlaganih ENF-MP, ali za razliku od D_1 receptora bez statističke značajnosti (slika 34). Vrednost B_{max} za ovaj tip dopaminskog receptora je nakon hroničnog tretmana MP gotovo ista kao kontrolna (slika 34).



Slika 34. Uticaj hroničnog izlaganja ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) na K_d i B_{max} dopaminskih D_2 receptora u strijatumu eksperimentalnih životinja. Podaci su izraženi kao srednja vrednost \pm standardna greška od tri nezavisna eksperimenta urađena u duplikatu. Rezultati su predstavljene procentualno u odnosu na vrednosti K_d i B_{max} kontrolnih životinja koje su uzimane kao 100%.

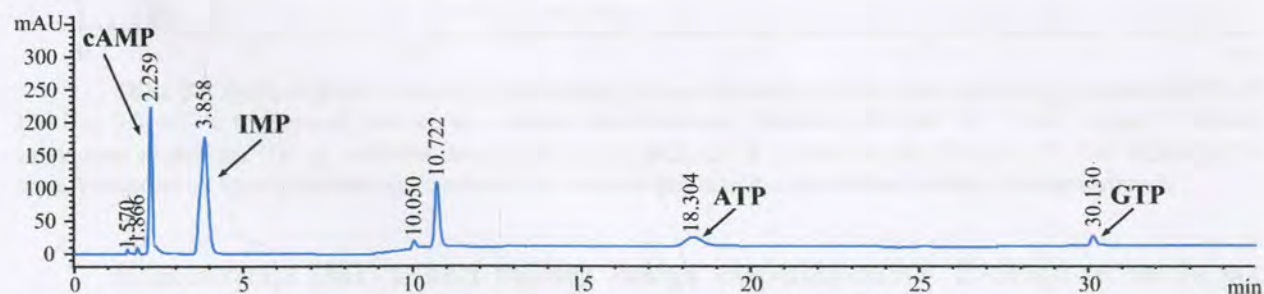
Za razliku od dopaminskih receptora u strijatumu, aktivnost **serotoninskih 5-HT_{2A} receptora u prefrontalnoj kori velikog mozga** eksperimentalnih životinja je podložna promenama pod uticajem hroničnog izlaganja ENF-MP (slika 35). Statistička analiza dobijenih podataka je pokazala da se K_d ovih receptora značajno povećava, odnosno njihov afinitet smanjuje za 116.7% ($t = -4.11$, d.f. = 4, $P < 0.05$) u odnosu na vrednost kontrolnih životinja, kao posledica hroničnog tretmana ENF-MP. Drugi parametar aktivnosti ovih receptora (B_{max}) pokazao se manje podložan promenama pod uticajem MP. Gustina 5-HT_{2A} receptora na membranama prefrontalne kore velikog mozga životinja hronično tretiranih MP je neznatno niža (4.2%) u poređenju sa kontrolnim jedinkama (slika 35).



Slika 35. Uticaj hroničnog izlaganja ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) na K_d i B_{max} serotoninskih 5-HT_{2A} receptora u prefrontalnoj kori velikog mozga eksperimentalnih životinja. Podaci su izraženi kao srednja vrednost \pm standardna greška od tri nezavisna eksperimenta urađena u duplikatu. Rezultati su predstavljeni procentualno u odnosu na vrednosti K_d i B_{max} kontrolnih životinja koje su uzimane kao 100%. * $P < 0.05$ ukazuje na statistički značajne razlike u odnosu na kontrolne životinje (Studentov t test).

4.4. Efekti promenljivog magnetnog polja na koncentraciju nukleotida IMP, cAMP, ATP i GTP

Na slici 36. je prikazan karakteristični hromatogram smeše standarda ispitivanih nukleotida dobijen metodom tečne hromatografije.

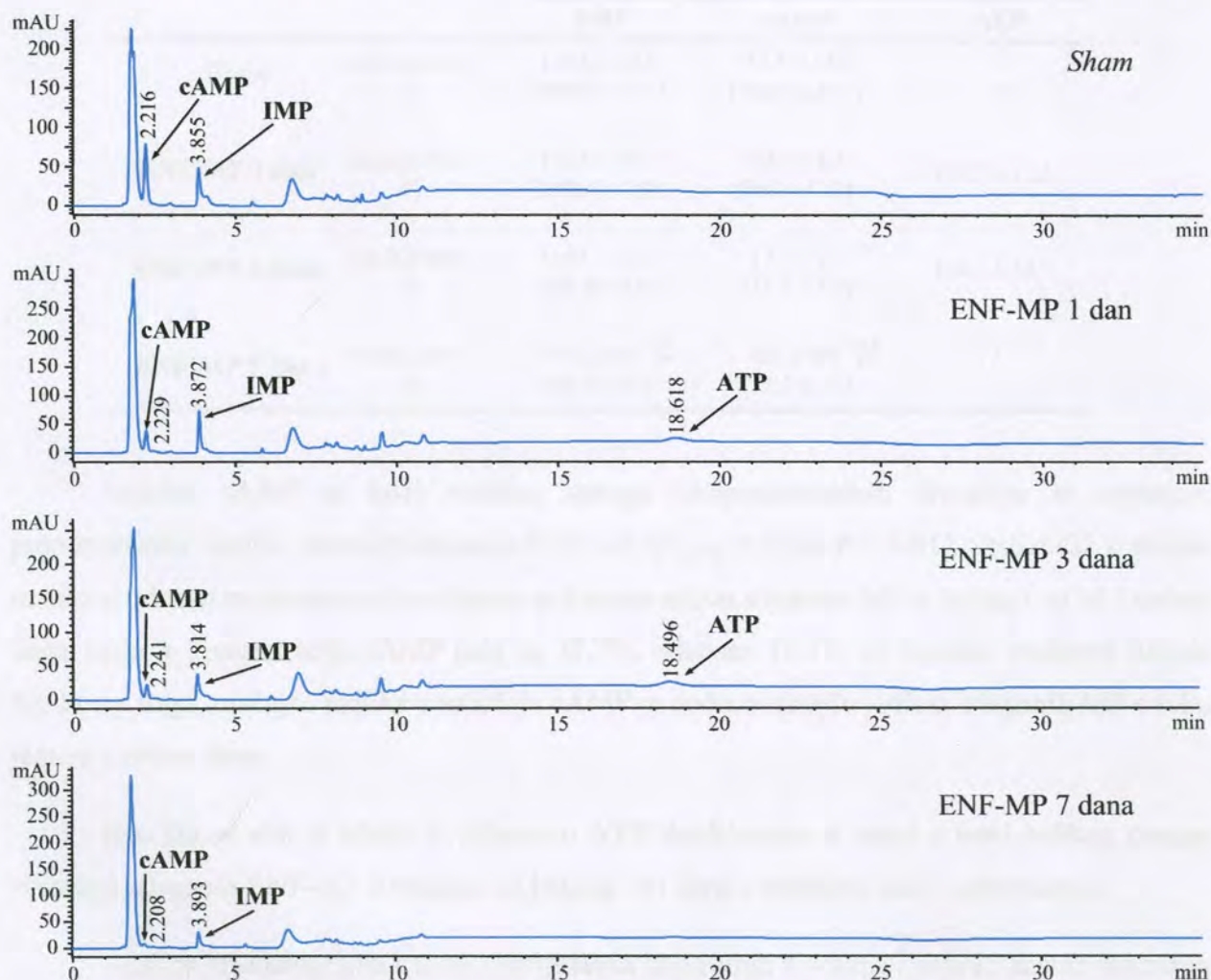


Slika 36. Hromatogram smeše standarda u kojoj je koncentracija cAMP i IMP 0.1 mg/ml, a koncentracija ATP i GTP 0.2 mg/ml (Kolona: Whatman, Partisil 10 – SAX, protok 2 ml/min, injekciona zapremina 25 μ l, mobilna faza: 0.038 M KH_2PO_4 , pH 3.7 i 0.42 M KH_2PO_4 , pH 3.7, UV detekcija 254 nm). Vrednosti na apscisi predstavljaju retenciono vreme u minutama, a na ordinati jedinice miliapsorbance.

Identifikacija pikova analiziranih jedinjenja izvršena je na osnovu retencionih vremena i UV spektara, a kvantifikacija metodom eksternog standarda.

➤ Akutno izlaganje

Na hromatogramima uzoraka **kore velikog mozga** kontrolnih životinja i jedinki tretiranih ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) u trajanju od jednog, tri i sedam dana jasno su uočljivi pikovi koji po retencionom vremenu odgovaraju IMP, cAMP i ATP, dok GTP nije detektovan ni kod jedne od ispitivanih grupa (slika 37).



Slika 37. Hromatogrami uzoraka kore velikog mozga životinja nakon *sham* i akutnog tretmana ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) u trajanju od jednog, tri i sedam dana (Kolona: Whatman, Partisil 10 – SAX, protok 2 ml/min, injekciona zapremina 100 μ l, mobilna faza: 0.038 M KH_2PO_4 , pH 3.7 i 0.42 M KH_2PO_4 pH 3.7, UV detekcija 254 nm). Vrednosti na apscisi predstavljaju retenciono vreme u minutama, a na ordinati jedinice miliapsorbance.

Koncentracija **IMP** u **kori velikog mozga** eksperimentalnih životinja se menja pod uticajem akutnog izlaganja ENF-MP ($F_{(3,16)} = 3.24$, $P < 0.05$). Nakon tretmana MP u toku jednog dana uočljiv je trend povećanja, a nakon izlaganja MP tri dana trend smanjenja sadržaja IMP u

odnosu na kontrolne jedinke (tabela 3). Ovaj pad u koncentraciji IMP se nastavlja i dalje da bi nakon izlaganja MP u trajanju od sedam dana vrednost IMP bila statistički značajno manja u odnosu na kontrolne jedinke i životinje izlagane MP jedan dan.

Tabela 3. Koncentracija IMP, cAMP i ATP u kori velikog mozga eksperimentalnih životinja nakon akutnog izlaganja ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) u trajanju od jednog, tri i sedam dana. Podaci su predstavljeni kao srednja vrednost \pm standardna greška koncentracije nukleotida po gramu tkiva ($n = 5$ životinja po grupi) i procentualno u odnosu na vrednost *sham* životinja koja je uzimana kao 100%. * $P < 0.05$ i *** $P < 0.001$ ukazuju na statistički značajne razlike u odnosu na *sham* životinje. ** $P < 0.01$ ukazuje na statistički značajne razlike u odnosu na životinje izlagane ENF-MP jedan dan (jednofaktorijska ANOVA, LSD test).

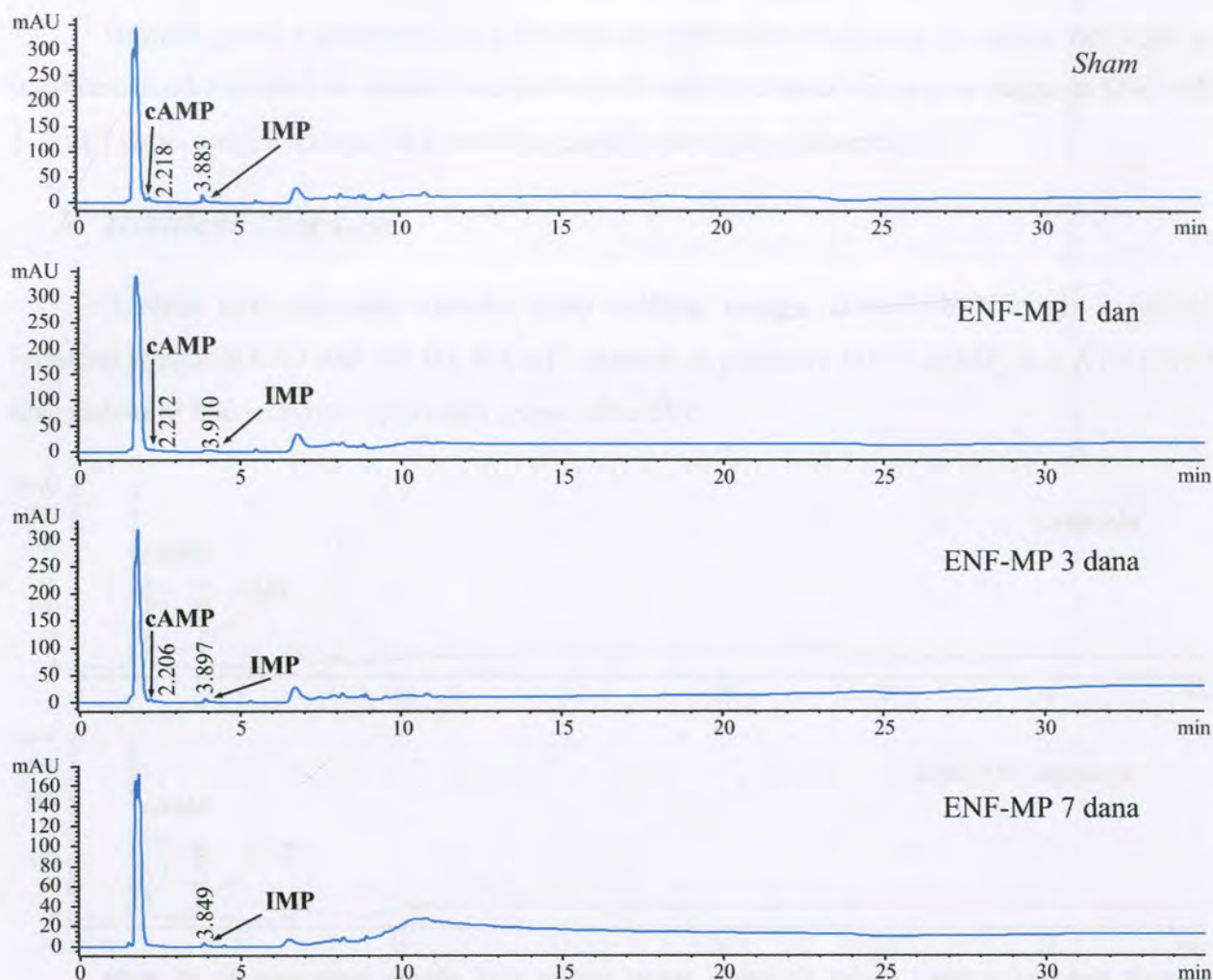
		KORA VELIKOG MOZGA		
		IMP	cAMP	ATP
<i>Sham</i>	nmol/g tkiva	129.6 \pm 19.6	53.7 \pm 17.0	/
	%	(100.0 \pm 15.1)	(100.0 \pm 31.7)	/
ENF-MP 1 dan	nmol/g tkiva	143.4 \pm 10.2	30.1 \pm 6.6	127.5 \pm 12.3
	%	(110.6 \pm 7.9)	(56.1 \pm 12.3)	
ENF-MP 3 dana	nmol/g tkiva	119.1 \pm 12.4	17.0 \pm 2.1 *	124.1 \pm 15.7
	%	(91.9 \pm 9.6)	(31.7 \pm 3.9)	
ENF-MP 7 dana	nmol/g tkiva	87.8 \pm 6.9 **	8.1 \pm 0.9 ***	/
	%	(67.7 \pm 5.3)	(15.1 \pm 1.7)	/

Sadržaj cAMP u kori velikog mozga eksperimentalnih životinja se smanjuje proporcionalno dužini akutnog izlaganja ENF-MP ($F_{(3,16)} = 7.00$, $P < 0.01$). Statistički značajna razlika u odnosu na kontrolne životinje je pokazana nakon tretmana MP u trajanju od tri i sedam dana, kada je koncentracija cAMP pala na 31.7%, odnosno 15.1% od bazalne vrednosti (tabela 3.). Pored toga, značajna razlika u sadržaju cAMP je uočena između jedinki izlaganih MP u toku jednog i sedam dana.

Kao što se vidi iz tabele 3., prisustvo ATP detektovano je samo u kori velikog mozga životinja izlaganih ENF-MP u trajanju od jednog i tri dana u približno istoj koncentraciji.

Analiza hromatograma uzoraka strijatuma kontrolnih životinja i jedinki akutno tretiranih ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) u trajanju od jednog, tri i sedam dana ukazuje na prisustvo nukleotida IMP i cAMP, dok trifosfati ATP i GTP nisu nađeni ni kod jedne od ispitivanih grupa (slika 38).

Izračunavanjem koncentracija IMP i cAMP u strijatumu eksperimentalnih životinja uočeno je smanjenje kao posledica akutnog izlaganja ENF-MP, ali bez statističke značajnosti (tabela 4). Interesantan nalaz je pad sadržaja cAMP u homogenatima strijatuma životinja tretiranih MP sedam dana ispod nivoa za detekciju primenjenom metodom.



Slika 38. Hromatogrami uzoraka strijatuma životinja nakon *sham* i akutnog tretmana ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) u trajanju od jednog, tri i sedam dana (Kolona: Whatman, Partisil 10 – SAX, protok 2 ml/min, injekciona zapremina 100 μ l osim kod ENF-MP 7 dana gde je 50 μ l, mobilna faza: 0.038 M KH_2PO_4 , pH 3.7 i 0.42 M KH_2PO_4 , pH 3.7, UV detekcija 254 nm). Vrednosti na apscisi predstavljaju retenciono vreme u minutama, a na ordinati jedinice miliapsorbance.

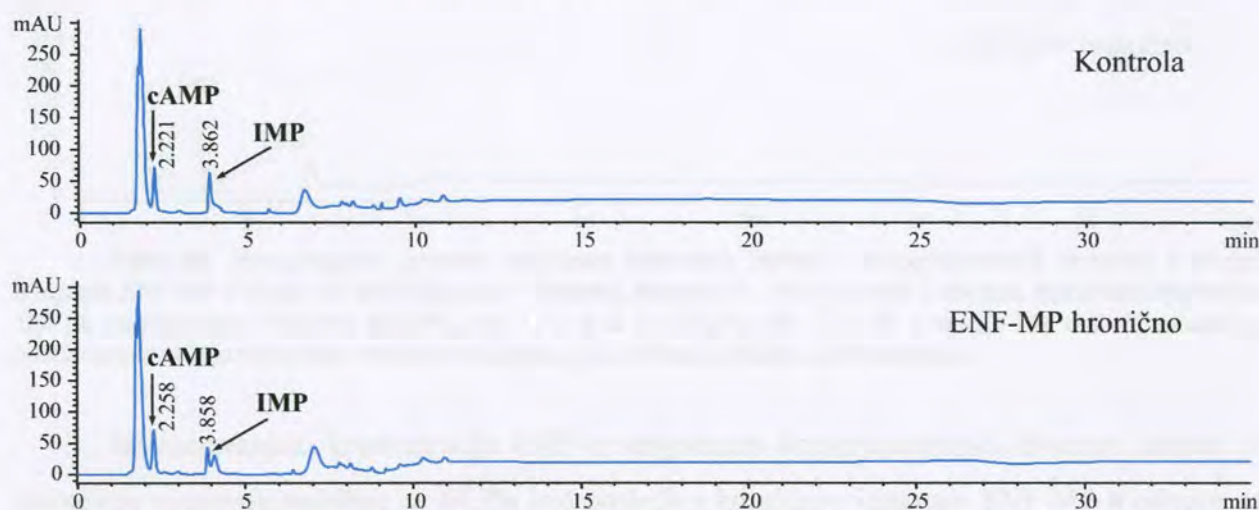
Tabela 4. Koncentracija IMP i cAMP u strijatumu eksperimentalnih životinja nakon akutnog izlaganja ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) u trajanju od jednog, tri i sedam dana. Podaci su predstavljeni kao srednja vrednost \pm standardna greška koncentracije nukleotida po gramu tkiva ($n = 4 - 5$ životinja po grupi) i procentualno u odnosu na vrednost *sham* životinja koja je uzimana kao 100%.

		STRIJATUM	
		IMP	cAMP
Sham	nmol/g tkiva	42.5 \pm 6.8	7.6 \pm 1.8
	%	(100.0 \pm 16.0)	(100.0 \pm 23.7)
ENF-MP 1 dan	nmol/g tkiva	37.1 \pm 8.5	4.9 \pm 1.6
	%	(87.3 \pm 20.0)	(64.5 \pm 21.1)
ENF-MP 3 dana	nmol/g tkiva	30.2 \pm 3.4	3.2 \pm 1.0
	%	(71.1 \pm 8.0)	(42.1 \pm 13.2)
ENF-MP 7 dana	nmol/g tkiva	30.2 \pm 5.7	/
	%	(71.1 \pm 13.4)	/

Hromatogrami i koncentracija nukleotida u ispitivanim regionima mozga ne razlikuju se u zavisnosti od toga da li su *sham* životinje boravile u isključenom sistemu za izlaganje ENF-MP 1, 3 ili 7 dana, kao i u odnosu na kontrolnu grupu (podaci nisu prikazani).

➤ Hronično izlaganje

Analiza hromatograma uzoraka **kore velikog mozga** kontrolnih životinja i jedinki hronično izlaganih ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) ukazuje na prisustvo IMP i cAMP, dok ATP i GTP nisu nađeni ni kod jedne od ispitivanih grupa (slika 39).



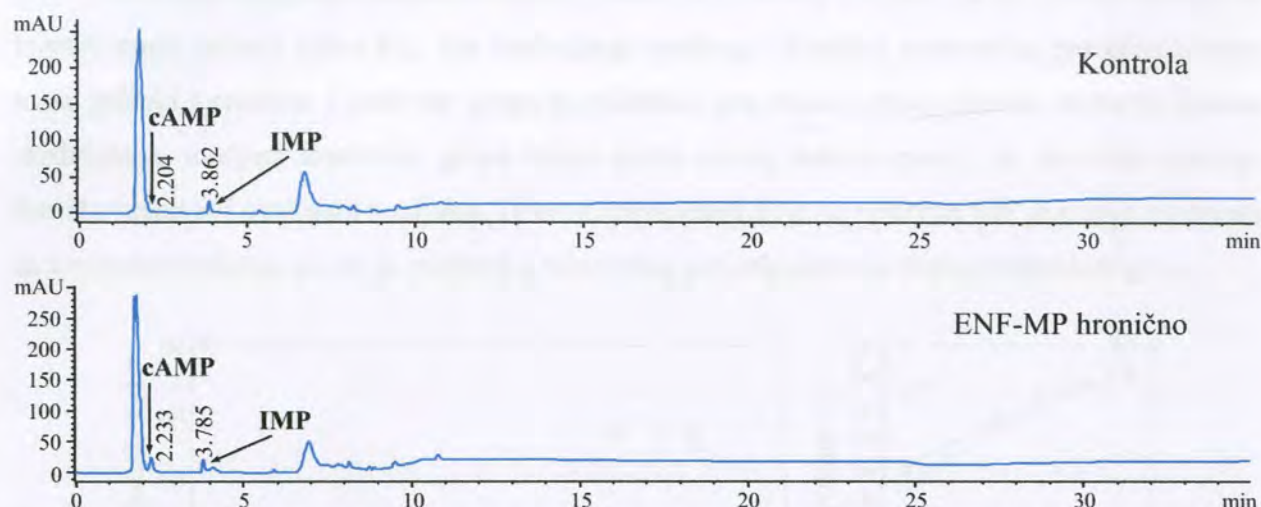
Slika 39. Hromatogrami uzoraka kore velikog mozga kontrolnih jedinki i eksperimentalnih životinja hronično izlaganih ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) (Kolona: Whatman, Partisil 10 – SAX, protok 2 ml/min, injekciona zapremina 100 μ l, mobilna faza: 0.038 M KH_2PO_4 , pH 3.7 i 0.42 M KH_2PO_4 pH 3.7, UV detekcija 254 nm). Vrednosti na apscisi predstavljaju retenciono vreme u minutama, a na ordinati jedinice miliapsorbance.

Koncentracija **IMP** u **kori velikog mozga** eksperimentalnih životinja je nakon hroničnog izlaganja ENF-MP približno iste vrednosti kao kod kontrolnih jedinki (tabela 5). Međutim, hronično izlaganje MP statistički značajno povećava sadržaj **cAMP** ($t = -2.37$, d.f. = 8, $P < 0.05$) u **kori velikog mozga** za 82.9% u odnosu na kontrolni nivo.

Tabela 5. Koncentracija IMP i cAMP u kori velikog mozga eksperimentalnih životinja nakon hroničnog izlaganja ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT). Podaci su predstavljeni kao srednja vrednost \pm standardna greška koncentracije nukleotida po gramu tkiva ($n = 5$ životinja po grupi) i procentualno u odnosu na vrednost kontrolnih životinja koja je uzimana kao 100%. * $P < 0.05$ ukazuje na statistički značajne razlike u odnosu na kontrolne životinje (Studentov t test).

		KORA VELIKOG MOZGA	
		IMP	cAMP
Kontrola	nmol/g tkiva	115.2 \pm 23.4	47.9 \pm 12.5
	%	(100.0 \pm 20.3)	(100.0 \pm 26.1)
ENF-MP hronično	nmol/g tkiva	114.8 \pm 6.0	87.6 \pm 11.2 *
	%	(99.7 \pm 5.2)	(182.9 \pm 23.4)

Kao što se može videti sa slike 40, na hromatogramima uzoraka **strijatuma** kontrolnih životinja i jedinki hronično izlaganih ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) uočljivo je prisustvo cAMP i IMP, dok ATP i GTP nisu nađeni ni kod jedne od ispitivanih grupa.



Slika 40. Hromatogrami uzoraka strijatuma kontrolnih jedinki i eksperimentalnih životinja hronično izlaganih ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) (Kolona: Whatman, Partisil 10 – SAX, protok 2 ml/min, injekciona zapremina 100 μ l, mobilna faza: 0.038 M KH_2PO_4 , pH 3.7 i 0.42 M KH_2PO_4 pH 3.7, UV detekcija 254 nm). Vrednosti na apscisi predstavljaju retenciono vreme u minutama, a na ordinati jedinice miliapsorbance.

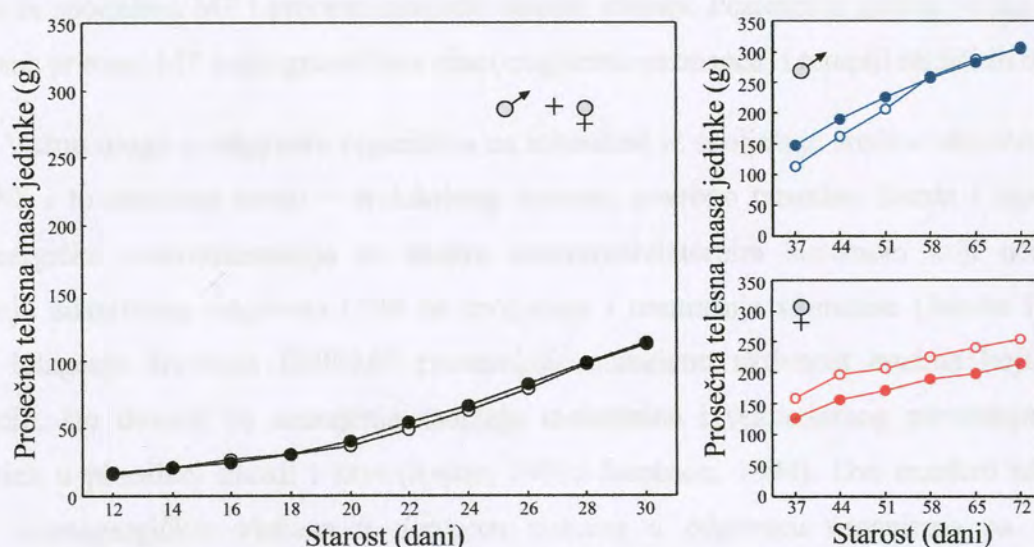
Izračunavanjem koncentracije **IMP** u **strijatumu** eksperimentalnih životinja uočeno je povećanje njegovog sadržaja za 44.3% kao posledica hroničnog izlaganja ENF-MP u odnosu na kontrolnu grupu, ali bez statističke značajnosti (tabela 6). Sadržaj **cAMP** u uzorcima **strijatuma** takođe se povećava nakon hroničnog tretmana eksperimentalnih životinja ENF-MP, ali za razliku od IMP ovaj porast od 121.9% je bio statistički značajan u poređenju sa kontrolnom vrednošću ($t = -2.84$, d.f. = 7, $P < 0.05$).

Tabela 6. Koncentracija IMP i cAMP u strijatumu eksperimentalnih životinja nakon hroničnog izlaganja ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT). Podaci su predstavljeni kao srednja vrednost \pm standardna greška koncentracije nukleotida po gramu tkiva ($n = 5$ životinja po grupi) i procentualno u odnosu na vrednost kontrolnih životinja koja je uzimana kao 100%. * $P < 0.05$ ukazuje na statistički značajne razlike u odnosu na kontrolne životinje (Studentov t test).

		STRIJATUM	
		IMP	cAMP
Kontrola	nmol/g tkiva	46.0 \pm 10.2	6.4 \pm 2.2
	%	(100.0 \pm 22.2)	(100.0 \pm 34.4)
ENF-MP hronično	nmol/g tkiva	66.4 \pm 7.5	14.2 \pm 1.3 *
	%	(144.3 \pm 16.2)	(221.9 \pm 20.3)

4.5. Efekti hroničnog tretmana promenljivim magnetnim poljem na telesnu masu

Hronično izlaganje eksperimentalnih životinja ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) nema uticaja na telesnu masu jedinki (slika 41). Pre razdvajanja muškog i ženskog potomstva, prosečna telesna masa jedinki kontrolne i tretirane grupe je približno ista tokom celog perioda merenja. Nakon razdvajanja, mužjaci kontrolne grupe imaju nešto manju telesnu masu, ali do kraja merenja dostižu vrednosti tretiranih mužjaka. Telesna masa ženki koje su tretirane MP je manja u odnosu na kontrolne jedinice, ali im je priraštaj u toku celog perioda merenja sličan kontrolnoj grupi.



Slika 41. Prosečna telesna masa kontrolnih (—○—) i hronično tretiranih ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) (—●—) eksperimentalnih životinja. Podaci su izraženi kao prosečna telesna masa jedinke po okotu pre razdvajanja muškog i ženskog potomstva i prosečna telesna masa mužjaka i ženki nakon razdvajanja.

5. DISKUSIJA

Industrijski i tehnološki napredak je praćen sve većom učestalošću MP različitih frekvencija i intenziteta u sredini u kojoj živimo i radimo. Najzastupljenija među njima su ENF-MP koja potiču od električnih vodova, kućnih aparata, industrijskih postrojenja i saobraćajnih sredstava. Vrednosti magnetne indukcije ovih MP se kreću od 0.3 do 6.0 μT u stambenim i radnim prostorima do nekoliko mT u električnim centralama i industrijskim pogonima (Miller, 1974). U okviru discipline magnetobiologija, istraživači se bave ispitivanjem bioloških mehanizama i efekata ovih polja kao ekofiziološkog faktora, u cilju razumevanja odgovora živih sistema na spoljašnja MP i procene mogućih štetnih efekata. Poslednjih godina velika pažnja je posvećena primeni MP u dijagnostičke svrhe (magnetna rezonanca) i terapiji različitih oboljenja.

Važnu ulogu u odgovoru organizma na stimulse iz spoljašnje sredine uključujući i MP ima CNS i to strukture neuro – endokrinog sistema, posebno pinealna žlezda i hipotalamus. Serotonergička neurotransmisija se smatra neuromodulatornim sistemom koji učestvuje u razvijanju adaptivnog odgovora CNS na spoljašnje i unutrašnje stimulse (Jacobs i Azmitia, 1992). Izlaganje životinja ENF-MP prouzrokuje smanjenu aktivnost enzima koji sintetišu melatonin, što dovodi do smanjenja sadržaja melatonina i sekundarnog povećanja sadržaja serotonina u pinealnoj žlezdi i krvi (Reiter, 1993; Jacobson, 1994). Ovi rezultati ukazuju na učešće serotonergičkih vlakana u nervnom sistemu u odgovoru organizma na delovanje spoljašnjih ENF-MP.

Smatra se da su primarna mesta interakcije ENF-MP i biološkog sistema proteini plazma membrane koji funkcionišu kao jonski kanali, enzimi i receptori (Bersani i sar., 1997) ili promene u transportu jona Ca^{2+} (Liburdy i sar., 1993; Karabakhtsian i sar., 1994; Barbier i sar., 1996; Huang i sar., 2000). Utičući na komponente ćelijske membrane, ENF-MP prouzrokuju promene koje su rezultat izmenjenog membranskog potencijala i narušenog protoka jona kroz membranu (Berg, 1993). Morgado-Valle i sar. (1998) su pretpostavili da ENF-MP pokreće fluks Ca^{2+} kroz L tip voltažno-zavisnih kanala koji imaju ulogu u oslobađanju neurotransmitera. S obzirom na bitnu ulogu Ca^{2+} kao signalnog molekula u anatomiji, fiziologiji i biohemiji ćelije i organizama, neki od uočenih efekata MP na žive sisteme mogli bi se pripisati promenama u njegovoj koncentraciji.

Eksperimentalne i kliničke studije su pokazale uticaj ENF-MP na provodljivost nervnog impulsa u CNS, mehanizme neurotransmisije, aktivnost receptora, EEG, motorno ponašanje,

učenje i pamćenje (Ossenkopp i Ossenkopp, 1983; Lai i sar., 1993; Trzeciak i sar., 1993; Smith i sar., 1994; Chance i sar., 1995; Zhang i sar., 1997; Lai i sar., 1998; Sienkiewicz i sar., 1998; Vorobyov i sar., 1998; Repacholi i Greenebaum, 1999; Massot i sar., 2000; Al-Akhras i sar., 2001; Sieron i sar., 2001; Del Seppia i sar., 2003, Pešić i sar., 2004; Sieron i sar., 2004). Kontradiktornosti na koje nailazimo u okviru ovih studija ukazuju da su efekti MP veoma složeni. Pored vremena fizičke reakcije, kojim se definiše vreme potrebno za sabiranje fizičkog efekta da bi se dostigao biološki prag, veoma važnu ulogu u ovim procesima ima i vreme biološke reakcije. U toku ovog vremena pojačava se biološki proces koji je već pokrenut u sistemu pod dejstvom spoljašnjih MP, da bi se stvorila uočljiva promena nekih bioloških funkcija. Na ishod eksperimenata utiču karakteristike MP kao što su frekvencija, intenzitet, oblik impulsa i dužina izlaganja, ali i individualne osobenosti organizma kao što su funkcionalno stanje, pol, starost i mnoge druge koje karakterišu jedan biološki sistem. U našim studijama su praćeni efekti ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) u zavisnosti od dužine izlaganja na motornu aktivnost eksperimentalnih životinja u cilju dobijanja laboratorijske potvrde u korist ili protiv nalaza o uticaju spoljašnjih MP na žive sisteme.

Još uvek nije potvrđeno postojanje bioloških magnetoreceptora, tako da je veoma važno razumeti način na koji se signal poreklom od spoljašnjeg MP prevodi u odgovor biološkog sistema. U ovim pokušajima studije ponašanja su se pokazale korisnim za grubu lokalizaciju mogućih receptorskih mesta, pružajući samo ograničeni uvid u mehanizme na ćelijskom i molekularnom nivou. «Open field» test je jedna od procedura pogodnih za praćenje i kvantitativno karakterisanje promena u motornom ponašanju izazvanih farmakološkim i nefarmakološkim agensima kao što je MP (Choleris i sar., 2001). Spontanu motornu aktivnost eksperimentalnih životinja stavljenih u novu sredinu karakteriše početni period povećane aktivnosti (period eksploracije), koji je praćen periodom smanjene aktivnosti (period habituacije). Habituacija je jednostavna forma neasocijativnog učenja i u vezi je sa smanjenim odgovorom (ponašanjem) pri ponovljenoj primeni stimulusa istih karakteristika. U «open field» testu, habituacija se manifestuje kao smanjenje eksploratorne aktivnosti životinje pri ponovljenom izlaganju novoj sredini i smatra se indeksom učenja i pamćenja.

Različiti oblici motornog ponašanja kontrolisani su od strane različitih moždanih struktura među kojima centralno mesto imaju bazalne ganglije i njihove aferentno – eferentne projekcije sa ostalim regionima CNS. Od ranije je poznata uloga nukleus akumbensa i dorzalnog strijatuma u kontroli lokomocije odnosno stereotipije (Staton i Solomon, 1984). Vertikalna aktivnost ili uspravljanje je odraz motorne aktivnosti i eksploratornog ponašanja i dovodi se u

vezu sa holinergičkom aktivnošću hipokampusa (Thiel i sar., 1998) i dopaminom u dorzalnom i ventralnom strijatumu (Thiel i sar., 1999). Rotaciono ponašanje je posledica selektivnog propadanja dopaminergičkih neurona i može se izazvati primenom različitih farmakoloških agenasa (Ungerstedt i Arbuthnott, 1970; Ungerstedt, 1971a; Ungerstedt, 1971b; Kaakkola i Kääriäinen, 1980; Moribe i sar., 2005). Glick i sar. (1974) su našli da se sadržaj dopamina u levom i desnom strijatumu pacova razlikuje za 10 – 15% u normalnim uslovima, a nakon primene AMPH ova razlika iznosi približno 35%, što uslovljava dominantno rotaciono ponašanje. Ispitivanje efekata ENF-MP na više parametara motornog ponašanja doprinosi proceni razlika u osetljivosti moždanih struktura i neurotransmiterskih sistema na delovanje spoljašnjih MP.

Naša istraživanja su pokazala da akutni tretman ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) u trajanju od jednog dana povećava lokomotorni i stereotipni odgovor eksperimentalnih životinja, što rezultira smanjenim vremenom mirovanja i smanjuje uspravljanje u toku izlaganja novoj sredini. Ovi nalazi su u skladu sa ranije objavljenim rezultatima istraživanja drugih autora koji su registrovali povećanu aktivnost i smanjeno eksploratorno ponašanje (eksploracija i uspravljanje) eksperimentalnih životinja u «open field» testu nakon izlaganja ENF-MP (Ossenkopp i Ossenkopp, 1983; Rudolph i sar., 1985; Choleris i sar., 2001; Del Seppia i sar., 2003). Posmatrano u vremenu, interesantno zapažanje je da se u našem slučaju efekat MP na uspravljanje javlja u prvih 30 min registrovanja i prethodi efektu na lokomociju i stereotipiju (od 30 – 90 min). Na osnovu ovoga možemo pretpostaviti da su u prvih 30 minuta motorni efekti MP maskirani procesima koji su u vezi sa odgovorom na novu sredinu i da je uočeno smanjenje uspravljanja pre posledica nezainteresovanosti životinje za novu sredinu nego smanjene motorne aktivnosti. U prilog ovoj pretpostavci je smanjena vertikalna aktivnost u prvih 30 minuta i izostanak efekta na lokomociju i stereotipiju nakon izlaganja MP u toku tri i sedam dana. Davis i sar. (1984) takođe nisu uočili promene u lokomotornoj aktivnosti miševa neprekidno izlaganih u toku 72 h ENF-MP (60 Hz, 1.65 mT), kao i Trzeciak i sar. (1993) nakon prolongiranog izlaganja pacova elektromagnetnom polju (50 Hz, 18 mT) u toku 20 dana.

Povećanje spontane lokomocije i stereotipije nakon izlaganja ENF-MP u toku jednog dana može se dovesti u vezu sa direktnim ili indirektnim stimulisanjem dopaminergičke neurotransmisije u nukleus akumbensu i dorzalnom strijatumu. Poznato je da ENF-MP ima modulatoreni efekat na koncentraciju unutarćelijskog Ca^{2+} (Liburdy i sar., 1993; Barbier i sar., 1996; Huang i sar., 2000) i da je povećanje nivoa Ca^{2+} povezano sa promenama mnogih funkcija CNS uključujući oslobađanje neurotransmitera i motorno ponašanje (Augustine, 2001; Godinho i

sar., 2002). Na osnovu ovoga možemo pretpostaviti da je uočeno povećanje motornog ponašanja posledica povećanog influksa jona Ca^{2+} izazvanog primenjenim MP, koji zatim dovodi do povećanog oslobađanja dopamina u sinaptičku pukotinu. Ova pretpostavka je u skladu sa rezultatima Keck i sar. (2002) koji su pokazali da primena rTMS ima modulacioni uticaj na mezolimbicke i mezostrijatalne dopaminergičke sisteme, koji se manifestuje kao povećanje vanćelijske koncentracije dopamina u strijatumu, nukleus akumbensu i hipokampusu pacova.

Važnu ulogu u odgovoru životinja na novu sredinu imaju holinergički neurotransmiterski sistemi u kori velikog mozga i hipokampusu, u kojima se oslobađanje acetilholina značajno povećava tokom istraživanja (Thiel i sar., 1998; Giovannini i sar., 2001). Smanjeno uspravljanje eksperimentalnih životinja zapaženo u našoj studiji može biti posledica uticaja akutnog tretmana MP na aktivnost holinergičkih sistema u mozgu. U prilog ovoj pretpostavci su rezultati istraživanja u kojima izlaganje pacova MP od 60 Hz, smanjujući preuzimanje holina u mozgu, redukuje njegovu holinergičku aktivnost i uzrokuje deficit prostornog učenja (Lai i sar., 1993; Lai, 1996; Lai i sar., 1998; Lai i Carino, 1999).

U hroničnom eksperimentu, izlaganje ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) povećava motornu aktivnost i smanjuje vreme mirovanja eksperimentalnih životinja, pri čemu je ovaj efekat najintenzivniji u prvih 30 minuta izlaganja novoj sredini. Pored toga, duže trajanje efekata na lokomociju i stereotipiju (90 minuta) u odnosu na uspravljanje (60 minuta) i rotacije (30 min) na indirektan način ukazuje i na razlike u efikasnosti protektivnih mehanizama u regionima mozga odgovornim za kontrolu ispitivanih parametara motornog ponašanja. Sienkiewicz i sar. (1994) nisu registrovali promene u aktivnosti odraslih miševa prenatalno izlaganih MP (50 Hz, 20 mT), što nas navodi na pretpostavku da su za uočene efekte u ponašanju presudni događaji koji se dešavaju pod uticajem spoljašnjih MP tokom postnatalnog razvića. Rezultati dobijeni u našim istraživanjima mogu se pripisati ekscitatornim uticajima hroničnog tretmana ENF-MP na neurotransmiterske sisteme uključene u modulaciju motorne aktivnosti i eksploratornog ponašanja tokom pre- i postnatalnog razvića eksperimentalnih životinja. Stimulacioni uticaj MP na dopaminergičku neurotransmisiju već je pokazan u istraživanjima Lee i sar. (2001) koji su našli da prenatalno izlaganje MP povećava nivo dopamina u strijatumu potomstva, što je posebno izraženo 8. i 12. nedelje postnatalnog razvića.

Organizmi su stalno izloženi stresnim stimulusima koji utiču na brojne fiziološke procese i aktiviraju osu hipotalamus – hipofiza – nadbubrežna žlezda, povećavajući oslobađanje glukokortikoida u plazmi. Indirektna zapažanja ukazuju da kortikosteron (glavni glukokortikoid

kod pacova) može povećati aktivnost mezencefaličnih dopaminergičkih neurona, pošto je pokazano da ovi neuroni eksprimiraju receptore za kortikosteroide i da su ponašanja posredovana dopaminom olakšana glukokortikoidima (Harfstrand i sar., 1986; Marinelli i sar., 1994; Piazza i sar., 1996). Pored toga, povećani nivoi glukokortikoida mogu prouzrokovati promene u ponašanju slične onima koje se pripisuju povećanoj aktivnosti dopamina (Sandi i sar., 1996; Marin i sar., 2007). S obzirom da izlaganje MP povećava nivo kortikosterona u plazmi (Marino i sar., 2001; Mostafa i sar., 2002), uočeno povećanje motorne aktivnosti nakon hroničnog tretmana MP može se dovesti u vezu i sa povećanim sadržajem glukokortikoida izazvanim primenjenim MP, koji zatim ispoljavaju stimulatorne efekte na dopaminergičku neurotransmisiju u mozgu. Tri glavna mehanizma koja bi mogla biti odgovorna za povećanje vanćelijskog sadržaja dopamina izazvano kortikosteronom su: modifikacija stope paljenja dopaminergičkih neurona, smanjenje katabolizma dopamina putem inhibicije aktivnosti enzima monoamino oksidaze i inhibicija preuzimanja dopamina (Iversen i Salt, 1970; Veals i sar., 1977; Rothschild i sar., 1985; Gilad i sar., 1987; Joels i De Kloet, 1992).

Da bi se promene u motornoj aktivnosti izazvane MP učinile uočljivijim koristili smo neuroaktivnu supstancu AMPH. Psihomotorni stimulans AMPH je aktivator dopaminergičkog sistema prednjeg mozga (Seiden i sar., 1993), koji ima dozno-zavisni uticaj na ponašanje i biohemiju mozga pacova (Kuczenski, 1986; Sharp i sar., 1987). Motorni efekti AMPH su povezani sa integritetom dopaminergičke inervacije limbičkog prednjeg mozga i oslobađanjem dopamina iz strijatalnih završetaka (Creese i Iversen, 1974; Fink i Smith, 1980). Za ekspresiju motornog ponašanja izazvanog primenom AMPH potrebna je stimulacija dopaminskih D₁ i D₂ receptora (Drew i Glick, 1990; Rosa-Kenig i sar., 1993). Međutim, ovi efekti AMPH nisu posredovani samo dopaminom, nego i drugim neurotransmiterskim sistemima kao što su noradrenalin, serotonin i acetilholin (Geyer i sar., 1986; Kuczenski i Segal, 1989; Florin i sar., 1992; Kuczenski i Segal, 1992; Florin i sar., 1994). S obzirom da je amfetaminska psihoza jedan od poznatijih modela shizofrenije izazvane farmakološkim agensima (Gambill i Kornetsky, 1976), ovim istraživanjima ispituju se i mogućnosti primene ENF-MP kao pomoćnog terapijskog sredstva u medicinske svrhe. Do sada su pozitivni efekti magnetoterapije pokazani kod različitih neuropsihijatrijskih oboljenja koja se dovode u vezu sa izmenjenom dopaminergičkom i serotonergičkom neurotransmisijom (Grisaru i sar., 1998; George i sar., 1999; Mally i Stone, 1999; Hoffman i sar., 2000; Siebner i sar., 2000; Kim i sar., 2006).

U našim eksperimentima, akutni tretman ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) u trajanju od tri i sedam dana smanjuje sposobnost AMPH (1.5 mg/kg, i.p.) da poveća lokomotornu i stereotipnu

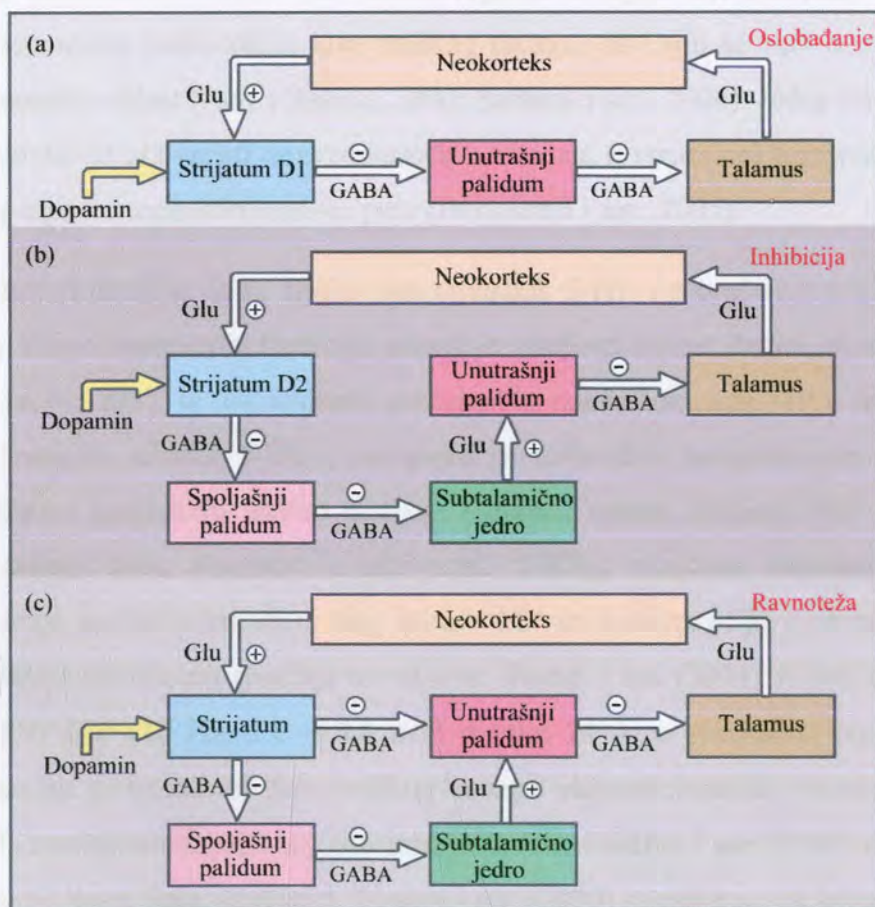
aktivnost eksperimentalnih životinja, što je posebno izraženo nakon izlaganja MP sedam dana. Pored toga, izlaganje MP 7 dana smanjuje i rotaciono ponašanje životinja izazvano primenom AMPH. Na osnovu ovoga možemo pretpostaviti da su uočeni efekti MP posledica modulatornog uticaja spoljašnjih MP prvenstveno na dopaminergičku neurotransmisiju u nukleus akumbensu i strijatumu. Naši rezultati su u skladu sa nalazima Belmaker i sar. (2000) koji su pokazali depresorni uticaj rTMS na hiperaktivnost u AMPH modelu manije nakon sedam dana tretmana i ukazuju na moguću primenu ovakvog režima izlaganja ENF-MP u terapiji neuropsihijatrijskih oboljenja koja u osnovi imaju poremećaj dopaminergičke neurotransmisije.

Dobijeni rezultati ukazuju da hronično izlaganje ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) smanjuje uspravljanje životinja izazvano i.p. primenom 1.5 mg/kg AMPH tokom celog perioda registrovanja motorne aktivnosti, dok nema uticaja na ostale ispitivane parametre motornog ponašanja. Motorni efekti AMPH su posredovani dopaminom i noradrenalinom (Sharp i sar., 1987; Kuczenski i Segal, 1992) i u dozama većim od 1.5 mg/kg acetilholinom i serotoninom (Florin i sar., 1992; Kuczenski i Segal, 1989). S obzirom na već pokazan stimulatorni uticaj hroničnog tretmana MP na spontanu motornu aktivnost, odsustvo efekta MP na parametre motornog ponašanja, čija je hiperaktivnost izazvana primenom AMPH posledica disbalansa dopaminergičkih i noradrenergičkih neurotransmiterskih sistema u mozgu životinja, sasvim je očekivano. Iz literature je poznato da je učestalost uspravljanja pozitivno korelisana sa povećanim sadržajem acetilholina u hipokampusu (Thiel i sar., 1998). Pored toga, neurohemijske analize su otkrile veći nivo dopamina u ventralnom strijatumu pacova koji imaju veću vertikalnu aktivnost zajedno sa manjim sadržajem serotonina u medijalnom frontalnom korteksu i većom holinergičkom reaktivnošću u prednjem mozgu (Thiel i sar., 1998; Thiel i sar., 1999). Prema tome, smanjena efikasnost AMPH da poveća uspravljanje eksperimentalnih životinja hronično tretiranih MP može se objasniti modulatornim uticajem MP na holinergičku i serotonergičku neurotransmisiju u mozgu, koje pri primenjenoj dozi AMPH nisu zahvaćene promenama.

Centralni dopaminergički, serotonergički i noradrenergički neurotransmiterski sistemi imaju važnu ulogu u regulaciji ponašanja, pri čemu su dopamin i serotonin poznati kao modulatori motorne aktivnosti. Iako su brojne studije pokazale da promenljiva MP utiču na strukturu i funkciju CNS eksperimentalnih životinja i ljudi, pitanja koja se tiču veze između promena u putevima signalne transdukcije neurotransmiterskih sistema odgovornih za kontrolu motorne aktivnosti i promena u ponašanju još uvek nisu u potpunosti razjašnjena. Imajući u vidu ove činjenice i u cilju boljeg sagledavanja i objašnjenja motornih efekata zapaženih u našim eksperimentima, analizirali smo aktivnost centralnih receptora za serotonin (**5-HT_{2A}**) u

prefrontalnoj kori velikog mozga i dopamin (D_1 i D_2) u strijatumu nakon akutnog i hroničnog izlaganja ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT).

Dopaminergički receptori pripadaju superfamiliji receptora sa 7 transmembranskih domena koji su povezani sa unutarćelijskim sistemima za signalnu transdukciju posredstvom G proteina. Podeljeni su u dve velike familije: D_1 (D_1 i D_5 receptori) i D_2 (D_2 , D_3 i D_4 receptori). Razlika između njih je što aktivacija receptora D_1 familije stimuliše, a D_2 familije inhibira ili nema uticaja na aktivnost adenilat ciklaze i stvaranje cAMP, što dalje utiče na čitav niz ćelijskih procesa (Missale i sar., 1998). U strijatumu, većina GABAergičkih projekcionih neurona direktnog puta eksprimira dopaminske D_1 , a indirektnog puta dopaminske D_2 receptore (Gerfen i sar., 1990). Pretpostavka je da direktni put ima inhibitorni, a indirektni ekscitatorni uticaj na aktivnost neurona izlaznih struktura bazalnih ganglija koje vrše tonični inhibitorni uticaj na motornu aktivnost (slika 42). Dopamin inhibira indirektni put preko D_2 receptora i stimuliše direktni delujući na D_1 receptore, što rezultira aktivacijom motornog ponašanja. Na ovaj način se objašnjavaju sinergistički efekti D_1 i D_2 agonista na motornu aktivnost (Gerfen, 1992).



Slika 42. Model bazalnih ganglija. a) direktni put koji vodi oslobađanju motorne aktivnosti; b) indirektni put koji vodi inhibiciji pokreta; c) ravnoteža koja je postignuta kombinovanjem ovih antagonističkih sistema u fiziološkim uslovima (Graybiel, 2001).

Naša istraživanja su pokazala da akutni tretman ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) nema uticaja na afinitet i gustinu dopaminskih D_1 i D_2 receptora u strijatumu eksperimentalnih životinja. Sieron i sar. (2001) su registrovali smanjenu reaktivnost centralnih dopaminskih D_1 receptora nakon izlaganja ENF-MP 14 dana, ali kod pacova sa lezijom dopaminergičkih nigrostrijatalnih neurona što je i glavni razlog za neslaganje sa našim nalazima. Za razliku od akutnog izlaganja, hronični tretman ENF-MP povećava afinitet dopaminskih D_1 receptora ne menjajući njihovu gustinu i nema uticaja na aktivnost D_2 receptora u strijatumu eksperimentalnih životinja. Na osnovu dobijenih rezultata možemo pretpostaviti da postoje razlike u osetljivosti dopaminskih D_1 i D_2 receptora na spoljašnja MP koje su posledica specifičnih strukturnih karakteristika ovih receptora (Missale i sar., 1998).

Svi receptori za serotonin, osim 5-HT₃ koji je jonski kanal, imaju 7 transmembranskih domena i aktiviraju kaskadu unutarćelijskih sekundarnih glasnika posredstvom G proteina. Aktivacija 5-HT_{2A} receptora pokreće fosfoinozitolni put signalne transdukcije, koji rezultira stimulacijom aktivnosti protein kinaze C i oslobađanjem Ca^{2+} (Saudou i Hen, 1994), tako da ovi receptori imaju ekscitatorne efekte na većinu regiona mozga. Ovi receptori se nalaze na piramidalnim neuronima prefrontalne kore velikog mozga, od kojih se veći deo projektuje na ventralnu tegmentalnu oblast (Carr i Sesack, 2000; Santana i sar., 2004). Jedna od uloga 5-HT_{2A} receptora je modulacija aktivnosti dopaminergičkih neurona u ventralnoj tegmentalnoj oblasti i oslobađanja dopamina u mezokortikalnom putu (Bortolozzi i sar., 2005).

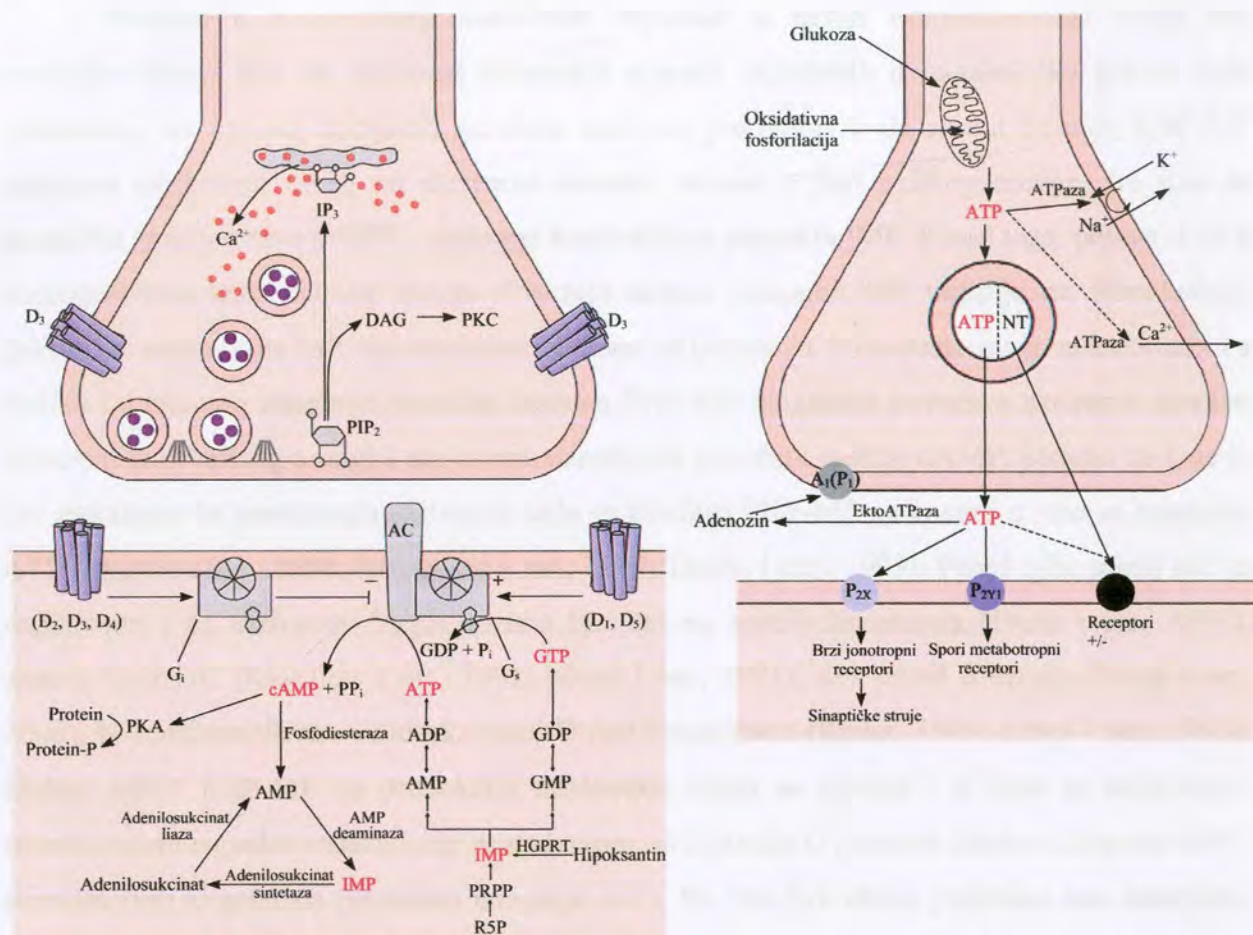
Naši rezultati ukazuju da se afinitet serotoninских 5-HT_{2A} receptora u prefrontalnoj kori velikog mozga eksperimentalnih životinja smanjuje proporcionalno dužini akutnog izlaganja ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT), sa statističkom značajnošću nakon tretmana MP u trajanju od tri i sedam dana. Smanjen afinitet 5-HT_{2A} receptora je delimično kompenzovan istovremenim povećanjem njihove gustine (u znatno manjem stepenu) nakon izlaganja MP u trajanju od jednog, tri i sedam dana. Promene u aktivnosti 5-HT_{2A} receptora zapažene u akutnom eksperimentu mogu nastati usled direktnog uticaja MP na konformaciju ovih receptora ili su indirektna posledica povećanog sadržaja serotonina. Sieron i sar. (2004) su već pokazali da se pod uticajem ENF-MP (10 Hz, 1.8 – 3.8 mT) u toku 14 dana specifično povećava sinteza (promet) serotonina u frontalnoj kori velikog mozga eksperimentalnih životinja. Nishodna regulacija 5-HT_{2A} receptora zapažena je i u studijama Ben-Shachar i sar. (1999) nakon primene rTMS u trajanju od deset dana. Međutim, Massot i sar. (2000) su pokazali da izlaganje ENF-MP u opsegu intenzita od 0.1 do 1 mT (EC_{50} blizu 0.5 mT) specifično interaguje sa 5-HT_{1B} receptorima na reverzibilan način indukujući strukturne promene koje imaju za posledicu

njihovu funkcionalnu desenzitizaciju, dok nema efekta na aktivnost 5-HT₂ receptora. Objašnjenje za ovakav rezultat bi moglo biti u vezi sa kraćim vremenom izlaganja ENF-MP (30 minuta) u odnosu na naša istraživanja i većom podložnošću promenama serotoninskih 5-HT_{1B} receptora u odnosu na 5-HT₂ receptore pod uticajem spoljašnjih MP.

Hronično izlaganje eksperimentalnih životinja ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) smanjuje afinitet serotoninskih 5-HT_{2A} receptora u prefrontalnoj kori velikog mozga, bez uticaja na njihovu gustinu. Razvoj centralnih serotonergičkih neurona je pod uticajem pre- i postnatalnog okruženja i izlaganje ženki tokom trudnoće umerenom stresu kod potomstva prouzrokuje dugotrajne promene u funkcionisanju ovih neurona, koje se u «open field» testu manifestuju kao povećana lokomocija i uspravljanje životinja (Peters, 1986a,b, 1988). Istraživanja Cañedo i sar. (2003) su još ranije otkrila da prenatalno izlaganje eksperimentalnih životinja MP (60 Hz, 3.6 mT) povećava sadržaj serotonina u kori velikog mozga u toku prve 3 nedelje postnatalnog razvića, što se poklapa sa periodom intenzivnog i kontinuiranog razvoja serotoninskih sinapsi u mozgu pacova (Fillion i sar., 1982; Zifa i sar., 1988). Na osnovu ovoga možemo pretpostaviti da primenjeno MP kao stresogeni spoljašnji faktor interferira sa normalnim mehanizmima neuronalnog rasta i razvoja u mozgu.

Vanćelijski nukleotidi su važni signalni molekuli u CNS koji imaju ulogu u različitim fiziološkim i patofiziološkim stanjima (slika 43). Nukleotid **IMP** je katabolički produkt adenzin 5'-monofosfata (AMP) i bitan molekul u putu *de novo* sinteze purinskih nukleotida. Sekundarni glasnik **cAMP** je pokazatelj neuronalne funkcije koji učestvuje u unutarćelijskoj signalnoj transdukciji. Osnovna uloga cAMP je aktivacija protein kinaza i regulacija prolaska jona Ca²⁺ kroz jonske kanale. **ATP** učestvuje u prenosu hemijske energije u ćelijama i kao brzi neurotransmiter u centralnom i perifernom nervnom sistemu. Iz presinaptičkog završetka ATP se oslobađa vezikularno zajedno sa klasičnim neurotransmiterima kao što su acetilholin, noradrenalin i serotonin (Silinsky, 1975; Burnstock, 1986; Richardson i Brown, 1987) i vezuje za purinergičke P₂ receptore koji se nalaze u mnogim regionima mozga (Illes i Norenberg, 1993; Ralevic i Burnstock, 1998; Kanjhan i sar., 1999; Norenberg i Illes, 2000). Aktivacija P_{2X} receptora povećava provodljivost za katjone (posebno Ca²⁺), dok aktivacija P_{2Y} receptora posredstvom G proteina pokreće fosfoinozitolni put čiji krajnji produkt inozin-1,4,5-trifosfat mobilise Ca²⁺ iz unutarćelijskih depoa (Ralevic i Burnstock, 1998). U *in vitro* eksperimentima je pokazano da vanćelijski signalni molekul ATP moduliše oslobađanje acetilholina (Sperlagh i Vizi, 1991), noradrenalina (Majid i sar., 1992; Von Kugelgen i sar., 1994; Koch i sar., 1997), dopamina (Trendelenburg i Bultmann, 2000) i serotonina (Von Kugelgen i sar., 1997). **GTP** je

jedan od glavnih ćelijskih molekula uključen u različite procese kao što su signalna transdukcija, funkcionisanje G proteina i metabolički procesi.



Slika 43. Uloga ispitivanih nukleotida u signalnoj transdukciji (modifikovano iz Kandel i sar., 2000 i Webster, 2001). Legenda: $A_1(P_1)$ – tip receptora za adenozin; AC – adenilat ciklaza; ADP – adenozin 5'-difosfat; AMP – adenozin 5'-monofosfat; ATP – adenozin 5'-trifosfat; cAMP – ciklični adenozin 5'-monofosfat; D_{1-5} – tipovi receptora za dopamin; DAG – diacilglicerol; GDP – guanozin 5'-difosfat; G_i – inhibitorni G protein; GMP – guanozin 5'-monofosfat; G_s – stimulatorni G protein; GTP – guanozin 5'-trifosfat; HGPRT – hipoksantin-guanin fosforiboziltransferaza; IMP – inozin 5'-monofosfat; IP_3 – inozin-1,4,5-trifosfat; NT – neurotransmitter; P_{2X} i P_{2Y1} – tipovi receptora za ATP; Pi – fosfat; PIP_2 – fosfoinozitol difosfat; PKA – protein kinaza A; PKC – protein kinaza C; PP_i – pirofosfat; PRPP – fosforibozilpirofosfat; R5P – riboza 5-fosfat.

U našim eksperimentima, akutno izlaganje životinja ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) smanjuje produkciju cAMP nakon tretmana u trajanju od tri i sedam dana i sadržaj IMP nakon tretmana MP sedam dana u kori velikog mozga, bez uticaja na koncentraciju ovih nukleotida u strijatumu. Pored toga, akutno izlaganje MP u toku jednog i tri dana stimuliše stvaranje ATP u kori velikog mozga životinja. Hronični tretman ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) povećava sadržaj cAMP u kori velikog mozga i strijatumu eksperimentalnih životinja, dok nema uticaja na koncentraciju IMP i ATP. Odsustvo GTP u homogenatima kore velikog mozga i strijatuma životinja svih ispitivanih

eksperimentalnih grupa može biti posledica prisustva ovog nukleotida u koncentracijama koje su ispod granice za detekciju primenjenom metodom.

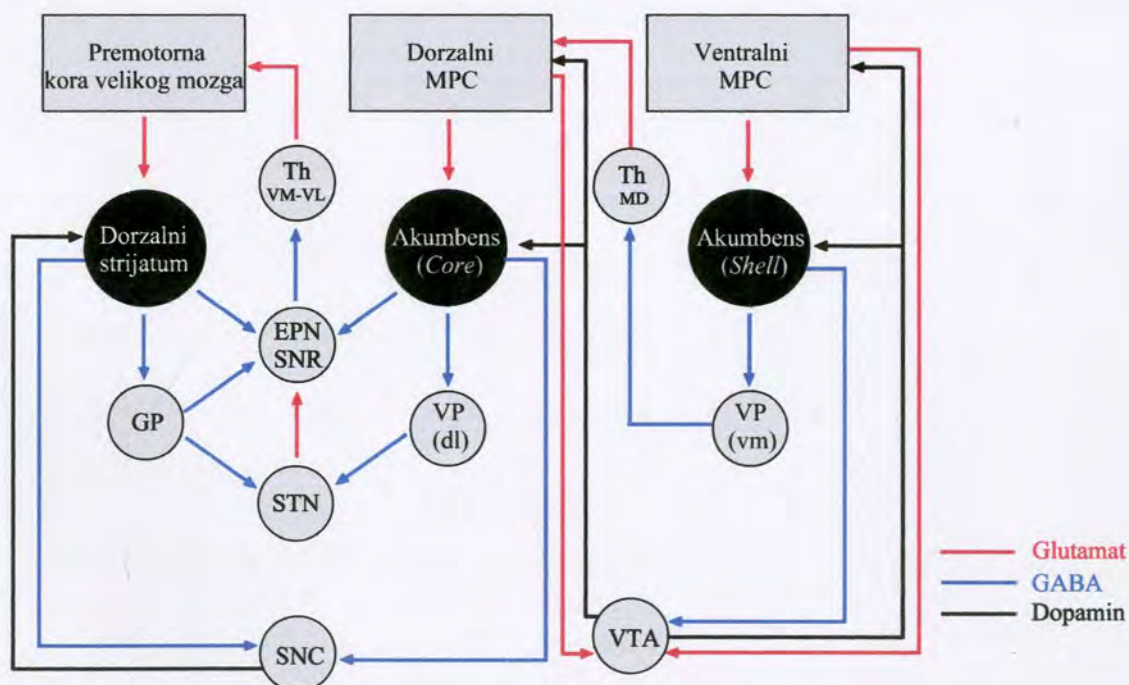
Promene u koncentraciji nukleotida zapažene u našim eksperimentima mogu biti posledica uticaja MP na aktivnost enzimskih sistema uključenih u metaboličke puteve ovih nukleotida. Na osnovu dobijenih rezultata možemo pretpostaviti da akutni tretman ENF-MP ispoljava inhibitorni uticaj na aktivnost adenilat ciklaze u kori velikog mozga, što ima za posledicu smanjen nivo cAMP i njegovog kataboličkog produkta IMP. Pored toga, pojava ATP u homogenatima kore velikog mozga životinja akutno izlaganih MP ukazuje na stimulatorno delovanje spoljašnjih MP na enzimske sisteme uključene u biosintezu ovog nukleotida. Za razliku od akutnog izlaganja, hronični tretman ENF-MP očigledno povećava aktivnost adenilat ciklaze u kori velikog mozga i strijatumu uzrokujući povećani sadržaj cAMP. Sistemi za koje je već pokazano da povećavaju aktivnost kada su izloženi ENF-MP su enzimi u vezi sa sintezom ATP (Marron i sar., 1986; Bolognani i sar., 1992; Dacha i sar., 1993). Pored njih, uticaj MP je registrovan i na aktivnost drugih enzima kao što su acetilholinesteraza (Dutta i sar., 1992), protein kinaza C (Kavaliers i sar., 1991; Monti i sar., 1991), azot oksid sintetaza (Jeong i sar., 2006), N-acetiltransferaza i hidroksiindol-O-metiltransferaza (Reiter, 1993; Lewy i sar., 2003). Uočeni efekti ENF-MP na produkciju nukleotida mogu se dovesti i u vezu sa selektivnim stimulisanjem signalne transdukcije posredstvom inhibitornih G proteina (akutno izlaganje MP) i stimulatornih G proteina (hronično izlaganje MP), što kao indirektnu posledicu ima smanjenu, odnosno povećanu koncentraciju cAMP.

Na osnovu dobijenih rezultata možemo izneti sledeće pretpostavke o mogućim događajima u CNS eksperimentalnih životinja, koji se dešavaju pod uticajem spoljašnjeg ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT), i u osnovi su registrovanih promena u motornom ponašanju. Primarnu ulogu u ovome imala bi izmenjena sinaptička transmisija u sledećim putevima: kora velikog mozga – bazalne ganglije – talamokortikalna kôla i medijalna prefrontalna kora velikog mozga - ventralna tegmentalna oblast – mezokortikalne i mezolimbicke projekcije (slika 44).

Akutno izlaganje promenljivom MP (50 Hz, 0.5 mT) primarno prouzrokuje promene u **kori velikog mozga** eksperimentalnih životinja. Izlaganje MP u trajanju od jednog dana povećava broj 5-HT_{2A} receptora u prefrontalnoj kori velikog mozga, čija aktivacija na indirektan način povećava aktivnost dopaminergičkih neurona i oslobađanje dopamina u mezokortikalnom putu, što rezultira stimulacijom motornog odgovora eksperimentalnih životinja. Pored toga, tretman MP jedan dan indukuje stvaranje ATP u kori velikog mozga, koji posredstvom

purinergičkih P₂ receptora povećava koncentraciju Ca²⁺ i stimuliše neuronalnu aktivnost u ovom regionu mozga. Povećana aktivnost kore velikog mozga putem ekscitatornih glutamatergičkih projekcija na dorzalni strijatum i nukleus akumbens, aktivira sinaptičku neurotransmisiju u bazalnim ganglijama, što takođe dovodi do stimulacije motornog odgovora.

S druge strane, izostanak efekta na spontanu motornu aktivnost i depresorni uticaj na motorni odgovor izazvan primenom AMPH nakon izlaganja MP tri i sedam dana može se objasniti tipičnim procesom adaptacije na novi stimulus slabog intenziteta. U našem slučaju ovo se ogleda u nishodnoj regulaciji 5-HT_{2A} receptora u prefrontalnoj kori velikog mozga i smanjenoj efikasnosti ekscitatorne kontrole dopaminergičkih neurona mezokortikalnog puta. U prilog ovoj pretpostavci su nalazi O'Neill i sar. (1999) koji su pokazali da jedinjenja kao što je AMPH, koja povećavaju lokomotornu aktivnost putem indirektnog povećanja dopaminergičke aktivnosti (povećano oslobađanje ili blokada preuzimanja neurotransmitera), zahtevaju aktivaciju 5-HT_{2A} receptora. Pokazatelji smanjenog intenziteta sinaptičke transmisije u kori velikog mozga nakon izlaganja MP tri i sedam dana su i pad u koncentraciji cAMP i IMP, što ima za posledicu izostanak aktivacije dorzalnog i ventralnog strijatuma (nukleus akumbens) i samim tim smanjen motorni odgovor.



Slika 44. Shema koja prikazuje projekcije kora velikog mozga – bazalne ganglije – talamokortikalna kôla koja uključuju frontalne oblasti kore velikog mozga, dorzalni strijatum i *core* i *shell* nukleus akumbensa (modifikovano iz Ferré, 1997). Legenda: EPN – entopedunkularno jedro; GP – globus palidus; MPC – medijalna prefrontalna kora velikog mozga; SNC – supstancija nigra pars kompakta; SNR – supstancija nigra pars reticulata; STN – subtalamično jedro; Th VM-VL – ventromedijalni-ventrolateralni kompleks talamusa; Th MD – mediodorzalno jedro talamusa; VP (dl) – dorzolateralni ventralni palidum; VP (vm) – ventromedijalni ventralni palidum; VTA – ventralna tegmentalna oblast.

Povećana spontana motorna aktivnost eksperimentalnih životinja nakon hroničnog izlaganja ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) se može dovesti u vezu sa generalno ekscitatornim efektima ENF-MP na neurotransmitterske sisteme u **kori velikog mozga i strijatumu**. U obe ove strukture hronični tretman MP povećava produkciju sekundarnog glasnika cAMP, što ukazuje na intenzivnu sinaptičku neurotransmisiju. Povećana aktivnost kore velikog mozga, posredstvom kortikostrijatalnih i kortikoakumbalnih glutamatergičkih neurona stimuliše sinaptičku transmisiju u strijatumu i nukleus akumbensu. Istovremeno, funkcionalna senzitivizacija D₁ receptora izazvana primenjenim MP pojačava aktivnost direktnog puta (strijatonigralni – strijatoentopedunkularni) u strijatumu, koji inače vodi do oslobađanja motorne aktivnosti, što ima za posledicu stimulisanje talamokortikalnih kôla i olakšano otpočinjanje pokreta. Iako je nakon hroničnog tretmana MP uočeno smanjenje afiniteta 5-HT_{2A} receptora u prefrontalnoj kori velikog mozga, izostanak ovog efekta na motorno ponašanje eksperimentalnih životinja može se objasniti rezultatima istraživanja O'Neill i sar. (1999). Ovi autori su pokazali da 5-HT_{2A} receptori modulišu povećanje vanćelijskog dopamina, ali ne i postsinaptičku osetljivost dopaminergičkih neurona, odnosno da aktivnost jedinjenja koja deluju direktno na postsinaptičke receptore za dopamin ne zavisi od aktivacije 5-HT_{2A} receptora.

6. ZAKLJUČCI

Na osnovu dobijenih rezultata možemo izvesti sledeće zaključke o efektima akutnog i hroničnog izlaganja promenljivom magnetnom polju (50 Hz, 0.5 mT) kod ispitivanih eksperimentalnih životinja.

➤ Akutno izlaganje promenljivom magnetnom polju:

- u trajanju od jednog dana povećava spontanu lokomotornu i stereotipnu aktivnost i smanjuje uspravljanje i vreme mirovanja;
- u trajanju od tri i sedam dana smanjuje spontano uspravljanje eksperimentalnih životinja;
- u trajanju od 3 i 7 dana smanjuje lokomotorni i stereotipni odgovor eksperimentalnih životinja izazvan primenom psihostimulansa AMPH (1.5 mg/kg, i.p.), kao i rotaciono ponašanje nakon izlaganja 7 dana;
- nema uticaja na afinitet i gustinu dopaminskih D₁ i D₂ receptora u strijatumu eksperimentalnih životinja;
- smanjuje afinitet 5-HT_{2A} receptora u prefrontalnoj kori velikog mozga proporcionalno dužini izlaganja i povećava njihovu gustinu;
- u trajanju od 7 dana smanjuje sadržaj IMP u kori velikog mozga eksperimentalnih životinja;
- u trajanju od 3 i 7 dana smanjuje produkciju cAMP u kori velikog mozga eksperimentalnih životinja;
- u trajanju od jednog i tri dana stimuliše stvaranje ATP u kori velikog mozga eksperimentalnih životinja.

➤ Hronično izlaganje promenljivom magnetnom polju:

- povećava spontanu motornu aktivnost i smanjuje vreme mirovanja eksperimentalnih životinja;
- smanjuje uspravljanje eksperimentalnih životinja izazvano primenom AMPH (1.5 mg/kg, i.p.);

- povećava afinitet dopaminskih D₁ receptora ne menjajući njihovu gustinu u strijatumu, dok nema uticaja na aktivnost D₂ receptora eksperimentalnih životinja;
- smanjuje afinitet serotonininskih 5-HT_{2A} receptora u prefrontalnoj kori velikog mozga;
- povećava koncentraciju cAMP u kori velikog mozga i strijatumu eksperimentalnih životinja.

Opšti zaključak je da spoljašnje ENF-MP (50 Hz, 0.5 mT) moduliše motorno ponašanje eksperimentalnih životinja posredstvom direktnog i/ili indirektnog uticaja na sinaptičku neurotransmisiju u kori velikog mozga i strijatumu, pri čemu karakter ovih promena zavisi od dužine izlaganja MP. Zbog toga su eksperimenti ovog tipa posebno korisni za ispitivanje efekata nekih farmakološki aktivnih supstanci na neurohemiju mozga i ponašanje individua koje žive i/ili rade u uslovima konstantne izloženosti različitim magnetnim poljima

7. LITERATURA

- Al-Akhras M, Elbetieha A, Hasan M, Al-Omari I, Darmani H and Albiss B (2001):** Effects of extremely low frequency magnetic field on fertility of adult male and female rats. *Bioelectromagnetics* 22:340-344.
- Albin RL, Young AB and Penney JB (1989):** The functional anatomy of basal ganglia disorders. *Trends Neurosci* 12:366-375.
- Alexander GE, DeLong MR and Strick PL (1986):** Parallel organization of functionally segregated circuits linking basal ganglia and cortex. *Annu Rev Neurosci* 9:357-381.
- Anderson MI, Killing S, Morris C, O'Donoghue A, Onyiahga D, Stevenson R, Verriotis M and Jeffery KJ (2006):** Behavioral correlates of the distributed coding of spatial context. *Hippocampus* 16:730-742.
- Archer J (1973):** Tests for emotionality in rats and mice: a review. *Anim Behav* 21:205-235.
- Arendse MC (1978):** Magnetic field detection is distinct from light detection in the invertebrates *Tenebrio* and *Talitrus*. *Nature* 274:358-362.
- Arendse MC and Barendregt A (1981):** Magnetic orientation in *Orchestia*. *Physiol Entomol* 6:333-342.
- Arendse MC and Kruyswijk CJ (1981):** Orientation of *Talitrus saltator* to magnetic fields. *Neth J Sea Res* 15:23-32.
- August PV, Ayvazian SG and Anderson JGT (1989):** Magnetic orientation in a small mammal, *Peromyscus leucopus*. *J Mamm* 70:1-9.
- Augustine GJ (2001):** How does calcium trigger neurotransmitter release? *Curr Opin Neurobiol* 11:320-326.
- Baker RR (1987):** Integrated use of moon and magnetic compasses by the heart-and-dart moth, *Agrotis exclamationis*. *Anim Behav* 35:94-101.
- Baker RR and Mather JG (1982):** Magnetic compass sense in the large yellow underwing moth, *Noctua pronuba* L. *Anim Behav* 30:543-548.
- Ballermann M, Tse AD, Misiaszek JE and Fouad K (2006):** Adaptations in the walking pattern of spinal cord injured rats. *J Neurotrauma* 23:897-907.
- Barbier E, Dufy B and Veyret B (1996):** Stimulation of Ca²⁺ influx in rat pituitary cells under exposure to a 50Hz magnetic field. *Bioelectromagnetics* 17:303-311.
- Barker AT, Jalinous R and Freeston IL (1985):** Non-invasive magnetic stimulation of human motor cortex. *Lancet* 1:1106-1107.
- Beason RC and Brennan WJ (1986):** Natural and induced magnetization in the bobolink (*Dolichonyx oryzivorus*). *J Exp Biol* 125:49-56.
- Beason RC and Nichols JE (1984):** Magnetic orientation and magnetic sensitive material in a transequatorial migratory bird. *Nature* 309:151-153.
- Beason RC, Wiltschko R and Wiltschko W (1997):** Pigeon homing: effects of magnetic pulses on initial orientation. *Auk* 114:405-415.
- Belmaker RH, Einat H, Levkovitz Y, Segal M and Grisar N (2000):** TMS effects in animal models of depression and mania. In: George MS and Belmaker RH (Eds.), *Transcranial Magnetic Stimulation (TMS) in Neuropsychiatry* (pp. 99-114). American Psychiatric Press, Washington DC.
- Bennett MF and Huguenin J (1969):** Geomagnetic effects on a circadian difference in reaction times in earthworms. *Z Verg Physiol* 63:440-445.

- Ben-Shachar D, Gazawi H, Riboyad-Levin J and Klein E (1999):** Chronic repetitive transcranial magnetic stimulation alters beta-adrenergic and 5-HT₂ receptor characteristics in rat brain. *Brain Res* **816**:78-83.
- Berg H (1993):** Electrostimulation of cell metabolism by low frequency electric and electromagnetic fields. *Bioelectrochem Bioenerg* **31**:1-25.
- Berridge KC, Fentress JC and Parr H (1987):** Natural syntax rules control action sequence of rats. *Behav Brain Res* **23**:59-68.
- Bersani F, Marinelli F, Ognibene A, Matteucci A, Cecchi S, Santi S, Squarzone S and Maraldi NM (1997):** Intramembrane protein distribution in cell cultures is affected by 50 Hz pulsed magnetic fields. *Bioelectromagnetics* **18**:463-469.
- Binhi VN (2002):** *Magnetobiology: underlying physical problems*. Academic Press, San Diego, CA.
- Blakemore RP and Frankel RB (1981):** Magnetic navigation in bacteria. *Sci Am* **245**:58-65.
- Bolles RC (1960):** Grooming behavior in the rat. *J Comp Physiol Psychol* **53**:306-310.
- Bolognani L, Francia F, Venturelli T and Volpi N (1992):** Fermentative activity of cold-stressed yeast and effect of electromagnetic pulsed field. *Electro-Magnetobiology* **11**:11-17.
- Bonvento G, Scatton B, Claustre Y and Rouquier L (1992):** Effect of local injection of 8-OH-DPAT into the dorsal or median raphe nuclei on extracellular levels of serotonin in serotonergic projection areas in the rat brain. *Neurosci Lett* **137**:101-104.
- Bortolozzi A, Diaz-Mataix L, Scorza MC, Celada P and Artigas F (2005):** The activation of 5-HT_{2A} receptors in prefrontal cortex enhances dopaminergic activity. *J Neurochem* **95**:1597-1607.
- Branover GG, Vasil'yev AS, Gleiser SI and Tsinober AB (1971):** A study of the behavior of the eel in natural and artificial magnetic fields and an analysis of its reception mechanism. *J Ichthyol* **11**:608-614.
- Brown FA and Webb HM (1960):** A "compass-direction" effect for snails in constant conditions and its lunar modulation. *Biol Bull* **119**:307.
- Brown FA Jr (1962):** Response of the planarian, *Dugesia*, and the protozoan, *Paramecium*, to very weak horizontal magnetic fields. *Biol Bull (Woods Hole, MA)* **123**:264-281.
- Brown FA Jr (1966):** Effects and after-effects on planarians of reversals of the horizontal magnetic vector. *Nature (London)* **209**:533-535.
- Brown FA Jr (1971):** Some orientational influences of non-visual, terrestrial electromagnetic fields. *Ann NY Acad Sci* **188**:224-241.
- Brown FA Jr and Park YH (1965a):** Duration of an after-effect in planarians following a reversed horizontal magnetic vector. *Biol Bull (Woods Hole, MA)* **128**:347-355.
- Brown FA Jr and Park YH (1965b):** Phase-shifting a lunar rhythm in planarians by altering the horizontal magnetic vector. *Biol Bull (Woods Hole, MA)* **129**:79-86.
- Brown FA Jr, Brett WJ, Bennett MF and Barnwell FH (1960):** Magnetic response of an organism and its solar relationships. *Biol Bull* **118**:367-381.
- Burda H, Marhold S, Westenberger T, Wiltshko R and Wiltshko W (1990):** Magnetic compass orientation in the subterranean rodent *Cryptomys hottentotus (Bathyergidae)*. *Experientia* **46**:528-530.
- Burnstock G (1986):** Purines and cotransmitters in adrenergic and cholinergic neurones. *Prog Brain Res* **68**:193-203.
- Cañedo L, Cantú RG and Hernández-R J (2003):** Magnetic field exposure during gestation: pineal and cerebral cortex serotonin in the rat. *Int J Dev Neurosci* **21**:263-266.

- Carr DB and Sesack SR (2000):** Projections from the rat prefrontal cortex to the ventral tegmental area: target specificity in the synaptic associations with mesoaccumbens and mesocortical neurons. *J Neurosci* 20:3864-3873.
- Chance WT, Grossman CJ, Newrock R, Bovin G, Yerian S, Schmitt G and Mendenhall C (1995):** Effects of electromagnetic fields and gender on neurotransmitters and amino acids in rats. *Physiol Behav* 58:743-748.
- Choleris E, Thomas AW, Kavaliers M and Prato FS (2001):** A detailed ethological analysis of the mouse open field test: effects of diazepam, chlordiazepoxide and an extremely low frequency pulsed magnetic field. *Neurosci Biobehav Rev* 25:235-260.
- Christensson M and Garwicz M (2005):** Time course of postnatal motor development in ferrets: ontogenetic and comparative perspectives. *Behav Brain Res* 158:231-242.
- Cohen H, Kaplan Z, Kotler M, Kouperman I, Moisa R and Grisaru N (2004):** Repetitive transcranial magnetic stimulation of the right dorsolateral prefrontal cortex in posttraumatic stress disorder: a double-blind, placebo-controlled study. *Am J Psychiatry* 161:515-524.
- Costall B, Marsden CD, Naylor RJ and Pycock CJ (1976):** The relationship between striatal and mesolimbic dopamine dysfunction and the nature of circling responses following 6-hydroxydopamine and electrolytic lesions of the ascending dopamine systems of rat brain. *Brain Res* 118:87-113.
- Creese I and Iversen SD (1974):** The role of forebrain dopamine systems in amphetamine induced stereotyped behavior in the rat. *Psychopharmacologia (Berl)* 39:345-357.
- Crusio WE (2001):** Genetic dissection of mouse exploratory behaviour. *Behav Brain Res* 125:127-132.
- Dacha M, Accorsi A, Pierotti C, Vetrano F, Mantovani R, Guidi G, Conti R and Nicolini P (1993):** Studies on the possible biological effects of 50 Hz electric and/or magnetic fields: evaluation of some glycolytic enzymes, glycolytic flux, energy and oxido-reductive potentials in human erythrocytes exposed in vitro to power frequency fields. *Bioelectromagnetics* 14:383-391.
- Davis HP, Mizumori SJ, Allen H, Rosenzweig MR, Bennett EL and Tenforde TS (1984):** Behavioral studies with mice exposed to DC and 60-Hz magnetic fields. *Bioelectromagnetics* 5:147-164.
- De Cabo C, Kitchen I, Kelly M and Viveros MP (1993):** Effects of beta-funaltrexamine treatment and sexual isolation in the perinatal period on the development of mu-opioid receptors and nociception. *Psychoneuroendocrinology* 18:415-424.
- De la Cruz F, Russek M and Junquera J (1990):** Ontogeny of the endorphinergic and dopaminergic modulation on the immobility reflex elicited by clamping in rats. *Int J Psychophysiol* 9:171-177.
- Dean P, Redgrave P and Westby GW (1989):** Event or emergency? Two response systems in the mammalian superior colliculus. *Trends Neurosci* 12:137-147.
- Del Seppia C, Mezzasalma L, Choleris E, Luschi P and Ghione S (2003):** Effects of magnetic field exposure on open field behaviour and nociceptive responses in mice. *Behav Brain Res* 144:1-9.
- Demaine C and Semm P (1985):** The avian pineal gland as an independent magnetic sensor. *Neurosci Lett* 62:119-122.
- Deno DW and Carpenter DO (1994):** Sources and characteristics of electric and magnetic fields in the environment. In: Carpenter DO and Ayrapetyan S (Eds.), *Biological effects of electric and magnetic fields* (pp. 3-51). Academic Press, San Diego, CA.
- Deutschlander ME, Borland SC and Phillips JB (1999a):** Extraocular magnetic compass in newts. *Nature* 400:324-325.
- Deutschlander ME, Phillips JB and Borland SC (1999b):** The case for light-dependent magnetic orientation in animals. *J Exp Biol* 202:891-908.

Drew KL and Glick SD (1990): Role of D-1 and D-2 receptor stimulation in sensitization to amphetamine-induced circling behavior and in expression and extinction of the Pavlovian conditioned response. *Psychopharmacology (Berl.)* **101**:465-471.

Dutta SK, Das K, Ghosh B and Blackman CF (1992): Dose dependence of acetylcholinesterase activity in neuroblastoma cells exposed to modulated radio-frequency electromagnetic radiation. *Bioelectromagnetics* **13**:317-322.

Ferré S (1997): Adenosine-dopamine interactions in the ventral striatum. Implications for the treatment of schizophrenia. *Psychopharmacology (Berl.)* **133**:107-120.

Fillion MP, Hernández RJ, Bauguen C and Fillion G (1982): Postnatal development of high affinity neuronal recognition sites for [³H]-5-HT in rat brain. *Dev Neurosci* **5**:484-491.

Fink JS and Smith GP (1980): Relationships between selective denervation of dopamine terminal fields in the anterior forebrain and behavioral responses to amphetamine and apomorphine. *Brain Res* **201**:107-127.

Fleissner G, Holtkamp-Rotzler E, Hanzlik M, Winkhofer M, Fleissner G, Petersen N and Wiltshko W (2003): Ultrastructural analysis of a putative magnetoreceptor in the beak of homing pigeons. *J Comp Neurol* **458**:350-360.

Florin SM, Kuczenski R and Segal DS (1992): Amphetamine-induced changes in behaviour and caudate extracellular acetylcholine. *Brain Res* **581**:53-58.

Florin SM, Kuczenski R and Segal DS (1994): Regional extracellular norepinephrine responses to amphetamine and cocaine and effects on clonidine pretreatment. *Brain Res* **654**:53-62.

Frankel RB and Blakemore RP (1989): Magnetite and magnetotaxis in microorganisms. *Bioelectromagnetics* **10**:223-237.

Fuller M, Gorse WS and Goodman WL (1985): An introduction to the use of SQUID magnetometers in biomagnetism. In: Kirschvink JL, Jones DS and MacFadden BJ (Eds.), *Magnetite biomineralization and magnetoreception in organisms: a new biomagnetism* (pp. 103-151). Plenum Press, New York.

Gambill JD and Kornetsky C (1976): Effects of chronic d-amphetamine on social behavior of the rat: implications for an animal model of paranoid schizophrenia. *Psychopharmacology* **50**:215-223.

Garcia-Rill E (1991): The pedunculopontine nucleus. *Prog Neurobiol* **36**:363-389.

Garcia-Rill E and Skinner RD (1985): The mesencephalic locomotor medial tegmental field. *Anat Rec* **211**:65A.

George MS, Lisanby SH and Sackeim HA (1999): Transcranial magnetic stimulation: applications in neuropsychiatry. *Arch Gen Psychiatry* **56**:300-311.

Gerfen CR (1992): The neostriatal mosaic: multiple levels of compartmental organization. *Trends Neurosci* **15**:133-139.

Gerfen CR, Engber TM, Mahan LC, Susel Z, Chase TN, Monsma FJ Jr and Sibley DR (1990): D1 and D2 dopamine receptor-regulated gene expression of striatonigral and striatopallidal neurons. *Science* **250**:1429-1432.

Geyer MA, Masten VL and Segal DS (1986): Behavioural effects of xylamine-induced depletions of brain norepinephrine: interaction with amphetamine. *Behav Brain Res* **21**:55-64.

Ghez C, Hening W and Gordon J (1991): Organization of voluntary movement. *Curr Opin Neurobiol* **1**:664-671.

Gilad GM, Rabey JM and Gilad VH (1987): Presynaptic effects of glucocorticoids on dopaminergic and cholinergic synaptosomes. Implications for rapid endocrine-neural interactions in stress. *Life Sci* **40**:2401-2408.

Giovannini MG, Rakovska A, Benton RS, Pazzagli M, Bianchi L and Pepeu G (2001): Effects of novelty and habituation on acetylcholine, GABA, and glutamate release from the frontal cortex and hippocampus of freely moving rats. *Neuroscience* **106**:43-53.

Glick SD, Jerussi TP, Water DH and Green JP (1974): Amphetamine-induced changes in striatal dopamine and acetylcholine levels and relationship to rotation (circling behavior) in rats. *Biochem Pharmacol* **23**:3223-3225.

Godinho AF, Trombini TV and Oliveira EC (2002): Effects of elevated calcium on motor and exploratory activities of rats. *Braz J Med Biol Res* **35**:451-457.

Goldstein LB (2003): Model of recovery of locomotor ability after sensorimotor cortex injury in rats. *ILAR J* **44**:125-129.

Gottlieb ND and Caldwell WE (1967): Magnetic field effects on the compass mechanism and activity level of the snail *Helisoma duryi* Endiscus. *J Genet Psychol* **111**:85-102.

Graybiel AM (1990): Neurotransmitters and neuromodulators in the basal ganglia. *Trends Neurosci* **13**:244-254.

Graybiel AM (2001): Neural networks: neural systems V: basal ganglia. *Am J Psychiatry* **158**:21.

Grisaru N, Chudakov B, Yaroslavsky Y and Belmaker RH (1998): Transcranial magnetic stimulation in mania: a controlled study. *Am J Psychiatry* **155**:1608-1610.

Guide for the care and use of laboratory animals. NIH Publication No. 85-23, revised 1985.

Harfstrand A, Fuxe K, Cintra A, Agnati LF, Zini I, Wikstrom AC, Okret S, Yu ZY, Goldstein M, Steinbusch H and Gustafsson JA (1986): Glucocorticoid receptor immunoreactivity in monoaminergic neurons of rat brain. *Proc Natl Acad Sci USA* **83**:9779-9783.

Hoffman RE, Boutros NN, Hu S, Berman RM, Krystal JH and Charney DS (2000): Transcranial magnetic stimulation and auditory hallucinations in schizophrenia. *Lancet* **355**:1073-1075.

Huang C, Ye H, Xu J, Liu J and Qu A (2000): Effects of extremely low frequency weak magnetic fields on the intracellular free calcium concentration in PC-12 tumor cells. *Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi* **17**:63-65, 94.

Illes P and Norenberg W (1993): Neuronal ATP receptors and their mechanism of action. *Trends Pharmacol Sci* **14**:50-54.

Inglis WL and Winn P (1995): The pedunclopontine tegmental nucleus: where the striatum meets the reticular formation. *Prog Neurobiol* **47**:1-29.

Iversen LL and Salt PJ (1970): Inhibition of catecholamine Uptake-2 by steroids in the isolated rat heart. *Br J Pharmacol* **40**:528- 530.

Jackson RC, Morris HP and Weber G (1977): Partial purification, properties and regulation of inosine 5'-phosphate dehydrogenase in normal and malignant tissues. *Biochem J* **166**:1-10.

Jacobs BL and Azmitia EC (1992): Structure and function of the brain serotonin system. *Physiol Rev* **72**:165-229.

Jacobson JI (1994): Pineal-hypothalamic tract mediation of picotesla magnetic fields in the treatment of neurological disorders. *Panminerva Med* **36**:201-205.

Jeong JH, Kum C, Choi HJ, Park ES and Sohn UD (2006): Extremely low frequency magnetic field induces hyperalgesia in mice modulated by nitric oxide synthesis. *Life Sci* **78**:1407-1412.

Joels M and De Kloet ER (1992): Control of neuronal excitability by corticosteroid hormones. *Trends Neurosci* **15**:25-30.

Jolkkonen J, Gallagher NP, Zilles K and Sivenius J (2003): Behavioral deficits and recovery following transient focal cerebral ischemia in rats: glutamatergic and GABAergic receptor densities. *Behav Brain Res* 138:187-200.

Joyce EM and Iversen SD (1984): Dissociable effects of 6-OHDA-induced lesions of neostriatum on anorexia, locomotor activity and stereotypy: the role of behavioural competition. *Psychopharmacology* 83:363-366.

Kaakkola S and Kääriäinen I (1980): Circling behavior induced by intranigral injections of GABA and muscimol in rats. *Psychopharmacology (Berl.)* 68:31-36.

Kahkonen S, Komssi S, Wilenius J and Ilmoniemi RJ (2005): Prefrontal TMS produces smaller EEG responses than motor-cortex TMS: implications for rTMS treatment in depression. *Psychopharmacology (Berl.)* 181:16-20.

Kalmijn AJ (1971): The electric sense of sharks and rays. *J Exp Biol* 55:371-383.

Kalmijn AJ (1974): The detection of electric fields from inanimate and animate sources other than electric organs. In: Fessard A (Ed.), *Handbook of sensory physiology (vol. III/3): electroreceptors and other specialized receptors in lower vertebrates* (pp. 147-200). Springer-Verlag, New York.

Kalmijn AJ (1988): Detection of weak electric fields. In: Atema J, Fay RR, Popper AN and Tavolga WN (Eds.), *Sensory biology of aquatic animals* (pp. 151-186). Springer-Verlag, New York.

Kalmijn AJ and Blakemore RP (1978): The magnetic behavior of mud bacteria. In: Schmidt-Koenig K and Keeton WT (Eds.), *Animal migration, navigation and homing* (pp. 354-355). Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.

Kandel ER, Schwartz JH and Jessell TM (2000): *Principles of Neural Science*, 4th edition. McGraw Hill, New York.

Kanjhan R, Housley GD, Burton LD, Christie DL, Kippenberger A, Thorne PR, Luo L and Ryan AF (1999): Distribution of the P2X2 receptor subunit of the ATP-gated ion channels in the rat central nervous system. *J Comp Neurol* 407:11-32.

Karabakhtsian R, Broude N, Shalts N, Kochlatyi S, Goodrum R and Henderson AS (1994): Calcium is necessary in the cell response to EM fields. *FEBS Lett* 349:1-6.

Kavaliers M and Ossenkopp KP (1986): Stress-induced opioid analgesia and activity in mice: inhibitory influences of exposure to magnetic fields. *Psychopharmacology (Berl)* 89:440-443.

Kavaliers M, Ossenkopp KP and Tysdale DM (1991): Evidence for the involvement of protein kinase C in the modulation of morphine-induced 'analgesia' and the inhibitory effects of exposure to 60-Hz magnetic fields in the snail *Cepaea nemoralis*. *Brain Res* 554:65-71.

Kawaguchi Y, Wilson CJ and Emson PC (1990): Projection subtypes of rat neostriatal matrix cells revealed by intracellular injection of biocytin. *J Neurosci* 10:3421-3438.

Kawaguchi Y, Wilson CJ, Augood SJ and Emson PC (1995): Striatal interneurons: chemical, physiological and morphological characterization. *Trends Neurosci* 18:527-535.

Keck ME, Welt T, Muller MB, Erhardt A, Ohl F, Toschi N, Holsboer F and Sillaber I (2002): Repetitive transcranial magnetic stimulation increases the release of dopamine in the mesolimbic and mesostriatal system. *Neuropharmacology* 43:101-119.

Keeton WT (1971): Magnets interfere with pigeon homing. *Proc Natl Acad Sci USA* 68:102-106.

Kemp JM and Powell TP (1970): The cortico-striate projection in the monkey. *Brain* 93:525-546.

Kim YH, You SH, Ko MH, Park JW, Lee KH, Jang SH, Yoo WK and Hallett M (2006): Repetitive transcranial magnetic stimulation-induced corticomotor excitability and associated motor skill acquisition in chronic stroke. *Stroke* 37:1471-1476.

Kimchi T and Terkel J (2001): Magnetic compass orientation in the blind mole rat *Spalax ehrenbergi*. *J Exp Biol* **204**:751-758.

Kirschvink JL (1982): Birds, bees and magnetism: a new look at the old problem of magnetoreception. *Trends Neurosci* **5**:160-167.

Kirschvink JL and Gould JL (1981): Biogenic magnetite as a basis for magnetic field sensitivity in animals. *BioSystems* **13**:181-201.

Kirschvink JL, Dizon AE and Westphal JA (1986): Evidence from strandings for geomagnetic sensitivity in cetaceans. *J Exp Biol* **120**:1-24.

Kirschvink JL, Jones DS and McFadden BJ (1985): *Magnetite biomineralization and magnetoreception in organisms*. Plenum Press, New York.

Kirschvink JL, Kobayashi-Kirschvink A and Woodford BJ (1992): Magnetite biomineralization in the human brain. *Proc Natl Acad Sci USA* **89**:7683-7687.

Klemm WR (1971): Neurophysiologic studies of the immobility reflex ("animal hypnosis"). *Neurosci Res (NY)* **4**:165-212.

Klemm WR (2001): Behavioral arrest: in search of the neural control system. *Prog Neurobiol* **65**:453-471.

Klinowska M (1985): Cetacean stranding sites relate to geomagnetic topography. *Aquatic Mammals* **1**:27-32.

Koch H, von Kugelgen I and Starke K (1997): P2-receptor-mediated inhibition of noradrenaline release in the rat hippocampus. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* **355**:707-715.

Kowalski U, Wiltschko R and Fuller E (1988): Normal fluctuations of the geomagnetic field may affect initial orientation in pigeons. *J Comp Physiol* **163**:593-600.

Kuczenski R (1986): Dose response for amphetamine-induced changes in dopamine levels in push-pull perfusates of rat striatum. *J Neurochem* **46**:1605-1611.

Kuczenski R and Segal D (1989): Concomitant characterization of behavioural and striatal neurotransmitter response to amphetamine using in vivo microdialysis. *J Neurosci* **9**:2051-2065.

Kuczenski R and Segal DS (1992): Regional norepinephrine response to amphetamine using dialysis: comparison with caudate dopamine. *Synapse* **11**:164-169.

Lai H (1996): Spatial learning deficit in the rat after exposure to a 60 Hz magnetic field. *Bioelectromagnetics* **17**:494-496.

Lai H and Carino M (1999): 60 Hz magnetic fields and central cholinergic activity: effects of exposure intensity and duration. *Bioelectromagnetics* **20**:284-289.

Lai H, Carino MA and Ushijima I (1998): Acute exposure to a 60Hz magnetic field affects rats' water-maze performance. *Bioelectromagnetics* **19**:117-122.

Lai H, Carino MA, Horita A and Guy AW (1993): Effects of a 60 Hz magnetic field on central cholinergic systems of the rat. *Bioelectromagnetics* **14**:5-15.

Larkin T and Keeton WT (1978): An apparent lunar rhythm in the day-to-day variations in initial bearings of homing pigeons. In: Schmidt-Koenig K and Keeton WT (Eds.), *Animal migration, navigation, and homing* (pp. 92-106). Springer-Verlag, Berlin.

Lednor AJ and Walcott C (1988): Orientation of pigeons at magnetic anomalies: the effects of experience. *Behav Ecol Sociobiol* **22**:3-8.

Lee BC, Bing G, Jhoo WK, Yoon JM, Kang KS, Shin EJ, Kim WK, Ko KH and Kim HC (2001): Prenatal exposure to magnetic field increases dopamine levels in the striatum of offspring. *Clin Exp Pharmacol Physiol* **28**:884-886.

- Legros A and Beuter A (2005):** Effect of a low intensity magnetic field on human motor behavior. *Bioelectromagnetics* 26:657-669.
- Legros A, Gaillot P and Beuter A (2006):** Transient effect of low-intensity magnetic field on human motor control. *Med Eng Phys* 28:827-836.
- Lever C, Burton S and O'Keefe J (2006):** Rearing on hind legs, environmental novelty, and the hippocampal formation. *Rev Neurosci* 17:111-133.
- Lewy H, Massot O and Touitou Y (2003):** Magnetic field (50 Hz) increases *N*-acetyltransferase, hydroxy-indole-*O*-methyltransferase activity and melatonin release through an indirect pathway. *Int J Radiat Biol* 79:431-435.
- Liburdy RP, Callahan DE, Harland J, Dunham E, Sloma TR and Yaswen P (1993):** Experimental evidence for 60 Hz magnetic fields operating through the signal transduction cascade. Effects on calcium influx and c-MYC mRNA induction. *FEBS Lett* 334:301-308.
- Lohmann KJ (1985):** Geomagnetic field detection by the western Atlantic spiny lobster *Panulirus argus*. *Mar Behav Physiol* 12:1-17.
- Lohmann KJ (1991):** Magnetic orientation by hatchling loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*). *J Exp Biol* 155:37-49.
- Lohmann KJ and Willows AOD (1987):** Lunar-modulated geomagnetic orientation by a marine mollusk. *Science* 235:331-334.
- Lyon M and Robbins T (1975):** The action of central nervous system stimulant drugs: a general theory concerning amphetamine effects. *Curr Dev Psychopharmacol* 2:79-163.
- Majid MA, Okajima F and Kondo Y (1992):** Characterization of ATP receptor which mediates norepinephrine release in PC12 cells. *Biochim Biophys Acta* 1136:283-289.
- Mally J and Stone TW (1999):** Therapeutic and "dose-dependent" effect of repetitive microelectroshock induced by transcranial magnetic stimulation in Parkinson's disease. *J Neurosci Res* 57:935-940.
- Marin MT, Cruz FC and Planeta CS (2007):** Chronic restraint or variable stresses differently affect the behavior, corticosterone secretion and body weight in rats. *Physiol Behav* 90:29-35.
- Marinelli M, Piazza PV, Deroche V, Maccari S, Le Moal M and Simon H (1994):** Corticosterone circadian secretion differentially facilitates dopamine-mediated psychomotor effect of cocaine and morphine. *J Neurosci* 14:2724-2731.
- Marino AA, Wolcott RM, Chervenak R, Jourd'heuil F, Nilsen E, Frilot C 2nd and Pruett SB (2001):** Coincident nonlinear changes in the endocrine and immune systems due to low-frequency magnetic fields. *Neuroimmunomodulation* 9:65-77.
- Markwell MA, Haas SM, Bieber LL and Tolbert NE (1978):** A modification of the Lowry procedure to simplify protein determination in membrane and lipoprotein samples. *Anal Biochem* 87:206-210.
- Marron MT, Goodman EM, Greenebaum B and Tipnis P (1986):** Effects of sinusoidal 60-Hz electric and magnetic fields on ATP and oxygen levels in the slime mold *Physarum polycephalum*. *Bioelectromagnetics* 7:307-314.
- Martin H and Lindauer M (1977):** Der Einfluß des Erdmagnetfeldes auf die Schwereorientierung der Honigbiene (*Apis mellifica*). *J Comp Physiol* 122:145-187.
- Massot O, Grimaldi B, Bailly JM, Kochanek M, Deschamps F, Lambrozo J and Fillion G (2000):** Magnetic field desensitizes 5-HT_{1B} receptor in brain: pharmacological and functional studies. *Brain Res* 858:143-150.
- Mather JG and Baker RR (1981):** Magnetic sense of direction in woodmice for route-based navigation. *Nature* 291:152-155.

Mathis A and Moore FR (1988): Geomagnetism and the homeward orientation of the box turtle *Terrapene carolina*. *Ethology* **78**:265-274.

Menkes DL and Gruenthal M (2000): Slow-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation in a patient with focal cortical dysplasia. *Epilepsia* **41**:240-242.

Miller DA (1974): Electrical and magnetic fields produced by commercial power systems. In: Llauro J, Sances A and Bottocletti JH (Eds.), *Biological and clinical effects of the low-frequency magnetic and electric fields* (pp. 62-70). Charles C. Thomas. Springfield, IL.

Missale C, Nash SR, Robinson SW, Jaber M and Caron MG (1998): Dopamine receptors: from structure to function. *Physiol Rev* **78**:189-225.

Mogenson GJ, Brudzynski SM, Wu M, Yang CR and Yim CY (1993): From motivation to action: a review of dopamine regulation of limbic-nucleus accumbens-ventral pallidum-pedunculopontine nucleus circuitries involved in limbic-motor integration. In: Kalivas PW and Barnes CD (Eds.), *Limbic motor circuits and neuropsychiatry* (pp. 193-236). CRC Press, Boca Raton, FL.

Mohammed AK, Winblad B, Ebendal T and Larkfors L (1990): Environmental influence on behaviour and nerve growth factor in the brain. *Brain Res* **528**:62-72.

Monassi CR, Leite-Panissi CR and Menescal-de-Oliveira L (1999): Ventrolateral periaqueductal gray matter and the control of tonic immobility. *Brain Res Bull* **50**:201-208.

Monti MG, Pernecco L, Moruzzi MS, Battini R, Zaiol P and Barbiroli B (1991): Effect of ELF pulsed electromagnetic fields on protein kinase C activation process in HL-60 leukemia cells. *J Bioelectr* **10**:119-130.

Morgado-Valle C, Verdugo-Diaz L, Garcia DE, Morales-Orozco C and Drucker-Colin R (1998): The role of voltage-gated Ca²⁺ channels in neurite growth of cultured chromaffin cells induced by extremely low frequency (ELF) magnetic field stimulation. *Cell Tissue Res* **291**:217-230.

Mori S, Sakamoto T, Ohta Y, Takakusaki K and Matsuyama K (1989): Site-specific postural and locomotor changes evoked in awake, freely moving intact cats by stimulating the brainstem. *Brain Res* **505**:66-74.

Moribe S, Ikeda H, Sato M, Akiyama G, Matsuzaki S, Hasegawa K, Koshikawa N and Cools AR (2005): Acetylcholine receptor effects on accumbal shell dopamine-mediated turning behaviour in rats. *Neuropharmacology* **49**:514-524.

Mostafa RM, Mostafa YM and Ennaceur A (2002): Effects of exposure to extremely low-frequency magnetic field of 2 G intensity on memory and corticosterone level in rats. *Physiol Behav* **76**:589-595.

Němec P, Altmann J, Marhold S, Burda H and Oelschlager HH (2001): Neuroanatomy of magnetoreception: the superior colliculus involved in magnetic orientation in a mammal. *Science* **294**:366-368.

Němec P, Burda H and Oelschlager HH (2005): Towards the neural basis of magnetoreception: a neuroanatomical approach. *Naturwissenschaften* **92**:151-157.

Norenberg W and Illes P (2000): Neuronal P2X receptors: localisation and functional properties. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* **362**:324-339.

O'Neill MF, Heron-Maxwell CL and Shaw G (1999): 5-HT₂ receptor antagonism reduces hyperactivity induced by amphetamine, cocaine, and MK-801 but not D1 agonist C-APB. *Pharmacol Biochem Behav* **63**:237-243.

Ossenkopp KP and Ossenkopp MD (1983): Geophysical variables and behavior: XI. Open-field behaviors in young rats exposed to an elf rotating magnetic field. *Psychol Rep* **52**:343-349.

Owens DG, Johnstone EC and Frith CD (1982): Spontaneous involuntary disorders of movement: their prevalence, severity, and distribution in chronic schizophrenics with and without treatment with neuroleptics. *Arch Gen Psychiatry* **39**:452-461.

Palmer JD (1963): Organismic spatial response in very weak spatial magnetic fields. *Nature (London)* **198**:1061-1062.

- Paulin MG** (1995): Electroreception and the compass sense of sharks. *J Theor Biol* **174**:325-339.
- Pellis SM, Teitelbaum P and Meyer ME** (1990): Labyrinthine and visual involvement in the dorsal immobility response of adult rats. *Behav Brain Res* **39**:197-204.
- Persinger MA** (1969): Open-field behavior in rats exposed prenatally to a low intensity-low frequency, rotating magnetic field. *Dev Psychobiol* **2**:168-171.
- Persinger MA, Ossenkopp KP and Glavin GB** (1972): Behavioral changes in adult rats exposed to ELF magnetic fields. *Int J Biometeorol* **16**:155-162.
- Pešić V, Janać B, Jelenković A, Vorobyov V and Prolić Z** (2004): Non-linearity in combined effects of ELF magnetic field and amphetamine on motor activity in rats. *Behav Brain Res* **150**:223-227.
- Peters DA** (1986a): Prenatal stress: effect on development of rat brain serotonergic neurons. *Pharmacol Biochem Behav* **24**:1377-1382.
- Peters DA** (1986b): Prenatal stress increases the behavioral response to serotonin agonists and alters open field behavior in the rat. *Pharmacol Biochem Behav* **25**:873-877.
- Peters DA** (1988): Both prenatal and postnatal factors contribute to the effects of maternal stress on offspring behavior and central 5-hydroxytryptamine receptors in the rat. *Pharmacol Biochem Behav* **30**:669-673.
- Phillips JB** (1977): Use of the earth's magnetic field by orienting cave salamanders (*Eurycea lucifuga*). *J Comp Physiol A* **121**:273-288.
- Phillips JB** (1986): Magnetic compass orientation in the eastern red-spotted newt (*Notophthalmus viridescens*). *J Comp Physiol* **158**:103-109.
- Phillips JB** (1987): Laboratory studies of homing orientation in the eastern red-spotted newt (*Notophthalmus viridescens*). *J Exp Biol* **131**:215-229.
- Phillips JB and Borland SC** (1992a): Behavioral evidence for the use of a light-dependent magnetoreception mechanism by a vertebrate. *Nature* **359**:142-144.
- Phillips JB and Borland SC** (1992b): Wavelength-specific effects of light on magnetic compass orientation of the eastern red-spotted newt *Notophthalmus viridescens*. *Ethol Ecol Evol* **4**:33-42.
- Phillips JB and Sayed O** (1993): Wavelength-dependent effects of light on magnetic compass orientation in *Drosophila melanogaster*. *J Comp Physiol A* **172**:303-308.
- Phillips JB, Deutschlander ME, Freake MJ and Borland SC** (2001): The role of extraocular photoreceptors in newt magnetic compass orientation: parallels between light-dependent magnetoreception and polarized light detection in vertebrates. *J Exp Biol* **204**:2543-2552.
- Piazza PV, Rouge-Pont F, Deroche V, Maccari S, Simon H and Le Moal M** (1996): Glucocorticoids have state-dependent stimulant effects on the mesencephalic dopaminergic transmission. *Proc Natl Acad Sci USA* **93**:8716-8720.
- Picton HD** (1966): Some responses of *Drosophila* to weak magnetic and electrostatic fields. *Nature* **211**:303-304.
- Powell SB, Newman HA, Pendergast JF and Lewis MH** (1999): A rodent model of spontaneous stereotypy: initial characterization of developmental, environmental, and neurobiological factors. *Physiol Behav* **66**:355-363.
- Presti D and Pettigrew JD** (1980): Ferromagnetic coupling to muscle receptors as a basis for geomagnetic field sensitivity in animals. *Nature* **285**:99-101.
- Prolić Z, Jovanović R, Konjević Đ and Janać B** (2003): Behavioral differences of the insect *Morimus funereus* (Coleoptera, Cerambycidae) exposed to an extremely low frequency magnetic field. *Electromagn Biol Med* **22**:63-73.

- Ralevic V and Burnstock G (1998):** Receptors for purines and pyrimidines. *Pharmacol Rev* **50**: 413-492.
- Reiter RJ (1993):** Static and extremely low frequency electromagnetic field exposure: reported effects on the circadian production of melatonin. *J Cell Biochem* **51**:394-403.
- Repacholi MH and Greenebaum B (1999):** Interaction of static and extremely low frequency electric and magnetic fields with living systems: health effects and research needs. *Bioelectromagnetics* **20**:133-160.
- Reuss S, Semm P and Vollrath L (1983):** Different types of magnetically sensitive cells in the rat pineal gland. *Neurosci Lett* **40**:23-26.
- Richardson NE, McCleave JD and Albert EH (1976):** Effects of extremely low frequency electric and magnetic fields on locomotor activity of Atlantic salmon parr. *Environ Pollut* **10**:65-76.
- Richardson PJ and Brown SJ (1987):** ATP release from affinity-purified rat cholinergic nerve terminals. *J Neurochem* **48**:622-630.
- Rickli M and Leuthold RH (1988):** Homing in harvester termites: evidence for magnetic orientation. *Ethology* **77**:209-216.
- Ritz T, Adem S and Schulten K (2000):** A model for photoreceptor-based magnetoreception in birds. *Biophys J* **78**:707-718.
- Rodda GH (1984):** The orientation and navigation of juvenile alligators: evidence of magnetic sensitivity. *J Comp Physiol A* **154**:649-658.
- Rodda GH and Phillips JB (1992):** Navigational systems develop along similar lines in amphibians, reptiles and birds. *Ethol Ecol Evol* **4**:43-51.
- Rosa-Kenig A, Puotz JK and Rebec GV (1993):** The involvement of D1 and D2 dopamine receptors in amphetamine-induced changes in striatal unit activity in behaving rats. *Brain Res* **619**:347-351.
- Rosen MS and Rosen AD (1990):** Magnetic field influence on paramecium motility. *Life Sci* **46**:1509-1515.
- Rosenblum B, Jungerman RL and Longfellow L (1985):** Limits to induction-based magnetoreception. In: Kirschvink JL, Jones DS and MacFadden BJ (Eds.), *Magnetite biomineralization and magnetoreception in organisms: a new biomagnetism* (pp. 365-384). Plenum Press, New York.
- Rothschild AJ, Langlais PJ, Schatzberg AF, Miller MM, Saloman MS, Lerbinger JE, Cole JO and Bird ED (1985):** The effects of a single acute dose of dexamethasone on monoamine and metabolite levels in rat brain. *Life Sci* **36**:2491-2501.
- Rotta FT, Mello CF, Rocha JB and Souza DO (1988):** Early undernutrition blocks the effect of naltrexone on rat exploratory behavior. *Braz J Med Biol Res* **21**:305-312.
- Rudolph K, Krauchi K, Wirz-Justice A and Feer H (1985):** Weak 50-Hz electromagnetic fields activate rat open field behavior. *Physiol Behav* **35**:505-508.
- Sakai ST, Inase M and Tanji J (1996):** Comparison of cerebellothalamic and pallidothalamic projections in the monkey (*Macaca fuscata*): a double anterograde labeling study. *J Comp Neurol* **368**:215-228.
- Sandi C, Venero C and Guaza C (1996):** Novelty-related rapid locomotor effects of corticosterone in rats. *Eur J Neurosci* **8**:794-800.
- Santana N, Bortolozzi A, Serrats J, Mengod G and Artigas F (2004):** Expression of serotonin1A and serotonin2A receptors in pyramidal and GABAergic neurons of the rat prefrontal cortex. *Cereb Cortex* **14**:1100-1109.
- Saudou F and Hen R (1994):** 5-Hydroxytryptamine receptor subtypes in vertebrates and invertebrates. *Neurochem Int* **25**:503-532.

- Scatchard G (1949): The attractions of proteins for small molecules and ions. *Ann NY Acad Sci* 51:660-672.
- Schulten K and Windemuth A (1986): Model for a physiological magnetic compass. In: Maret G, Boccara N and Kiepenheuer J (Eds.), *Biophysical effects of steady magnetic fields* (pp. 99-106). Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- Schultheiss-Grassi PP and Dobson J (1999): Magnetic analysis of human brain tissue. *BioMetals* 12:67-72.
- Seiden LS, Sabol KE and Ricaurte GA (1993): Amphetamine: effects on catecholamine systems and behaviour. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 33:639-677.
- Semenova TP, Anoshkina IA, Khomut BM and Kolaeva SG (2001): Seasonal peculiarities of behavior of ground squirrel *Citellus undulatus* in holeboard and open field tests. *Behav Processes* 56:195-200.
- Semm P (1983): Neurobiological investigation of the magnetic sensitivity of the pineal gland in rodents and pigeons. *Comp Biochem Physiol A* 76:683-689.
- Semm P and Beason RC (1990): Responses to small magnetic variations by the trigeminal system of the bobolink. *Brain Res Bull* 25:735-740.
- Semm P and Demaine C (1986): Neurophysiological properties of magnetic cells in the pigeon's visual system. *J Comp Physiol A* 159:619-625.
- Semm P, Nohr D, Demaine C and Wiltshko W (1984): Neural basis of the magnetic compass: interactions of visual, magnetic and vestibular inputs in the pigeon's brain. *J Comp Physiol A* 155:283-288.
- Semm P, Schneider T and Vollrath L (1980): Effects of an earth-strength magnetic field on electrical activity of pineal cells. *Nature* 288:607-608.
- Sharp T, Zetterstrom T, Ljungberg T and Ungerstedt U (1987): A direct comparison of amphetamine-induced behaviours and regional brain dopamine release in the rat using intracerebral dialysis. *Brain Res* 401:322-330.
- Shcherbakov V and Winklhofer M (1999): The osmotic magnetometer: a new model for magnetite-based magnetoreceptors in animals. *Euro Biophys J* 28:380-392.
- Siebner HR, Rossmeyer C, Mentschel C, Peinemann A and Conrad B (2000): Short-term motor improvement after sub-threshold 5-Hz repetitive transcranial magnetic stimulation of the primary motor hand area in Parkinson's disease. *J Neurol Sci* 178:91-94.
- Sienkiewicz ZJ, Haylock RGE and Saunders RD (1998): Deficits in spatial learning after exposure of mice to a 50 Hz magnetic field. *Bioelectromagnetics* 19:79-84.
- Sienkiewicz ZJ, Robbins L, Haylock RG and Saunders RD (1994): Effects of prenatal exposure to 50 Hz magnetic fields on development in mice: II. Postnatal development and behavior. *Bioelectromagnetics* 15:363-375.
- Sieron A, Brus R, Szkilnik R, Plech A, Kubanski N and Cieslar G (2001): Influence of alternating low frequency magnetic fields on reactivity of central dopamine receptors in neonatal 6-hydroxydopamine treated rats. *Bioelectromagnetics* 22:479-486.
- Sieron A, Labus L, Nowak P, Cieslar G, Brus H, Durczok A, Zagzil T, Kostrzewa RM and Brus R (2004): Alternating extremely low frequency magnetic field increases turnover of dopamine and serotonin in rat frontal cortex. *Bioelectromagnetics* 25:426-430.
- Silinsky EM (1975): On the association between transmitter secretion and the release of adenine nucleotides from mammalian motor nerve terminals. *J Physiol* 247:145-162.
- Sinnamon HM and Stopford CK (1987): Locomotion elicited by lateral hypothalamic stimulation in the anesthetized rat does not require the dorsal midbrain. *Brain Res* 402:78-86.

- Skinner RD and Garcia-Rill E (1990):** Brainstem modulation of rhythmic functions and behaviors. In: Klemm W and Vertes RP (Eds.), *Brainstem mechanisms of behavior* (pp. 465-496). Wiley and Sons, New York.
- Skinner RD and Garcia-Rill E (1993):** Mesolimbic integrations with mesopontine modulation of locomotion. In: Kalivas P and Barnes CD (Eds.), *Limbic motor circuits and neuropsychiatry* (pp. 155-182). CRC, Boca Raton, FL.
- Smith RF, Clarke RL and Justesen DR (1994):** Behavioral sensitivity of rats to extremely-low-frequency magnetic fields. *Bioelectromagnetics* **15**:411-426.
- Smith RJF (1985):** *The control of fish migration*. Springer-Verlag, New York.
- Southern WE (1978):** Orientation responses of ring-billed gull chicks: A reevaluation. In: Schmidt-Koenig K and Keeton WT (Eds.), *Animal migration, navigation and homing* (pp. 311-317). Springer Verlag, Berlin.
- Sperlagh B and Vizi ES (1991):** Effect of presynaptic P2 receptor stimulation on transmitter release. *J Neurochem* **56**:1466-1470.
- Staton DM and Solomon PR (1984):** Microinjections of d-amphetamine into the nucleus accumbens and caudate-putamen differentially affect stereotypy and locomotion in the rat. *Physiol Psychol* **12**:159-162.
- Stein BE (1998):** Neural mechanisms for synthesizing sensory information and producing adaptive behaviors. *Exp Brain Res* **123**:124-135.
- Tergau F, Naumann U, Paulus W and Steinhoff BJ (1999):** Low-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation improves intractable epilepsy. *Lancet* **353**:2209.
- Thiel CM, Huston JP and Schwarting RK (1998):** Hippocampal acetylcholine and habituation learning. *Neuroscience* **85**:1253-1262.
- Thiel CM, Muller CP, Huston JP and Schwarting RK (1999):** High versus low reactivity to a novel environment: behavioural, pharmacological and neurochemical assessments. *Neuroscience* **93**:243-251.
- Thoss F and Bartsch B (2003):** The human visual threshold depends on direction and strength of a weak magnetic field. *J Comp Physiol A* **189**:777-779.
- Thoss F, Bartsch B, Telschaft D and Thoss M (1999):** Periodic inversion of the vertical component of the earth's magnetic field influences fluctuations of visual sensitivity in humans. *Bioelectromagnetics* **20**:459-461.
- Thoss F, Bartsch B, Telschaft D and Thoss M (2002):** The light sensitivity of the human visual system depends on the direction of view. *J Comp Physiol A* **188**:235-237.
- Towne WE and Gould JL (1985):** Magnetic field sensitivity in honeybees. In: Kirschvink JL, Jones DS and MacFadden BJ (Eds.), *Magnetite biomineralization and magnetoreception in organisms: a new biomagnetism* (pp. 385-406). Plenum Press, New York.
- Trendelenburg AU and Bultmann R (2000):** P2 receptor-mediated inhibition of dopamine release in rat neostriatum. *Neuroscience* **96**:249-252.
- Trzeciak HI, Grzesik J, Bortel M, Kuska R, Duda D, Michnik J and Malecki A (1993):** Behavioral effects of long-term exposure to magnetic fields in rats. *Bioelectromagnetics* **14**:287-297.
- Turner M (1997):** Towards an executive dysfunction account of repetitive behaviour in autism. In: Russell J (Ed.), *Autism as an executive disorder* (pp.57-100). New York, NY, USA: Oxford University Press.
- Ungerstedt U (1971a):** Striatal dopamine release after amphetamine or nerve degeneration revealed by rotational behaviour. *Acta Physiol Scand Suppl* **367**:49-68.
- Ungerstedt U (1971b):** Postsynaptic supersensitivity after 6-hydroxy-dopamine induced degeneration of the nigro-striatal dopamine system. *Acta Physiol Scand Suppl* **367**:69-93.
- Ungerstedt U and Arbuthnott GW (1970):** Quantitative recording of rotational behavior in rats after 6-hydroxy-dopamine lesions of the nigrostriatal dopamine system. *Brain Res* **24**:485-493.

- Varanelli CC and McCleave JD** (1974): Locomotor activity of Atlantic salmon parr (*Salmo salar* L.) in various light conditions and in weak magnetic fields. *Anim Behav* **22**:178-186.
- Veals JW, Korduba CA and Symchowicz S** (1977) Effect of dexamethasone on monoamine oxidase inhibition by iproniazid in rat brain. *Eur J Pharmacol* **41**:291-299.
- Vogel GH** (2002): *Drug discovery and evaluation-pharmacological assays*. Springer-Verlag, Berlin.
- Von Kugelgen I, Koch H and Starke K** (1997): P2-receptor-mediated inhibition of serotonin release in the rat brain cortex. *Neuropharmacology* **36**:1221-1227.
- Von Kugelgen I, Kurz K, Bultmann R, Driessen B and Starke K** (1994) Presynaptic modulation of the release of the co-transmitters noradrenaline and ATP. *Fundam Clin Pharmacol* **8**:207-213.
- Vorobyov VV, Sosunov EA, Kukushkin NI and Lednev VV** (1998): Weak combined magnetic field affects basic and morphine-induced rat's EEG. *Brain Res* **781**:182-187.
- Walcott C** (1978): Anomalies in the earth's magnetic field increase the scatter of pigeon's vanishing bearings. In: Schmidt-Koenig K and Keeton WT (Eds.), *Animal migration, navigation, and homing* (pp. 143-151). Springer-Verlag, Berlin.
- Walcott C and Green RP** (1974): Orientation of homing pigeons altered by a change in direction of an applied magnetic field. *Science* **184**:180-182.
- Walker MM** (1984): Learned magnetic field discrimination in yellowfish tuna, *Thunnus albacares*. *J Comp Physiol A* **155**:673-679.
- Walker MM and Bitterman ME** (1985): Conditional responding to magnetic fields by honeybees. *J Comp Physiol A* **157**:67-71.
- Walker MM and Bitterman ME** (1986): Attempts to train goldfish to respond to magnetic field stimuli. *Naturwissenschaften* **73**:12-16.
- Walker MM and Bitterman ME** (1989a): Attached magnets impair magnetic field discrimination by honeybees. *J Exp Biol* **141**:447-451.
- Walker MM and Bitterman ME** (1989b): Honeybees can be trained to respond to very small changes in geomagnetic field intensity. *J Exp Biol* **145**:489-494.
- Walker MM and Bitterman ME** (1989c): Conditioning analysis of magnetoreception in honeybees. *Bioelectromagnetics* **10**:261-275.
- Walker MM, Baird DL and Bitterman ME** (1989): Failure of stationary but not of flying honeybees (*Apis mellifera*) to respond to magnetic field stimuli. *J Comp Psychol* **103**:62-69.
- Walker MM, Diebel CE, Haugh CV, Pankhurst PM, Montgomery JC and Green CR** (1997): Structure and function of the vertebrate magnetic sense. *Nature* **390**:371-376.
- Walker MM, Kirschvink JL, Ahmed G and Diction AE** (1992): Evidence that fin whales respond to the geomagnetic field during migration. *J Exp Biol* **171**:67-78.
- Webster RA** (2001): *Neurotransmitters, drugs and brain function*. John Wiley & Sons, Ltd.
- Weder HG, Schildknecht J, Lutz RA and Kesselring P** (1974): Determination of binding parameters from Scatchard plots. Theoretical and practical considerations. *Eur J Biochem* **42**:475-481.
- Welker HA, Semm P, Willig RP, Commentz JC, Wiltchko W and Vollrath L** (1983): Effects of an artificial magnetic field on serotonin N-acetyltransferase activity and melatonin content of the rat pineal gland. *Exp Brain Res* **50**:426-432.
- Wesierska M, Walasek G, Kilijanek J, Djavadian RL and Turlejski K** (2003): Behavior of the gray short-tailed opossum (*Monodelphis domestica*) in the open field and in response to a new object, in comparison with the rat. *Behav Brain Res* **143**:31-40.

Wichmann T and DeLong MR (1996): Functional and pathophysiological models of the basal ganglia. *Curr Opin Neurobiol* **6**:751-758.

Wilson CJ and Groves PM (1980): Fine structure and synaptic connections of the common spiny neuron of the rat neostriatum: a study employing intracellular inject of horseradish peroxidase. *J Comp Neurol* **194**:599-615.

Wiltschko R and Wiltschko W (1995a): *Magnetic orientation in animals*. Springer-Verlag, Berlin.

Wiltschko W and Wiltschko R (1995b): Migratory orientation of European robins is affected by the wavelength of light as well as by a magnetic pulse. *J Comp Physiol A* **177**:363-369.

Wiltschko W and Wiltschko R (2001): Light-dependent magnetoreception in birds: the behaviour of European robins, *Erithacus rubecula*, under monochromatic light of various wavelengths and intensities. *J Exp Biol* **204**:3295-3302.

Wiltschko W, Munro U, Beason RC, Ford H and Wiltschko R (1994): A magnetic pulse leads to a temporary deflection in the orientation of migratory birds. *Experientia* **50**:697-700.

Wiltschko W, Munro U, Ford H and Wiltschko R (2003): Lateralisation of magnetic compass orientation in silveryeyes, *Zosterops lateralis*. *Austr J Zool* **51**:1-6.

Wiltschko W, Traudt J, Güntürkün O, Prior H and Wiltschko R (2002): Lateralization of magnetic compass orientation in a migratory bird. *Nature* **419**:467-470.

Yorke ED (1981): Sensitivity of pigeons to small magnetic field variations. *J Theor Biol* **89**:533-537.

Zhang L, Zhou L, Vega-Gonzalez A, Mendoza D and Drucker-Colin R (1997): Extremely low frequency magnetic fields promote neurite varicosity formation and cell excitability in cultured rat chromaffin cells. *Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol* **118**:295-299.

Zifa E, Hernández J, Fayolle C and Fillion G (1988): Postnatal development of 5-HT₁ receptors: [³H]5-HT binding sites and 5-HT induced adenylate cyclase activations in rat brain cortex. *Brain Res Dev Brain Res* **4**:133-140.

Zivin JA and Waud DR (1982): How to analyze binding, enzyme and uptake data: the simplest case, a single phase. *Life Sci* **30**:1407-1422.

Zoeger J, Dunn JR and Fuller M (1981): Magnetic material in the head of the common Pacific dolphin. *Science* **213**:892-894.

