

Физика биологии и медицины

Правильная ссылка на статью:

Пашовкин Т.Н., Садикова Д.Г. Действие непрерывного и модулированного ультразвука на нейроны рыб // Физика биологии и медицины. 2024. № 1. С. 41-54. DOI: 10.7256/2730-0560.2024.1.71004 EDN: QYEYTI URL: [https://nbpublish.com/library\\_read\\_article.php?id=71004](https://nbpublish.com/library_read_article.php?id=71004)

## Действие непрерывного и модулированного ультразвука на нейроны рыб

Пашовкин Тимофей Николаевич

ORCID: 0000-0001-9697-9230

доктор биологических наук

ведущий научный сотрудник; Институт биофизики клетки Российской академии наук - обособленное подразделение ФИЦ ПНЦБИ РАН

142290, Россия, Московская область, г. Пущино, пр-т Науки, 29, кв. 48

✉ [pashovkin@mail.ru](mailto:pashovkin@mail.ru)



Садикова Диана Габдельфартовна

кандидат физико-математических наук

Научный сотрудник; Институт биофизики клетки РАН - обособленное предприятие ФИЦ ПНЦБИ РАН

142290, Россия, г. Пущино, Студенческий пер., 16, кв. 54

✉ [sdg7@list.ru](mailto:sdg7@list.ru)



[Статья из рубрики "Биофизика"](#)

### DOI:

10.7256/2730-0560.2024.1.71004

### EDN:

QYEYTI

### Дата направления статьи в редакцию:

11-06-2024

**Аннотация:** В настоящее время интенсивно развивается транскраниальная ультразвуковая стимуляция (ТУС) как новый неинвазивный метод нейромодуляции. Удобной моделью демонстрации ультразвуковой нейромодуляции является нервная система рыб, имеющая парные идентифицированные Маутнеровские нейроны, отвечающие за поворотную реакцию рыб. Предметом статьи является сравнение эффектов, вызванных действием непрерывного и модулированного ультразвука на

нейроны золотых рыбок. В качестве регистрируемых параметров использованы общая двигательная реакция и поворотная реакция рыб, так как эти реакции отражают функциональное состояние нейронов и его изменение под действием ультразвука с различными энергетическими параметрами при воздействии непрерывного ультразвука, и изменение их функционального состояния при равноэнергетическом воздействии модулированного ультразвука, зависящего от частоты модуляции. Целью работы является исследование действия непрерывного и импульсно модулированного ультразвука на морфофункциональное состояние нейронов головного мозга и идентифицированных центральных нейронов позвоночных – маутнеровских нейронов золотых рыбок. Эксперименты были проведены на золотых рыбках (Goldfish) с регистрацией общей двигательной и поворотной реакций рыб в специальной камере, дно которой было разделено на сектора. Ультразвуковое воздействие проводилось с использованием терапевтического генератора УЗТ 1.01Ф, работающего на частоте 0.88 МГц и фокусирующего излучателя. При действии непрерывных ультразвуковых волн терапевтического диапазона интенсивностей ( $f = 0.88$  МГц) на ткани мозга рыб наблюдается подавление общей двигательной активности и поворотных реакций при увеличении интенсивности ультразвука (более  $0.7$  Вт/см<sup>2</sup>) и их активация при интенсивностях менее  $0.1$  Вт/см<sup>2</sup>. Используя амплитудную модуляцию низкой частоты, были получены спектры действия, отражающие как работу целого мозга, так и работу идентифицированного Маутнеровского нейрона, ответственного за поворотную реакцию рыб. Спектр действия для Маутнеровского нейрона более выражен и содержит три вида частот: активирующие (8 Гц), частично подавляющие активность рыб (6, 10 Гц) и нейтральные (3, 7, 9 Гц). Из спектра действия видно, что на одних частотах модуляции эффекты несущей частоты ослабляются, а на других усиливаются. Такой подход может найти применение в ультразвуковой терапии, когда необходимо увеличить эффективность ультразвукового воздействия при уменьшении потенциального риска воздействия.

**Ключевые слова:**

ультразвук, модуляция, спектр действия, Маутнеровский нейрон, нейромодуляция, частота модуляции, двигательная активность, поворотная реакция, активация, подавление

**Введение.**

Любые воздействия, приводящие к изменению электрической активности нейронов, занимают центральное место в фундаментальных исследованиях и важны для клинического лечения неврологических расстройств. У модельных животных и людей визуализация изменений активности как отдельных нейронов, так и нейронной активности в масштабе целого мозга является основным способом развития нейробиологических технологий. Имеющиеся электрические и оптические методы, как правило, не работают в этом масштабе из-за присущих им физических ограничений. Альтернативой этих методов является применение ультразвука, который взаимодействует с тканями мозга с фундаментальным разрешением порядка 100 мкм и временным разрешением - 1 мс. В настоящее время интенсивно развивается транскраниальная ультразвуковая стимуляция (ТУС) как новый, неинвазивный метод нейромодуляции<sup>[31]</sup>. ТУС имеет более высокое пространственное разрешение, чем транскраниальная магнитная стимуляция (ТМС)<sup>[1]</sup> или стимуляция постоянным электрическим током<sup>[2]</sup>,

которые используются на практике в настоящее время.

Почти сто лет назад впервые было признано, что ультразвук модулирует электрическую активность клеток. С тех пор в литературе широко освещалась ультразвуковая нейромодуляция в головном мозге, в периферической нервной системе людей и модельных организмов [3–10]. Не смотря на длительный срок исследований. фундаментальные клеточные, молекулярные и механические основы ультразвуковой нейромодуляции до сих пор остаются в значительной степени неизвестными [3–11]. Отмечено, что ультразвук создает возбуждающие [12,13] и/или тормозящие эффекты [14,15] в зависимости от исследуемой системы и параметров стимула [3, 13, 14]. Так, стимуляция моторной коры головного мозга у животных может индуцировать электромиографические (ЭМГ) сигналы в соответствующих мышцах передней конечности, задней конечности или хвоста, что указывает на возможность ТУС индуцировать потенциалы действия [15,16]. Ингибирующие эффекты ТУС проявляются в долгосрочном ослаблении синаптической передачи [17]. Считается, что эти противоположные действия на активность нейронов обусловлены различиями в месте стимуляции, интенсивности, частоте ультразвука и других параметрах [18, 28].

Ультразвук может оказывать комбинированное тепловое и механическое воздействие на нейроны [19, 20]. Тепловые и кавитационные эффекты ультразвука, хотя эффективно используются для разрушения ткани или для временного открытия гематоэнцефалического барьера [21], требуют использования большей мощности, частоты и / или продолжительности воздействия, чем обычно используемые для нейромодуляции [3]. За счет сжатия и расширения в ультразвуковой волне в клеточных мембранах могут возникать неселективные токи, изменяющие электрическую активность клеток [3,11]. За счет создания сдвиговых напряжений в клеточной мембране, увеличивающих натяжение мембраны и появления геометрической деформации липидного бислоя, ультразвук может активировать механочувствительные ионные каналы [3, 13, 20-26].

Ультразвук может оказывать как тепловое, так и механическое воздействие на область исследований в тканях мозга. Однако, повышение температуры будет незначительным при низких интенсивностях ультразвука [27], а силы акустического излучения оказывают механическое воздействие, не вызывая кавитации [13]. С позиции биофизики механочувствительные каналы реагируют на механическое воздействие ультразвука [28]. Например, изменения проводимости каналов могут быть связаны с изменениями формы каналов. Ультразвук может это сделать за счет появления сдвиговых напряжений в мембранах, либо за счет изменения натяжения мембраны при изменении давления в ультразвуковой волне. Эти изменения расширяют канал и делают его более цилиндрическим в плоскости мембраны при открытии [28]. Они энергетически благоприятны при наличии натяжения мембраны, и это приводит к зависящей от натяжения разнице энергий между состояниями, которая способствует открытию канала [29,30].

В лабораторных условиях использование модулированных ультразвуковых волн может позволить выделить нейронные структуры, дающие частотно-зависимый ответ на внешнее периодическое воздействие, выделить частоты, при которых изменения функциональной

активности будут максимальными.

Также, в нейробиологических исследованиях важным является выбор объекта. В этом отношении удобным объектом служат Маутнеровские нейроны (МН) костистых рыб и амфибий. Они имеют значительное количество афферентных входов и контролируют плавательную активность рыб, управляя движением хвостового плавника, инициируя унилатеральный удар хвостового плавника, главного движителя рыб. Это позволяет судить о функциональных изменениях в нейронах по поведению животного и направленно влиять на него различными экспериментальными воздействиями. МН представляют собой две гигантские клетки в продолговатом мозге большинства костистых рыб и личинок амфибий. Они иннервируются из вестибулярного аппарата через VIII нерв (Рис.1). В свою очередь МН контралатерально иннервирует спинальные мотонейроны, которые управляют мускулатурой туловища. Эта точка зрения была подтверждена многочисленными экспериментальными данными [\[31-36\]](#).

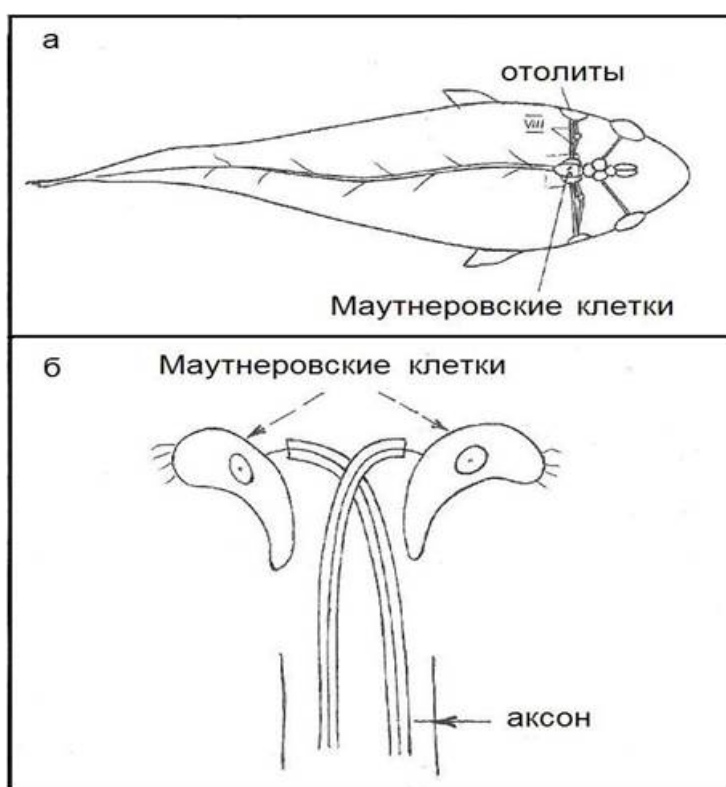


Рис. 1. Схема расположения Маутнеровских нейронов у рыб.

Одним из аспектов применения ультразвука является индуцирование быстрых функциональных изменений при условии минимального проявления неспецифических реакций нервной ткани. Наличие характерных частот в электрической активности нейронов позволяет предположить, что воздействие импульсно-модулированным ультразвуком с соответствующими частотами следования импульсов может вызвать частотно зависимые изменения в функциональном состоянии этой ткани.

При применении ультразвука, как правило, в области воздействия находится значительное количество различных нервных окончаний. В случае изменения их функционирования при воздействии можно предположить, что в различной степени могут изменяться и различные биохимические процессы в органах и тканях, иннервируемых этими окончаниями и, следовательно, их функциональное состояние. Наиболее явно это может проявиться при воздействии на идентифицированные, специализированные нейроны, отвечающие за определенные функциональные состояния органа, ткани,

организма в целом.

Целью работы является исследование действия непрерывного и импульсно модулированного ультразвука на морфофункциональное состояние нейронов головного мозга и идентифицированных центральных нейронов позвоночных – маутнеровских нейронов золотых рыбок. Приоритетная цель работы – получение спектров действия для нейронов. Но для их получения необходимо знать, как воздействует на нейроны непрерывный ультразвук, так как он используется как фактор с несущей частотой, на которую накладываются частоты модуляции. Поэтому конечный эффект это суммарный эффект непрерывного ультразвука и модуляционных частот.

### **Материалы и методы.**

Оценку активности нейронов мозга и функционально активности МН проводили по поведению рыбок в кольцевой камере <sup>[31]</sup>, подсчитывая в течение 10 мин число секторов и поворотов, инициируемых активацией МН. Кольцевая камера состояла из кругового канала шириной 20 мм и высотой уровня воды 30 мм. Дно камеры было разделено на 8 секторов. В данной камере рыбка передвигается по кругу, периодически меняя направление движения, делая повороты. Таким образом, измеряли количественно скорость ее движения, и частоту поворотов. Передвижение рыбки по кольцу и повороты рыбок являются стандартной двигательной реакцией рыб. Тест двигательной активности состоял в том, что рыбка помещалась в камеру, и измеряли число пройденных секторов и частоту совершенных поворотов или смен направлений движения. Тестирование во всех экспериментах проводили в течение 10 минут в одно и то же время, так как двигательная активность рыб зависит от времени суток, в которое проводится тестирование.

Облучение МН золотых рыбок проводилось на отдельной установке, блок-схему которой приведена на рис. 3, используя фокусирующий ультразвуковой излучатель, подключенный к терапевтическому генератору УЗТ-1.01Ф с несущей частотой 0.88 МГц средней по пространству и времени интенсивностью в диапазоне 0.1 – 1 Вт/см<sup>2</sup>. Зона облучения головы рыбы находилась в центральной части фокальной области, длиной 1 см и радиусом фокального пятна 2.5 мм. Интенсивность ультразвука оценивали с помощью дифференциальной термодпары, калиброванной по интенсивности ультразвука. Пространственное распределение интенсивностей в фокальной области определяли методом краска/бумага, представляемого в виде 2-х и 3-х мерного изображения (рис.2). Общее время облучения изменяли в диапазоне от 15 сек до 20 мин. В качестве модулятора был использован генератор Г6-28. Рыба была зафиксирована в специальной термостатируемой камере на расстоянии 7 см от поверхности излучателя. (Рис. 3)

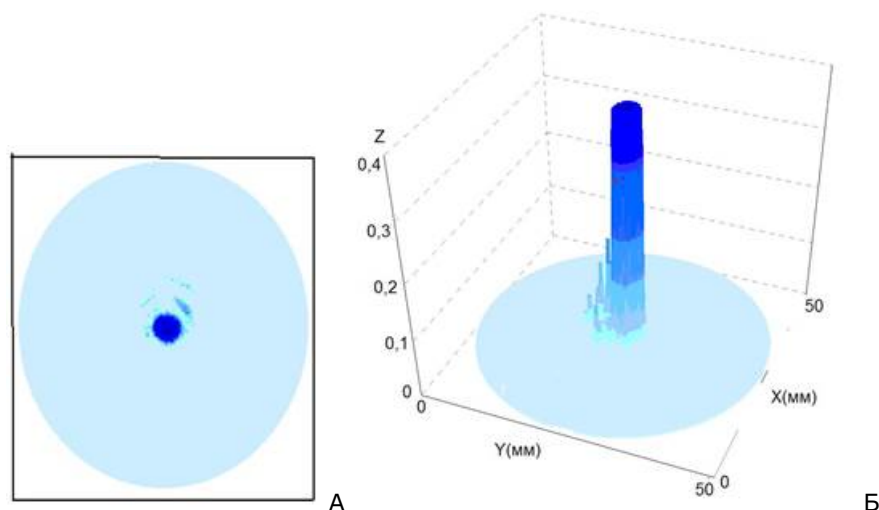


Рис.2. Визуализация распределений интенсивностей ультразвука в фокальной области излучателя. А - двумерное изображение, Б - трехмерное изображение, где Z шкала интенсивностей ультразвука, Вт/см<sup>2</sup>.

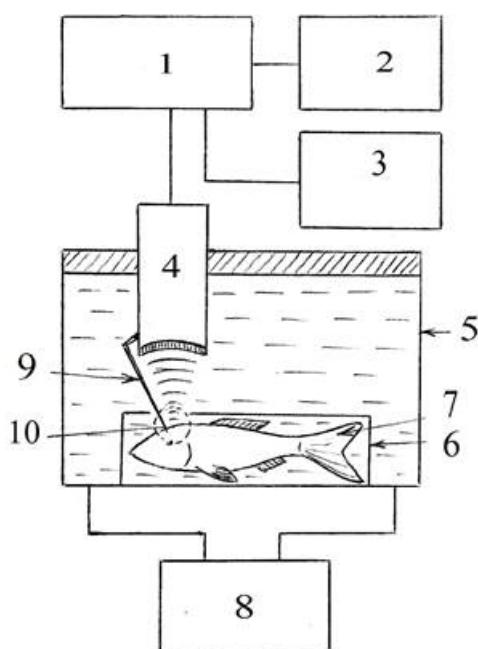


Рис. 3. Блок-схема установки для воздействия ультразвуком на нейроны рыб.

1. Генератор ультразвука, 2 – осциллограф, 3 - реле времени, 4 – излучатель, 5 - внешняя камера, 6 - внутренняя камера, 7 - объект (рыба), 8 – термостат, 9 - индикатор фокуса, 10 - область облучения.

Озвучивание проводили при температуре 18 °С. Температура в камере измерялась перед облучением и непосредственно после него. Эффективность термостатирования была не хуже  $18 \pm 0.3$  °С.

Морфологические изменения в МН были исследованы с помощью электронного микроскопа JEM-100B после стандартной процедуры фиксации ультратонких срезов нервной ткани [\[32\]](#).

### Результаты исследований и обсуждение.

На рис. 4 показаны изменения двигательной активности рыб под действием непрерывного ультразвука интенсивностью  $0.1 \text{ Вт/см}^2$ . На рисунке видно стимулирующее действие ультразвука низких интенсивностей.

На рис. 5 показано угнетение двигательной активности рыб под действием ультразвука интенсивностью  $1.0 \text{ Вт/см}^2$ . Это угнетение обратимо, и исчезает: через 10 минут после озвучивания в течение 30 сек, и через 30-40 минут после озвучивания в течение 5 минут. Угнетение активности становится необратимым после 20 минут озвучивания, с летальным исходом.

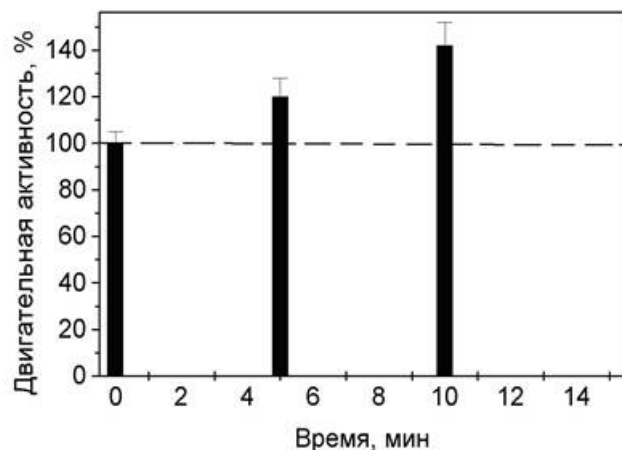
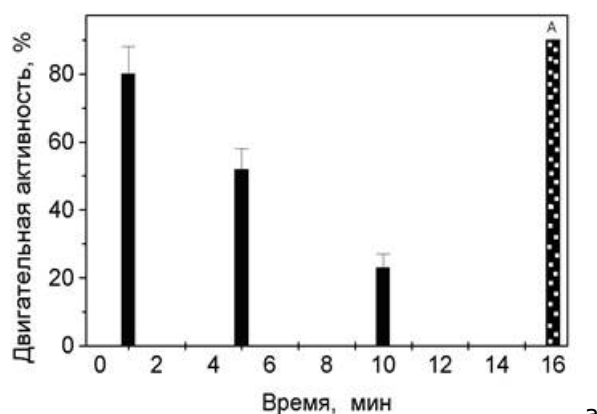


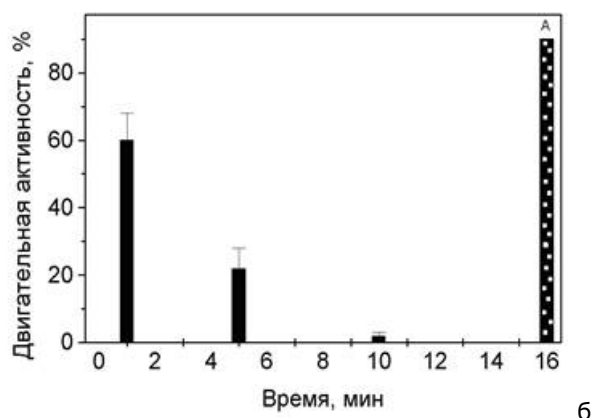
Рис.4. Стимуляция поворотной реакции рыб (реакция Маутнеровского нейрона) в зависимости от времени воздействия ультразвуком малых интенсивностей:  $I_{\text{SATA}} = 0,1 \text{ Вт/см}^2$ ,  $f = 0.88 \text{ МГц}$ ,  $t = 18^\circ\text{C}$ , 100 % - контрольный уровень.

После подавления ультразвуком с интенсивностью  $1 \text{ Вт/см}^2$  и временем воздействия 5 минут, наблюдается быстрое восстановление функциональной активности рыб при следующим за ним ультразвуковым воздействием с интенсивностью  $0.1 \text{ Вт/см}^2$ , проводимым в течение 5 минут.

На рис 6 показано изменение двигательной активности рыб относительно величины эффекта непрерывного ультразвука, под действием амплитудно-модулированного ультразвука в диапазоне частот модуляции 2 – 14 Гц, скважностью 2, глубиной модуляции 100 %, времени облучения – 5 мин.



а



б

Рис. 5. Зависимость плавательной активности рыб от времени воздействия непрерывным ультразвуком: а) угнетение плавательной активности, б) угнетение поворотной реакции, А) область высокой смертности рыб (более 90 %).  $I_{\text{SATA}} = 1 \text{ Вт/см}^2$ ,  $f = 0.88 \text{ МГц}$ ,  $t = 18^\circ\text{C}$

Видно (см. рис. 6а,б), что максимальное угнетение двигательной активности наблюдается при частотах модуляции 6 и 10 Гц, и максимальная активация - при частоте модуляции - 8 Гц. Причем, в более значительной степени изменяется поворотная реакция рыб, в то время как общая двигательная реакция изменяется таким же образом, но с меньшей амплитудой. Отсюда следует, что идентифицированный МН в более значительной степени подвержен действию амплитудно-модулированного ультразвука, чем совокупность остальных нейронных структур. Функциональные ответы на воздействие ультразвука с указанными частотами модуляции являются характерными как для отдельных специфических нейронов, так и для системы нейронов в целом. Спектры действия приведены с учетом эффектов несущей частоты (эти эффекты вычтены из спектра). Причем, активационные эффекты, вызванные частотой модуляции 8 Гц, отменялись частотой 10 Гц, при равноэнергетическом воздействии. На этом примере можно видеть возможность стабилизации функционального состояния Маутнеровского нейрона рыб за счет использования только лишь модуляционных режимов ультразвукового воздействия.

Ультраструктурный анализ электронно-микроскопических изображений показал, что по сравнению с нормой (рис.7) озвучивание МН ультразвуком интенсивностью  $1 \text{ Вт/см}^2$  в течение времени от 10 до 20 минут приводит к деструктивным изменениям в ультраструктуре МН, выражающимся в расслоении миелиновой оболочки и разрывах в аксолеммме. Это сопровождается также полным запустеванием аксосоматических синапсов и общим уменьшением синаптических везикул. Эти морфологические изменения коррелируют с поведением золотых рыбок в кольцевой камере, связанным с уменьшением функциональной активности МН после воздействия ультразвуком, интенсивностью  $1 \text{ Вт/см}^2$ . Ультразвук не вызывает видимых изменений в миелиновой оболочке или аксолемах пресинаптических волокон при воздействии в течение 5 минут (интенсивность ультразвука - средняя по пространству и времени -  $I_{\text{SATA}}$ ), однако вызывает изменение в цитоплазме МН. Эти изменения заключаются в образовании кристаллоподобных структур внутри ядра (рис.8). Подобные изменения наблюдаются и при воздействии импульсно-модулированного ультразвука с частотами модуляции 6 и 10 Гц. Кристаллоподобные структуры образуются за счет перегруппировки нейрофиламентов, имеющих в цитоплазме.



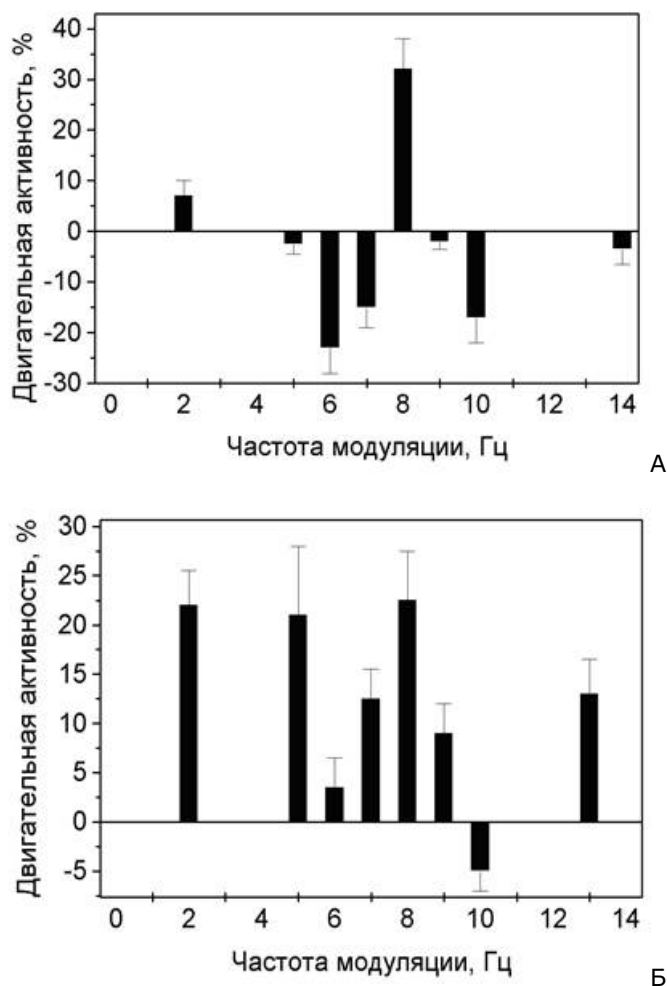


Рис. 6. Зависимость изменения двигательной активности золотых рыбок под действием модулированного ультразвука от частоты модуляции: А) поворотной реакции, Б) общей двигательной активности.  $I_{\text{САТА}} = 0.35 \text{ Вт/см}^2$  ( $1/2$  интенсивности непрерывного ультразвука =  $0.7 \text{ Вт/см}^2$  – скважность = 2),  $f = 0.88 \text{ МГц}$ ,  $t = 5 \text{ мин}$ .

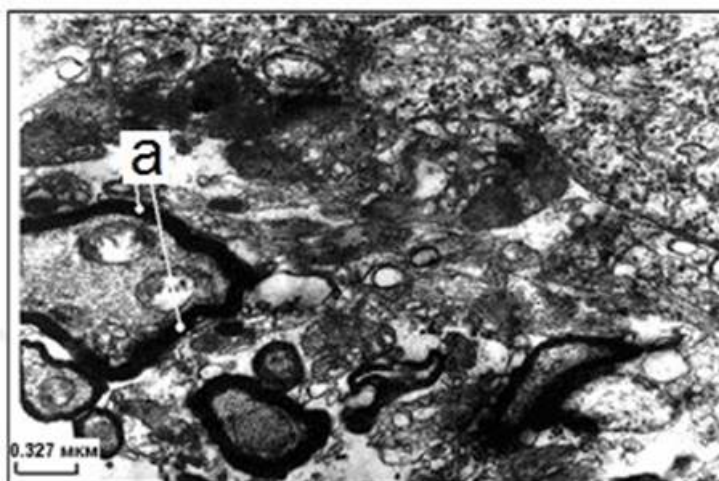


Рис. 7. Структура тканей мозга золотых рыбок до ультразвукового воздействия. а) миелиновая оболочка.

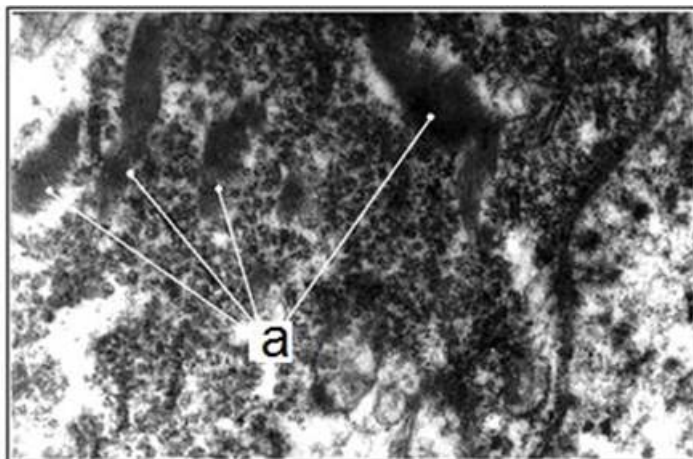


Рис. 8. Образование нейрофиламентарных пучков в тканях мозга золотых рыбок после ультразвукового воздействия: а) нейрофиламентарные пучки.  $I_{\text{SATA}} = 1 \text{ Вт/см}^2$ ,  $f = 0.88 \text{ МГц}$ ,  $t = 5 \text{ мин}$ .

Существенным фактом для терапии является то, что озвучивание рыб ультразвуком низкой терапевтической интенсивности  $0.1 \text{ Вт/см}^2$  приводит к восстановлению структурной организации нейронов и рассасыванию нейрофиламентарных пучков.

Эффекты непрерывного ультразвука зависят преимущественно от механизмов биологического действия (механических, тепловых, кавитационных). При увеличении интенсивности воздействия преимущественно работает один из этих механизмов. Как правило, с увеличением интенсивности наблюдается подавление функционального состояния нейронов, коррелирующее с морфологическими изменениями в структурах нейронов.

Одной из мишеней модулированного ультразвукового воздействия могут быть механочувствительные ионные каналы различного типа. Так, их активация может быть за счет увеличения натяжения клеточной мембраны или геометрической деформации липидного бислоя. К таким каналам могут относиться механочувствительные ионные каналы (K2Ps), Piezo1, MEC-4, TRPA1, Msc, и управляемые напряжением  $\text{Na}^+$  и  $\text{Ca}^{2+}$  каналы. На сегодняшний день точно неизвестно, как ультразвук влияет на активность этих каналов.

Эффекты модулированного ультразвука на нейронах могут существенно отличаться от эффектов непрерывного ультразвука. Наличие активных частот приводит к трансформации биологических эффектов. На частотах активации или подавления функциональной активности можно получить эффекты, превышающие по амплитуде эффекты непрерывного ультразвука, с возможностью изменения знака эффекта при изменении интенсивности. Из приведенных в статье данных видно, что при воздействии модулированного ультразвука с равными энергетическими параметрами можно получать частотно-зависимые эффекты стимуляции и подавления активности нейронов при существенно меньших энергиях в ультразвуковом пучке, чем при воздействии непрерывного ультразвука. Таким образом, можно существенно снизить интенсивность ультразвукового воздействия в физиотерапии с сохранением величины биологических эффектов при использовании модулированных ультразвуковых полей. Показана возможность управления модулированным ультразвуком функциональным состоянием нейронов, используя для коррекции различные части спектров действия, полученных как для отдельных нейронов, так и для сложных структур нейронов рыб.

#### Выводы.

1. Для нейронов рыб показаны временные диапазоны формирования эффектов стимуляции при интенсивности ультразвука меньше  $0.1 \text{ Вт/см}^2$  и эффектов угнетения двигательной активности рыбок при интенсивности  $1 \text{ Вт/см}^2$ .
2. Показано возможность восстановления функциональной активности рыбок с помощью стимуляции ультразвуком интенсивностью  $0.1 \text{ Вт/см}^2$  сразу после угнетающего воздействия ультразвуком интенсивностью  $0.7 - 1.0 \text{ Вт/см}^2$ .
3. Впервые показаны акустические спектры действия в диапазоне частот модуляции 2-14 Гц для нейронов головного мозга рыб, включая идентифицированные Маутнеровские нейроны.
4. Показана возможность снижения риска ультразвукового негативного воздействия с сохранением величины биологического эффекта при использовании модулированного ультразвука.
5. Впервые показана возможность управления знаком биологического эффекта на нейронах рыб с использованием равноэнергетического воздействия модулированным ультразвуком.

#### Библиография

1. Де Денг З., Лисанби С.Х. и Петерчев А.В. Компромисс между глубиной и фокусностью электрического поля при транскраниальной магнитной стимуляции: сравнение моделирования 50 конструкций катушек // *Brain Stimul.* 2013. № 6. С. 1–13. doi: 10.1016/j.brs.2012.02.005.
2. Рейнхарт Р.М.Г., Вудман Г.Ф. и Познер М.И. Улучшение долговременной памяти с помощью стимуляции настраивает зрительное внимание в одном испытании // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2015. № 112. С. 625–630. doi: 10.1073/pnas.1417259112.
3. Блэкмор Дж., Шривастава С., Саллет Дж., Батлер Ч.Р., Кливленд Р.О. Ультразвуковая нейромодуляция: обзор результатов, механизмов и безопасности // *Ultrasound Med. Biol.* 2019. № 45. С. 1509–1536.
4. Харви Э.Н. Влияние звуковых волн высокой частоты на сердечную мышцу и другие раздражимые ткани // *Am. J. Physiol.* 2019. № 91. С. 284–290.
5. Фрай Ф.Дж., Адес Х.В., Фрай У.Дж. Выработка обратимых изменений центральной нервной системы с помощью ультразвука // *Science.* 1958. № 127. С. 83–84.
6. Даунс М.Е. и др. Неинвазивная стимуляция периферических нервов с помощью фокусированного ультразвука *in vivo* // *Phys. Med. Biol.* 2018. № 63. 035011–11.
7. Муньос Ф., Ауруп К., Конофагу Э.Э., Феррера В.П. Модуляция функции и поведения мозга с помощью фокусированного ультразвука // *Curr. Behav. Neurosci. Rep.* 2018. № 5. С. 153–164.
8. Камимура Х.А.С. и др. Фокусированная ультразвуковая нейромодуляция корковых и подкорковых структур головного мозга с использованием частоты 1,9 МГц // *Med. Phys.* 2016. № 43. С. 5730–5735.
9. Туфаил Ю. и др. Транскраниальный импульсный ультразвук стимулирует неповрежденные цепи мозга // *Neuron.* 2010. № 66. С. 681–694.
10. Фини М., Тайлер У.Дж. Транскраниальный фокусированный ультразвук: новый инструмент неинвазивной нейромодуляции // *Int. Rev. Psychiatry.* 2017. № 29. С. 168–177.
11. Наор О., Крупа С., Шохам С. Ультразвуковая нейромодуляция // *J. Neural Eng.* 2016.

№ 13. 031003.

12. Ли В., Ким Х.К., Юнг Ю., Чанг Ю.А., Сонг И.Ю., Ли Дж.Х. и др. Транскраниальная фокусированная ультразвуковая стимуляция первичной зрительной коры человека // *Sci. Rep.* 2016. № 6. С. 1–12. doi: 10.1038/srep34026.
13. Ю С., Миттельштейн Д. Р., Хёрт Р. К., Лакруа Дж. и Шапиро М. Г. Сфокусированный ультразвук возбуждает кортикальные нейроны посредством механочувствительного накопления кальция и усиления ионных каналов // *Nat. Commun.* 2022. № 13. С. 493. DOI: 10.1038/s41467-022-28040-1.
14. Даллапицца Р.Ф., Тимби К.Ф., Холмберг С., Гейтсман Дж., Лопес М.Б., Прайс Р.Дж. и др. Неинвазивная нейромодуляция и картирование таламуса с помощью низкоинтенсивного сфокусированного ультразвука // *J. Neurosurg.* 2018. № 128. С. 875–884. DOI: 10.3171/2016.11.JNS16976.
15. О С.Дж., Ли Дж.М., Ким Х.Б., Хан С., Бэ Дж.Ю., Хонг Г.С. и др. Ультразвуковая нейромодуляция через астроцитарный TRPA1 // *Curr. Biol.* 2019. № 29. С. 3386–3401. DOI: 10.1016/j.cub.2019.08.021.
16. Дуке М., Ли-Кубли К.А., Туфаил Ю., Магарам У., Патель Дж., Чакраборти А. и др. Соногенетический контроль клеток млекопитающих с использованием каналов A1 экзогенного транзитного рецепторного потенциала // *Nat. Commun.* 2022. № 13. С. 600. DOI: 10.1038/s41467-022-28205-y.
17. Нью Х., Ю К. и Хе Б. Транскраниальный сфокусированный ультразвук вызывает устойчивую синаптическую пластичность в гиппокампе крыс // *Brain Stimul.* 2022. № 15. С. 352–359. DOI: 10.1016/j.brs.2022.01.015.
18. Делл'Италия Дж., Сангинетти Дж. Л., Монти М. М., Быстрицкий А., и Редженте Н. Текущее состояние потенциальных механизмов, поддерживающих сфокусированный ультразвук низкой интенсивности для нейромодуляции // *Front. Hum. Neurosci.* 2022. № 16. С. 1–23. DOI: 10.3389/fnhum.2022.872639.
19. Далецки Д. Механические биоэффекты ультразвука // *Annu. Rev. Biomed. Eng.* 2004. № 6. С. 229–248.
20. О'Брайен-младший В.Д. Ультразвуко-биофизические механизмы // *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 2007. № 93. С. 212–255.
21. Чой Дж. Дж., Перно М., Смолл С. А., Конофагу Э. Э. Неинвазивное, транскраниальное и локализованное вскрытие гематоэнцефалического барьера с помощью фокусированного ультразвука у мышей // *Ultrasound Med. Biol.* 2007. № 33. С. 95–104.
22. Туфаил Ю., Ёсихиро А., Пати С., Ли М.М., Тайлер У.Дж. Ультразвуковая нейромодуляция путем стимуляции мозга транскраниальным ультразвуком // *Nat. Protoc.* 2011. № 6. С. 1453–1470.
23. Кубанек Дж., Шукла П., Дас А., Баккус С.А., Гудман М.Б. Ультразвук вызывает поведенческие реакции посредством механического воздействия на нейроны и ионные каналы в простой нервной системе // *J. Neurosci.* 2018. № 38. С. 3081–3091.
24. Кубанек Дж. и др. Ультразвук модулирует токи ионных каналов // *Sci. Rep.* 2016. № 6. С. 24170.
25. Прието М.Л., Фирузи К., Хури-Якуб Б.Т., Мадуке М. Активация каналов Piezo1, но не Nav1.2 ультразвуком на частоте 43 МГц // *Ultrasound Med. Biol.* 2018. № 44. С. 1217–1232.
26. О С.-Дж. и др. Ультразвуковая нейромодуляция через астроцитарный TRPA1 // *Curr. Biol.* 2019. № 29. С. 3386–3401. d8.
27. Тайлер У.Дж. и др. Дистанционное возбуждение нейронных цепей с помощью низкоинтенсивного низкочастотного ультразвука // *PLoS One.* 2008. № 3. e3511–e11.
28. Блэкмор Д.Г., Разански Д. и Гетц Дж. Ультразвук как универсальный инструмент для

- краткосрочного и долгосрочного улучшения и мониторинга функций мозга // PLoS On. 2023. № 3. С.1174–1190. DOI: 10.1016/j.neuron.2023.02.018.
29. Йе Дж. и др. Ультразвуковой контроль активности нейронов посредством активации механочувствительного канала MscL // Nano Lett. 2018. № 18. С. 4148–4155.
30. Брохон С.Г., Кэмпбелл Э.Б., Маккиннон Р. Физический механизм открытия и механочувствительности человеческого канала TRAAK K+ // Nature. 2014. № 516. С. 126–130.
31. Мошков Д.А., Подольский И.Я., Кашапова Л.А., Тирас Н.Р., Масюк Л.Н., Музафарова Л.Н., Болотнова Г.П. Количественная характеристика двигательной активности золотых рыбок как возможный индикатор состояния маутнеровских нейронов // Ж. эволюц. биох. и физиол. 1982. № 18(2). С. 155-160.
32. Тирас Н.Р., Мошков Д.А. Электронно-микроскопическое исследование нарушения тормозной передачи в афферентных связях маутнеровских нейронов // Цитология, 1985. № 27(1). С. 40-45.
33. Итон Р.К., Лаванда В.А., Виланд К.М. Альтернативные нервные пути инициируют реакции быстрого старта после поражения маутнеровского нейрона у золотых рыбок // J. Comp. Physiol. 1982. № 145 (4). С. 485–496. DOI: 10.1007/BF00612814. S2CID 8529312.
34. Корн Х., Фабер Д.С. Клетка Маутнера полвека спустя: нейробиологическая модель принятия решений? // Neuron. 2005. № 47 (1). С. 13-28. doi:10.1016/j.neuron.2005.05.019.
35. Итон Р.К., Бомбардьери Р.А., Мейер Д.Л. Реакция испуга у костистых рыб, инициированная Маутнером // The Journal of Experimental Biology. 1977. № 66(1). С. 65–81. DOI: 10.1242/jeb.66.1.65.
36. Зоттоли С.Дж., Фабер Д.С. Клетка Маутнера: чему она нас научила? // Neuroscientist. 2000. № 6. С. 26–38. DOI: 10.1177/107385840000600111

## Результаты процедуры рецензирования статьи

*В связи с политикой двойного слепого рецензирования личность рецензента не раскрывается.*

*Со списком рецензентов издательства можно ознакомиться [здесь](#).*

Статья «Действие непрерывного и модулированного ультразвука на нейроны рыб», направленная в журнал «Физика биологии и медицины» посвящена исследованию действия непрерывного и импульсно модулированного ультразвука на морфофункциональное состояние нейронов головного мозга и идентифицированных центральных нейронов позвоночных – маутнеровских нейронов – на модели золотых рыбок. Главной целью исследований, проводимых в рамках обсуждаемой работы, является получение спектров действия ультразвука для нейронов. И на основании представленных в работе результатов, можно говорить, что данная цель для используемой экспериментальной модели была достигнута.

Оценку активности нейронов авторы работы проводили в кольцевой камере на основании анализа поведения рыбок – подсчёта в течение 10 минут числа секторов и поворотов, инициируемых активацией маутнеровских нейронов (МН). Воздействие ультразвуком на МН золотых рыбок проводилось на отдельной установке, блок-схема которой приведена авторами на соответствующем рисунке. Алгоритм проведения воздействия ультразвуком подробно описан в тесте работы. Это даёт читателю полную возможность понять принцип проведённого эксперимента и, при желании, повторить его в собственной лаборатории, в т.ч. – с использованием другой экспериментальной модельной системы.

Также в обсуждаемой работе были исследованы морфологические изменения в МН с

использованием электронного микроскопа JEM-100B после стандартной процедуры фиксации ультратонких срезов нервной ткани. Таким образом, можно с уверенностью говорить, что в обсуждаемой работе было проведено комплексное исследование влияния ультразвука на МН с использованием как морфологических, так и поведенческих тестов.

Исследование, описанное в обсуждаемой статье, обладает высокой степенью научной новизны и актуальностью. Его актуальность обусловлена тем, что применение ультразвука как неинвазивного метода нейромодуляции, имеющего более высокое пространственное разрешение, чем транскраниальная магнитная стимуляция или стимуляция постоянным электрическим током, применяемые на практике в настоящее время, сможет найти применение на практике для клинического лечения неврологических расстройств. Авторы работы показали, что при воздействии модулированного ультразвука с равными энергетическими параметрами можно получать частотно-зависимые эффекты стимуляции и подавления активности нейронов при существенно меньших энергиях в ультразвуковом пучке, чем при воздействии непрерывного ультразвука. А это позволяет снизить интенсивность воздействия в физиотерапии с сохранением величины биологических эффектов. В обсуждаемой статье была продемонстрирована возможность управления с модулированным ультразвуком функциональным состоянием нейронов.

Обсуждаемая статья написана в хорошем научном стиле и понятна читателю, в т.ч. не являющемуся хорошим специалистом в области воздействия на организм неионизирующих излучений. Благодаря этому результаты обсуждаемого исследования смогут довольно быстро найти своё применение в областях, уже непосредственно связанных с клинической медициной.

Статья имеет классическую структуру: введение, описание методологии, результатов и их обсуждения и чётко написанные выводы. Содержание всех разделов работы достаточное и соответствует общим принципам представления научной работы.

Библиографический список состоит из 36 позиций. В обсуждении результатов и во введении проведён хороший анализ как отечественной, так и зарубежной литературы. Рассмотрены результаты основных работ по тематике статьи. Это позволяет с уверенностью говорить, что обсуждаемая статья имеет высокую научную значимость.

Выводы работы актуальны для многих областей науки и способны вызвать интерес у широкого круга аудитории.

На основании вышеизложенного, считаю, что статья «Действие непрерывного и модулированного ультразвука на нейроны рыб» должна быть опубликована в журнале «Физика биологии и медицины».