

УДК 595.123: 613.168

ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ЭКРАНИРОВАНИЯ РАЗЛИЧНОЙ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ НА РЕГЕНЕРАЦИЮ ПЛАНАРИЙ DUGESIA TIGRINA

Демцун Н.А., Махонина М.М., Темурьянц Н.А., Мартынюк В.С.

Показано, что электромагнитное экранирование изменяет скорость регенерации планарий. Эти изменения зависят от продолжительности экранирования. Кратковременное периодическое электромагнитное экранирование (один час в сутки) приводит к увеличению скорости регенерации в течение вторых-седьмых суток (13%) относительно животных находящихся в обычных условиях лаборатории, тогда как в остальные сроки наблюдений значительных изменений не зафиксировано. В то время как длительное электромагнитное экранирование (23 часа в сутки) регенерирующих планарий в течение десяти дней значительно увеличивает скорость их регенерации со вторых по шестые сутки наблюдений (на 147%) относительно контрольной группы животных, сокращает сроки развития головы и глаз, синхронизируя этот процесс у различных животных. В то время как во второй и третьей фазах значительных изменений не наблюдалось.

Ключевые слова: электромагнитное экранирование, *Dugesia tigrina*, регенерация.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время доказана высокая чувствительность к электромагнитным полям (ЭМП) различных параметров организмов различной степени сложности, включая человека. Биологические эффекты ослабленных ЭМП изучены слабо, последствия пребывания различных биологических объектов в таких полях противоречивы. Между тем, ослабление ЭМП разных диапазонов имеет место при экранировании во многих производственных помещениях, электропоездах, самолетах, космических кораблях и др.

В связи с изложенным возникает необходимость в изучении некоторых закономерностей действия ослабленных ЭМП. В частности не изученным остается зависимость их биологических эффектов от продолжительности пребывания в экранированном пространстве. В связи с этим целью исследования явилось изучение этой зависимости.

Удобным объектом для таких исследований являются регенерирующие планарии. Эта система отличается доступностью, экономичностью, хорошей воспроизводимостью результатов и, кроме того, отвечает современным этическим требованиям, согласно которым следует ограничить использование млекопитающих в эксперименте. Благодаря этим достоинствам, регенерация планарий успешно используется для изучения свойств воды, тестирования фармакологических веществ, биологического действия электромагнитных факторов [1-4] и так далее. Последнее обстоятельство обусловлено тем, что показана чувствительность

планарий к изменению интенсивности и направления геомагнитного поля [5], радиоактивному излучению [6], ЭМП различных параметров [7]. Более того, они оказались удобным объектом для изучения механизмов действия комбинированных ЭМП [7, 8]. В тоже время, влияние электромагнитного экранирования на регенерацию планарий не изучено.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использована лабораторная бесполоая раса планарий *Dugesia tigrina*, культура которой содержится в Институте биофизики клетки РАН десятки лет при постоянных условиях, а в настоящее время успешно культивируется и в Таврическом национальном университете им. В.И. Вернадского. Здесь планарии содержатся в пластиковых аквариумах объемом по пять литров в воде, представляющей собой смесь дистиллированной и водопроводной воды в пропорции 1:1. Аквариумы находятся в затемненных условиях, температура воды в них поддерживается от 19-21°. Кормление планарий осуществляется один раз в неделю личинками двукрылых (мотылем). Кормление прекращается за семь дней до эксперимента.

Для эксперимента отбирали животных длина которых составила $\approx 10 \pm 1$ мм.

Регенерация вызывалась ампутацией 1/5 части головного конца тела планарий, содержащей головной ганглий, непосредственно под «ушами» (рис.1А). Декапитация проводилась под бинокулярным микроскопом глазным скальпелем в нестерильных условиях.

Декапитированные планарии делились на три группы по 25 особей каждая, и помещались в стеклянные стаканы, содержащие по 50 мл воды.

Животные первой группы служили биологическим контролем, то есть регенерация у них протекала без каких – либо дополнительных воздействий.

Животных второй группы ежедневно в течении одного часа (с 10 до 11 час.) содержали в экранирующей камере, а остальное время суток они находились в условиях, одинаковых с контрольной группой животных.

Третью группу составили животные, которых 23 часа в сутки содержали в экранирующей камере в течение десяти дней. Ежедневно в течение одного часа (всегда в одно и тоже время с 10 до 11 час.) проводили контроль регенерационных процессов, измерение температуры воды и т.д..

Для животных всех групп в течении всего эксперимента поддерживался одинаковый режим освещенности, температуры. Через один час после декапитации вторая и третья группы помещались в экранирующую камеру.

Для оценки динамики роста регенерационной почки (бластемы) планарий применяли метод прижизненной морфометрии, использующий компьютерные технологии анализа изображений [9, 10]. Применение этого метода обусловлено следующими особенностями биологии и морфогенеза планарий:

1. Сохранение у регенератов способности к достаточно длительному однонаправленному движению в горизонтальной плоскости, что важно для получения стандартных изображений проекции сверху.

2. Отсутствие на поверхности бластемы пигментированного эпителия, что позволяет четко определять границу между бластемой и пигментированной остаточной частью тела.

Подробное описание установки для прижизненной морфометрии, используемой в настоящем исследовании представлена в наших предыдущих работах [11]. Фиксация изображений осуществлялась у животных всех групп ежедневно в течении десяти дней в одно и то же время суток.

В качестве количественного показателя роста планарий нами использован индекс регенерации $R=S_1/S_2$, где S_1 - площадь бластемы, S_2 - площадь всего тела регенерата в данный момент времени (рис. 1). Кроме того, подсчитывали скорость регенерации, то есть изменение индекса регенерации за сутки (усл.ед./сутки). Также регистрировались следующие показатели, характеризующие процессы регенерации:

1. сроки появления пигментированных участков на месте будущих глаз (рис.1 – В);
2. сроки появления сформированных глаз (рис. 1 - Г);
3. формирование головы, но без «ушей» (рис. 1 – Д);
4. начало формирования «ушей».

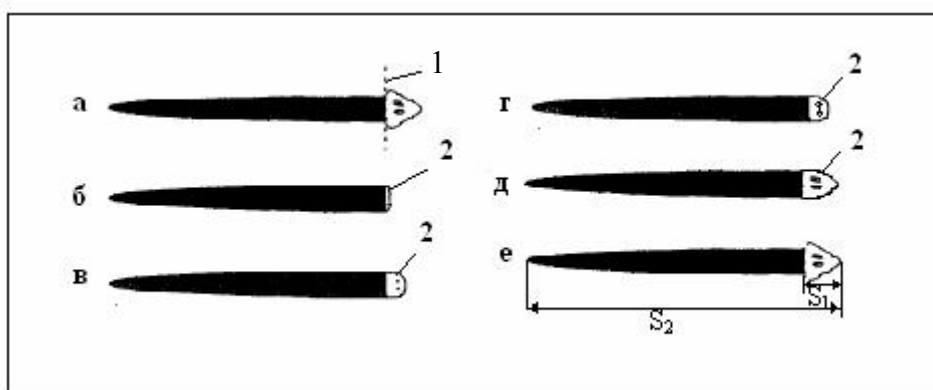


Рис.1. Этапы изучения регенерации планарий, где а - планария до декапитации; б - начальная стадия регенерации; в - появление пигментации на месте будущих глаз; г - полностью сформированные глаза; д - планария со сформированной головой, без «ушей»; е - планария со сформированной головой; 1 - граница декапитации; 2 - бластема.

Обработка изображений регенерирующих планарий всех групп проводилась слепым методом.

Экранирующая камера представляет из себя комнату размером 2 х 3 х 2 метра, изготовленную из мю-металла. Коэффициент ослабления магнитной составляющей в зависимости от направления составил от 3,85 для Z-направления до 19,1 для Y-направления, а электрическая ослаблялась полностью в пределах погрешности прибора.

Обработку и анализ экспериментальных данных проводили с помощью непараметрических методов. Статистическая обработка материала проводилась вычислением медианы (М), интерквантильного интервала между 25^м и 75^м процентилями, включающим 50% значений признака в выборке. Оценку

достоверности наблюдаемых изменений проводили с помощью U-критерия Манна-Уитни и Вилкоксона.

Расчеты и графическое оформление полученных в работе данных проводились с использованием программы Microsoft Excel [12], программного пакета «STATISTICA – 6.0» [13].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что индекс регенерации интактных планарий в различные сроки наблюдения изменялся фазно, с различной скоростью. Со вторых по седьмые сутки эксперимента средняя скорость регенерации составила $4,5 \cdot 10^{-3}$ усл.ед/сутки (рис.2). В последующие восьмые – девятые сутки коэффициент регенерации не изменялся относительно седьмых суток наблюдения, что может свидетельствовать об остановке роста бласты. В течении девятых - десятых суток вновь регистрировалось увеличение площади бласты, при этом скорость регенерации составила $11,6 \cdot 10^{-3}$ усл.ед./сутки

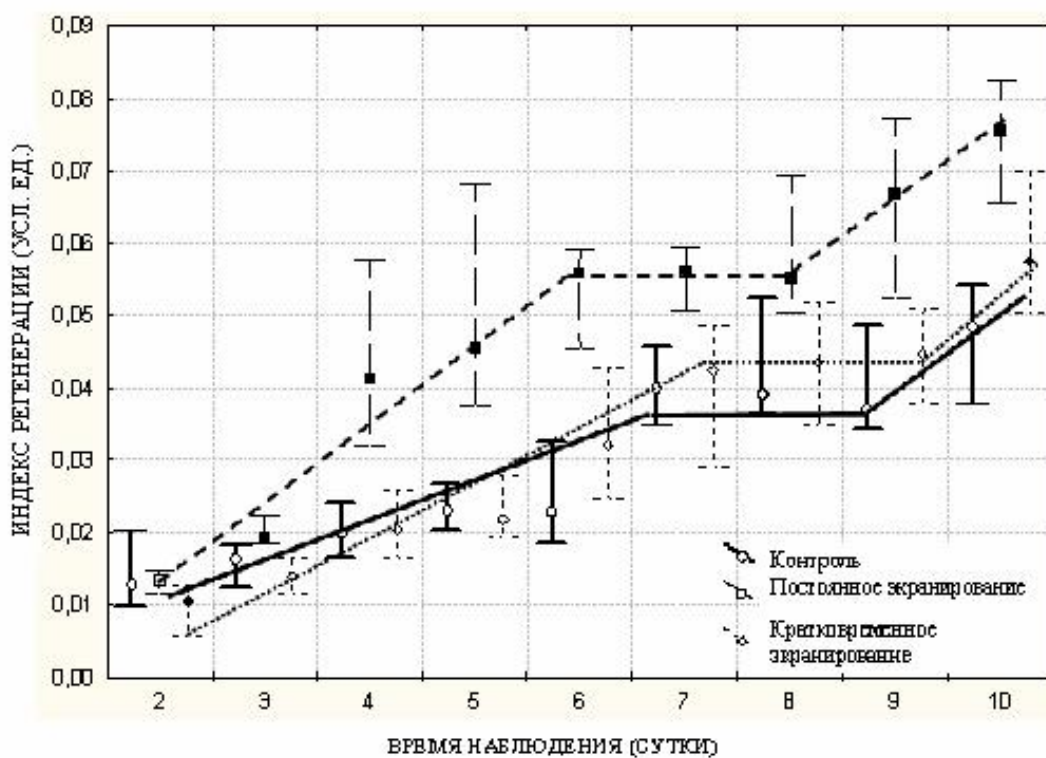


Рис. 2. Динамика индекса регенерации планарий в различных экспериментальных группах в течении десяти суток эксперимента.

Заштрихованные точки - $p < 0,05$, по сравнению с контрольной группой; не заштрихованные - $p > 0,05$.

Одновременно с ростом бластемы регистрировались изменения ее структуры. С пятых суток наблюдения линейно нарастало число особей, у которых появлялась пигментация на месте будущих глаз. Так, на девятые сутки эксперимента этот признак регенерации регистрировался у 60% планарий.

К последнему дню эксперимента у 12% животных регистрировались сформированные глаза (рис 1-Г, рис. 4-А). Таким образом, второй значительный рост бластемы сопровождается появлением у части животных глаз. Однако, полное формирование головы к этому сроку наблюдения не отмечено ни у одного животного, а зачатки ушей фиксировались в единственном случае.

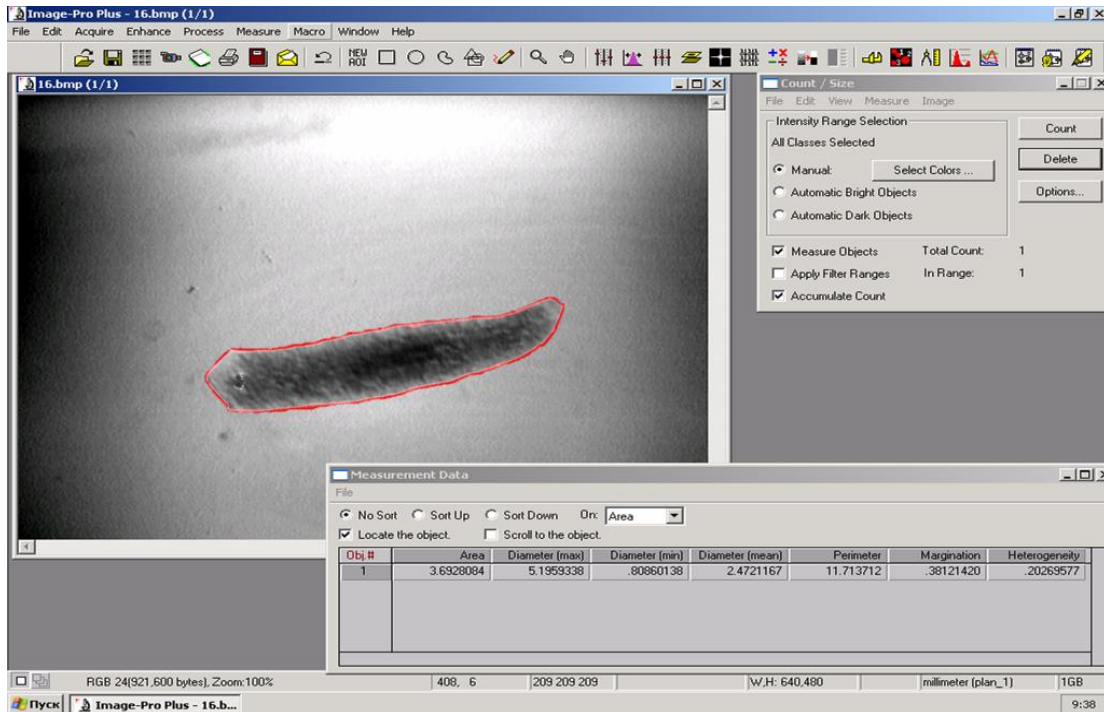


Рис. 3. Пример животного третьей экспериментальной группы на девятые сутки с полностью сформированными глазами.

У планарий, подвергавшихся кратковременному периодическому электромагнитному экранированию на вторые сутки эксперимента индекс регенерации был на 18 % ($p < 0,05$) ниже относительно такового контрольной группы животных (рис. 2). Однако, скорость регенерации была равна $5,1 \cdot 10^{-3}$ усл.ед./сутки, что на 13% выше чем в аналогичный период у интактных животных. В течении седьмых - девятых суток, как и в контрольной группе индекс регенерации не изменялся, но к девятым суткам его рост возобновился ($12,8 \cdot 10^{-3}$ усл.ед./сутки), а изученный показатель был на 21% ($p < 0,05$) выше чем у животных контрольной группы (рис. 2).

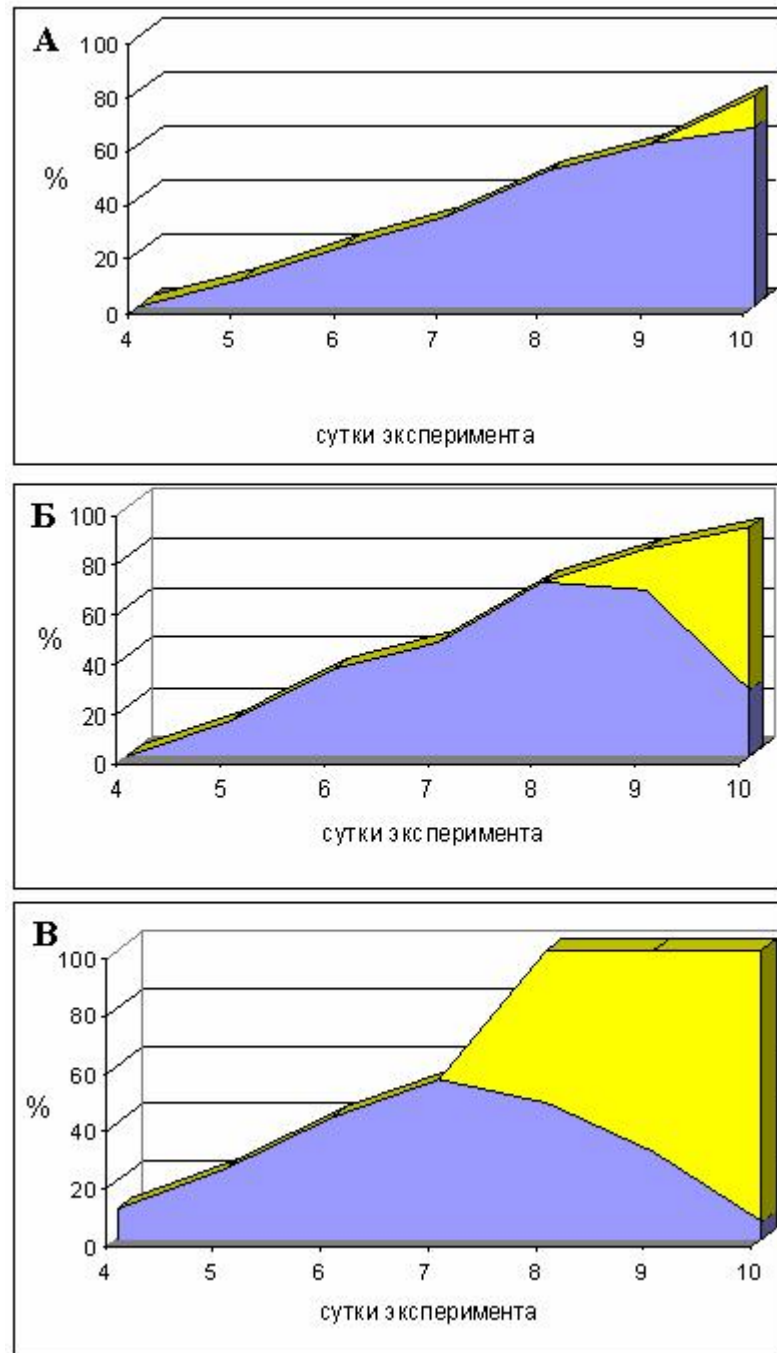


Рис. 4. Доля животных с первичной пигментацией глаз ■ и полностью сформированными глазами ■ в контрольной группе животных (А), в группах животных подвергнутых кратковременному (Б) и постоянному (В) экранированию (в процентах, относительно общего числа животных в группе).

Одновременно с изменением индекса регенерации у животных, подвергшихся кратковременному периодическому экранированию, регистрировалось более быстрое увеличение числа планарий с пигментом на месте будущих глаз относительно такового у интактных животных (рис. 1-В, рис. 4-Б). Начиная с шестых суток, отличия в числе таких особей от таковых контрольной группы становятся значительными $\approx 10\%$, на восьмые – 20% ($p < 0,05$). Кроме того, у животных этой группы раньше появлялись особи с полностью сформированными глазами (рис. 1-Г, рис. 4-Б). Так на девятые сутки наблюдения они регистрируются у 10% планарий, а на десятые – у 65% , тогда как у контрольной группы животных 0 и 12% соответственно, (рис. 4). Среди животных данной группы к последним суткам наблюдения появились особи прошедшие стадию со сформированной головой (рис 1-Д), у этих животных началось формирование «ушей».

Таким образом, кратковременное пребывание регенерирующих планарий в экранирующей камере приводит к фазным изменениям индекса регенерации характерным для интактных животных, а также уменьшению сроков формирования глаз.

Скорость регенерации у животных третьей группы (находившихся в экранирующей камере по 23 часа) была постоянной в течение первых шести суток и составляла $11,1 \cdot 10^{-3}$ усл.ед./сутки, что на 147% выше таковой у интактных животных (рис.2). Таким образом, в этих условиях эксперимента скорость регенерации значительно возростала. Кроме того, время развития плато индекса регенерации сдвигалось влево на одни сутки (шестые – восьмые сутки), а вслед за ним имел место рост индекса регенерации, характерный и для динамики регенерации двух остальных групп планарий. Скорость изменения изученного показателя в третьей фазе регенерации (рис.1-В) была несколько ниже таковой у интактных животных (12%), а его значения в последующие сутки эксперимента – превышали на 158% ($p < 0,05$). Кроме того, в этой группе животных, выявлено более раннее появление планарий с пигментацией на месте будущих глаз. Так на четвертые сутки уже у 10% животных регистрировался этот признак. Полное формирование глаз регистрируется у планарий данной группы раньше на двое суток по сравнению с аналогичными процессами у интактных животных, причем этот феномен фиксируется синхронно у 53% (рис. 4). К десятым суткам эксперимента глаза регистрируются уже у всех животных тогда как у планарий контрольной группы лишь у 10% животных (рис. 4). К этому сроку стадии формирования головы достигли все без исключения планарии этой группы, а у части наблюдались зачатки «ушей». Но как и в первых двух группах животных, полного формирования головы не наблюдалось. Более раннее формирование глаз и головы может быть расценено как проявление аномалий развития.

Таким образом, результаты проведенных исследований свидетельствуют о выраженных изменениях процесса регенерации у планарий при электромагнитной депривации. Эти изменения выражаются в увеличении индексов регенерации, более раннем развитии у животных глаз и головы. Выраженность этих изменений зависит от сроков пребывания в экранированной камере.

Полученные нами данные согласуются с результатами исследования влияния гипомангнитных полей на биологические системы различной степени сложности [14,

15]. Показано, что экранирование вызывает аномалии роста корней растений [16], нарушает ход циркадианных ритмов у человека [17, 18], нарушает поведение термитов [19], вызывает тератогенные эффекты в эмбриональном развитии [20, 21].

Так М. Asashima et al. (1991) показали, что пятидневное пребывание личинок Japanese newt (Японского тритона) в камере, ослабляющей статическое магнитное поле в 10.000 раз (до 5 пТл), увеличивало число соматических дефектов, максимальное число которых обнаруживалось на двадцатый день после окончания экранирования. Обнаруживались дефекты развития кишечной трубки, пороки развития спинного мозга, множественные глаза, замедление или блокада развития. Таких аномалий у контрольных животных не было замечено.

Показано, что аномалии развития могут быть вызваны действием слабых электромагнитных факторов различной частоты [22, 23]. Такое действие было обнаружено и для регенерирующих планарий, подвергавшихся влиянию переменных магнитных полей частотой 60 Гц при интенсивности от 1,0 до 80 мТл. [24, 25].

Известно, что спектр ЭМП, регистрируемый на поверхности Земли охватывает огромный частотный диапазон, причем для различных диапазонов источники ЭМП различны. Экраны, в зависимости от их свойств, ослабляют не только постоянное геомагнитное поле, но снижают интенсивность ЭМП во всех частотных диапазонах. Таким образом, при пребывании биологических объектов в экранированном объеме мы имеем дело с влиянием на него спектра ЭМП, отличного от такового вне экрана. Потому, регистрируемые в экране изменения могут быть обусловлены ослаблением интенсивности ЭМП любого диапазона.

К сожалению, в литературе, как правило, не приводятся данные о степени ослабления поля во всех частотных диапазонах, что лимитирует возможности интерпретации экспериментальных результатов.

Полученные нами данные об увеличении скорости регенерации планарий в условиях экранирования, а также появление ее аномалий могут быть связаны с изменением спектра ЭМП, регистрируемых внутри камеры. Роль каждого из участков этого спектра в наблюдаемых эффектах, а так же механизмы развивающихся процессов позволят выявить дальнейшие исследования.

ВЫВОДЫ

1. Электромагнитное экранирование изменяет скорость регенерации планарий. Эти изменения зависят от продолжительности экранирования и имеют фазный характер.
2. Кратковременное периодическое электромагнитное экранирование (один час в сутки) приводит к увеличению скорости регенерации в первой фазе (13%) относительно животных находящихся в обычных условиях лаборатории, тогда как в остальные сроки наблюдений значительных изменений не зафиксировано.
3. Длительное электромагнитное экранирование (23 часа в сутки) регенерирующих планарий в течение десяти дней значительно увеличивает скорость их регенерации в первой фазе (на 147%) относительно к контрольной группе животных, сокращает сроки развития головы и глаз, синхронизируя этот

процесс у различных животных. В то время как во второй и третьей фазах значительных изменений не наблюдалось.

Список литературы

1. Леднев В.В., Белова Н.А., Рождественская З.Е., Тирас Х.П. Биоэффекты слабых переменных магнитных полей и биологические предвестники землетрясений // Геофизические процессы и биосфера. – 2003. – Т.2, № 1. – С. 3-11.
2. Леднев В.В., Сребницкая Л.К., Ильясова Е.Н., Рождественская З.Е., Климов А.А., Белова Н.А., Тирас Х.П. Магнитный параметрический резонанс в биосистемах: экспериментальная проверка предсказаний теории с использованием регенерирующих планарий *Dugesia tigrina* в качестве тест-системы // Биофизика. – 1996. –Т. 41, №4 – С. 815-825.
3. Новиков В.В., Шейман И.М., Фесенко Е.Е. Влияние слабых и сверхслабых магнитных полей на интенсивность бесполого размножения планарий *Dugesia tigrina* // Биофизика. – 2002. – Т.47(1). – С. 125-129.
4. Тирас Х.П., Сребницкая Л.К., Ильясова Е.Н., Леднев В.В. Влияние слабого комбинированного магнитного поля на скорость регенерации планарий *Dugesia tigrina* // Биофизика. – 1996. – Т. 40, №4. – С. 826-831.
5. Brown F.A. Effects and after effects on planarians of reversals of the horizontal magnetic vector // Nature – 1966. – Vol. 209. - P.533-535.
6. Brown F.A. An orientation response to weak gamma radiation // Biological Bulletin - 1963. – Vol. 125, №2. – P.206–225.
7. Новиков В.В., Шейман И.И., Клубин А.В., Фесенко Е.Е. Влияние слабых и сверхслабых комбинированных постоянного и низкочастотного переменного магнитных полей и миллиметровых волн низкой интенсивности на регенерацию планарий *Dugesia tigrina* // Биофизика. – 2007. – Т.53б, №2. – С. 372 – 375.
8. Рождественская З.Н. Влияние слабых комбинированных магнитных полей на регенерацию планарий *Dugesia tigrina*: Автореф. дис. кандидата биологических наук: 03.00.02. – Пушкино, 2003. – 22 с.
9. Тирас Х.П., Сахарова Н.Ю. Прижизненная морфометрия планарий // Онтогенез. – 1984. – Т 15, №1. – С. 42-48
10. Тирас Х.П., Хачко В.И. Критерии и стадии регенерации у планарий // Онтогенез. – 1990. - Т 21. – С. 620-624.
11. Вишневецкий В.Г., Махонина М.М., Демцун Н.А., Темурьянц Н.А. Установка для прижизненной морфометрии регенерации планарий // Ученые записки ТНУ. – 2007. – Т. 20 (59), №4. – С. 18 -21.
12. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. – К.: Модмон, 2000. – 319 с.
13. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica. М.: МедиаСфера, 2006. – 312 с.
14. Дубров А. П. Геомагнитное поле и жизнь. – Л.: Гидрометеиздат, 1974. – 175 с.
15. Volpe P. Interactions of zero-frequency and oscillating magnetic fields with biostructures and biosystems // Photochem. Photobiol. Sci. – 2003. – Vol. 2. – P.637-648
16. Shultz A., Smith A., Dycus A. Effects on early plant growth from nulled and directional magnetic field environments. Barnothy, 1967
17. Wever R. Einfluss schwacher elektro-magnetischer Felder auf die circadiane periodizität des menschen // Naturwissenschaften – 1968. – Vol. 55. – P.29-32.
18. Borodin Y.I., Letiagin A.Y. Reaction of circadian rhythms of the lymphoid system to deep screening from geomagnetic fields of the earth // Bull Eksp Biol Med – 1990. – Vol. 2. – P.191-193.
19. Becker G. Influence of magnetic, electric and gravity fields on termite activity // Material and organism. – 1976. – Vol. 3. – P. 407-418.
20. Shibib K., Brock M., Gosztony G. The geomagnetic field: A factor in cellular interactions // Neurosci Res – 1987. – Vol.9, №4. – P.225-235.

21. Asashima M., Shimada K., Pfeiffer C. Magnetic shielding induces early developmental abnormalities in the newt // *Bioelectromagnetics* – 1991. – Vol. 12. – P.215-224.
22. Juutilainen I Development effects of electromagnetic fields // *Bioelectromagnetics* – 2005. – Suppl. 7. – P.107-115.
23. Levin M. Bioelectromagnetics in Morphogenesis // *Bioelectromagnetics* – 2003. – Voll. 24. – P.295-315.
24. Jenrov K.A., Shmth C.H., Liboff A.R. Weak extremely-low-frequency magnetic field-induced regeneration anomalies in the planarian *Dugesia tigrina* // *Bioelectromagnetics* – 1996. – Vol. 17 – P.467-474.
25. Jenrow K.A., Smith C.H., Liboff A.R. Weak extremely-low- frequency mag net ic fields and regeneration in the planarian *Dugesia tigrina* // *Bioelectromagnetics* – 1995. – Vol. 16 – P.106-112.

Демцун Н.О., Махоніна М.М., Темурьянц Н.А., Март инюк В.С. Вплив електромагнітного екранування різної тривалості на регенерацію планарій *Dugesia tigrina* // *Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”* – 2008. – Т. 21 (60). – № 1. – С. 65-74.

Електромагнітне екранування змінює швидкість регенерації планарій. Ці зміни залежать від тривалості екранування й мають фазний характер. Короткочасне періодичне електромагнітне екранування (одна година на добу) приводить до збільшення швидкості регенерації в плині другої - сьомої доби (13%). відносно тварин, що перебувають у звичайних умовах лабораторії, тоді як в інший термін спостережень значних змін не зафіксовано. У той час, як тривале електромагнітне екранування (23 години на добу), що регенерують планарій протягом десяти днів значно збільшує швидкість їх регенерації з другої по шостої добу спостережень (на 147%) відносно контрольної групи тварин, скорочує строки розвитку голови й очей, синхронізуючи цей процес у різних тварин. У той час як у другі і третьої фазах значних змін не спостерігалось.

Ключові слова: електромагнітне екранування, *Dugesia tigrina*, регенерація

Demtsun N.A., Makhonina M.M., Temurjants N.A., Martynyuk V.S. Effect of the electromagnetic shielding of varying lengths for regeneration planary *Dugesia tigrina* // *Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry»*. – 2008. – V.21 (60). – № 1. – P. 65-74.

It is shown electromagnetic baffle alters the velocity of planary regeneration. These changes depend on the baffle duration and have phase nature. Short-term periodic electromagnetic baffle (one hour per day) leads to the increase of speed regeneration during the second - seven days (13%) on animals in normal laboratories conditions, while the remaining period of observations no significant changes recorded. Prolonged electromagnetic baffle (23 hours per day) within ten days significantly increase planary regeneration from the second to sixth days of observations (at 147%) for the control group of animals, reduce growth term of envelopment time-frame head and eyes, synchronizing it with various animals. At that time, at second and third phases of significant changes were not observed.

Keywords: electromagnetic shielding, *Dugesia tigrina*, regeneration.

Пост упила в редакцію 26.03.2008 г.