

УДК 591.11; 577.35; 537

ОСОБЕННОСТИ РЕГЕНЕРАЦИИ ПЛАНАРИЙ *DUGESIA TIGRINA* И НОЦИЦЕПЦИИ МОЛЛЮСКОВ *HELIX ALBESCENS* В УСЛОВИЯХ СЛАБОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ЭКРАНИРОВАНИЯ

© 2011 г. Н.А. Темурьянц, Н.А. Демцун, А.С. Костюк, Н.С. Ярмолук

Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, г. Симферополь, Украина

Показано, что слабое электромагнитное экранирование стимулирует регенераторные процессы у планарий *Dugesia tigrina*. При этом интенсивность стимуляции зависит как от исходного состояния животных, определяемого сезоном года, так и от их функциональной асимметрии. Выявлено, что действие ослабленного электромагнитного поля вызывает фазные изменения ноцицептивной чувствительности моллюсков *Helix albescens*: увеличение чувствительности к термическому стимулу сменяется развитием гипоалгетического эффекта.

Ключевые слова: электромагнитное экранирование, индекс регенерации, скорость движения, функциональная асимметрия, ноцицепция, планарии, моллюски.

Введение

Для доказательства важной экологической роли электромагнитных полей (ЭМП) естественного происхождения существует по меньшей мере три принципиально различных типа экспериментов:

- воздействие на биообъект искусственно созданным ЭМП с параметрами, близкими к естественным;
- сопоставление изменений функционального состояния биообъекта с параметрами естественных ЭМП [Темурьянц и др., 1992].
- опыты с экранированием от внешних ЭМП с регистрацией определенных показателей у животных опытной и контрольной групп.

Опыты с электромагнитным экранированием (ЭМЭ) имеют и важное прикладное значение, так как оно широко распространено в естественных и производственных условиях, но мало изучено. В подавляющем числе работ исследуются эффекты значи-

тельного ($>10^2$) или даже полного ослабления фоновых ЭМП [Asashima et al., 1991; Jenrow et al., 1996; Koziak et al., 2006], тогда как состояние биологических систем различного уровня сложности при небольших коэффициентах экранирования совершенно не изучено. В связи с этим возникает необходимость в изучении последствий пребывания биологических объектов в условиях слабого экранирования как постоянного геомагнитного поля, так и переменных естественных ЭМП.

При изучении эффектов действия любого фактора всегда остро стоит вопрос о выборе объекта исследования. В настоящее время эксперименты на млекопитающих не приветствуются научной общественностью по этическим причинам [Европейская..., 1986]. Кроме того, такие эксперименты трудоемки и экономически труднодоступны. Поэтому предпочтение отдается экспериментам с использованием разнообразных тест-систем, а также беспозвоночных животных. Примером тест-системы, широко используемой в электромагнитной физиологии и биофизике, являются регенерирующие планарии [Tiras и др., 2007]. Эта модель отличается простотой, доступностью, хорошей воспроизводимостью результатов, а также достоверностью получаемой информации. Влияние ЭМЭ на регенерацию планарий не изучено.

Не менее информативны и доступны эксперименты на моллюсках. Как наземные [Prato et al., 1996, 1997], так и морские моллюски [Lohmann, Willows, 1987] используются для изучения не только феноменологии, но и механизмов действия электромагнитных факторов [Темурьянц и др., 2010].

В частности, для этих целей часто применяется тест «горячая пластинка». Используя этот тест, можно моделировать стресс-реакцию у животных (при температуре горячей пластинки $t \geq 50$ °C) [Achaval et al., 2005], а также изучать болевую чувствительность ($t = 40.0 \pm 0.2$ °C) [Kavaliers et al., 1983; Prato et al., 1996]. При этом болевая чувствительность оценивается по латентному периоду реакции избегания термического стимула. Однако более полная характеристика ноцицептивной чувствительности может быть дана при изучении и ее болевого порога. Эти параметры ноцицепции моллюсков при ЭМЭ не исследованы.

В связи с изложенным целью исследования стало изучение влияния слабого ЭМЭ на беспозвоночных: регенерацию планарий и ноцицепцию моллюсков.

Использованные данные и методы исследования

Исследование интенсивности регенераторных процессов у планарий *Dugesia tigrina*. В экспериментах использована лабораторная бесполовая раса планарий *Dugesia tigrina*. Условия культивирования полностью соответствуют таковым, рассмотренным в работе [Тирас, Сахарова, 1984].

Отбирали планарий длиной 10 ± 1 мм, у которых движение осуществляется за счет ресничек, а не мускулатуры [Шмидт-Нильсен, 1982]. Плоские черви – наиболее примитивные представители современной фауны – обладают функциональной асимметрией, характеризующейся определенной устойчивостью, что проявилось, в частности, в отсутствии ее сдвигов в зависимости от сезона, а также от ориентации лабиринта по сторонам света [Бианки и др., 1990]. Поэтому для исследования зависимости изменений регенераторных процессов от индивидуальных особенностей планарий определяли их функциональную асимметрию. Для этого применяли методику свободного выбора направления в Т-образном лабиринте [Бианки и др., 1990]. У всех животных с различной функциональной асимметрией исследовали регенераторную способность, для чего ампутировали 1/5 часть тела, содержащую головной ганглий (выше фаринкса) [Крещенко и др., 2001].

Было проведено пять серий экспериментов. В 1-й–4-й сериях изучались сезонные различия регенерации животных в условиях ЭМЭ, в 5-й серии, проведенной весной, – зависимость влияния ЭМЭ от индивидуальных особенностей планарий, определяемых их функциональной асимметрией. В каждой серии эксперимента животных разделяли на две группы (контроль и опыт) по 40–45 особей в каждой и помещали в отдельные стеклянные стаканы, содержавшие по 50 мл воды. Регенерация у планарий 1-й группы протекала без каких-либо воздействий.

Планарий 2-й группы подвергали ЭМЭ в течение 20 дней по 23 ч в сутки. Ежедневно в одно и то же время – с 10 до 1 ч проводили фиксацию изображений каждого животного.

Освещенность при проведении опыта была равномерной и постоянно контролировалась. Температура воздуха в лаборатории колебалась в пределах 18–23 °С.

По результатам тестирования было выделено две подгруппы – симметриков и асимметриков, асимметриков делили на «правшей» (*R*) и «левшей» (*L*). Кроме того, для изучения зависимости эффективности ЭМЭ от функционального состояния животных и интенсивности регенерации эксперименты были проведены в разные сезоны года.

Для анализа регенераторных процессов применялись компьютерные технологии анализа изображений. Для получения стандартных изображений регенерирующих планарий использовали видеокамеру Sun Kwang (модель SK-2046, размер датчика 1/3 дюйма, 570 телевизионных линий), смонтированную на окуляре бинокулярного микроскопа «МБС-10». Через видеотюнер Kworld (разрешение 640×480) изображение передавалось на компьютер. Обработка и анализ результатов осуществлялись с помощью пакета программного обеспечения «Image-Pro».

В качестве количественных характеристик роста планарий использовались индекс регенерации (ИР) и скорость движения (СД) регенерирующих планарий. Индекс регенерации определялся как отношение площади бластемы к площади всего тела регенерата в данный момент времени: $ИР = S_1/S_2$ [Турас, Сахарова, 1984]. Скорость движения вычислялась как отношение длины пройденного пути ко времени (1 с) (рис. 1). Длина пройденного пути измерялась наложением двух участков одного видеоряда с соответствующей разницей во времени [Патент..., 2010].

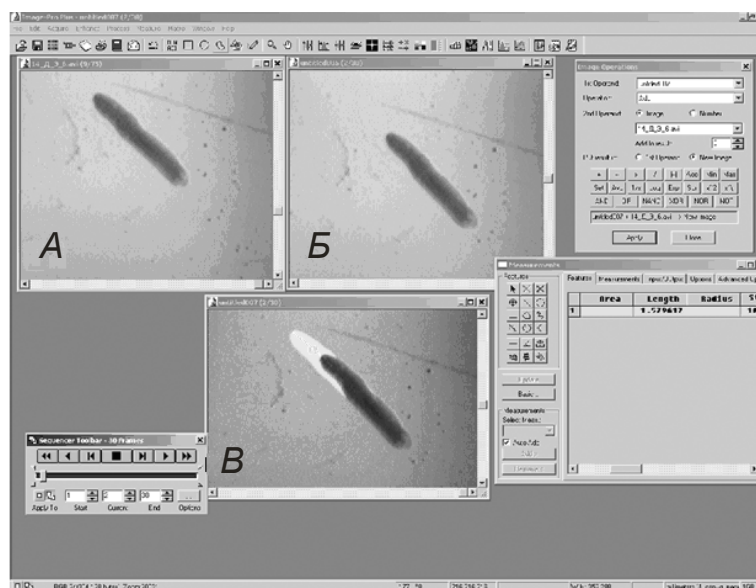


Рис. 1. Пример вычисления скорости движения планарии

A, B – участки видеоряда с разницей в 1 с; *B* – результат наложения этих видеорядов при помощи покадрового вычитания изображений

Определение параметров ноцицепции у моллюсков *Helix albescens*. Изменение ноцицепции в условиях ЭМЭ исследовалось на наземных брюхоногих моллюсках *Helix albescens*, широко распространенных на территории Крымского полуострова и применяемых в экспериментах для выявления биологической активности разнообразных экологических факторов. Сбор моллюсков производился в поле, вдали от предприятий и линий электропередач.

В эксперименте использовались половозрелые животные, одинаковые по массе и размерам. О состоянии ноцицепции животных судили по порогу (П) и латентному периоду (ЛП) реакции избегания (РИ) в тесте «горячая пластинка». Для определения параметров ноцицепции обычно используются металлические пластинки, обладающие высокой теплопроводностью и нагреваемые горячей водой до 40 °С [Prato et al., 1996]. Значительная тепловая инерция таких пластинок не позволяет измерять порог РИ, поэтому обычно измеряется только ЛП.

Нами создана специальная установка [Вишневецкий и др., 2009], в которой нагреваемым элементом служила стеклянная пластинка, на нижнюю поверхность которой методом напыления в вакууме был нанесен проводящий слой из нитрида титана. Такая конструкция позволяет при пропускании тока через этот слой легко изменять температуру пластинки. В наших экспериментах применялся нагрев верхней поверхности пластинки, на которой находился моллюск, со скоростью изменения температуры 0.667 °С/с. Поведение моллюска регистрировалось с помощью видеокамеры (рис 2).

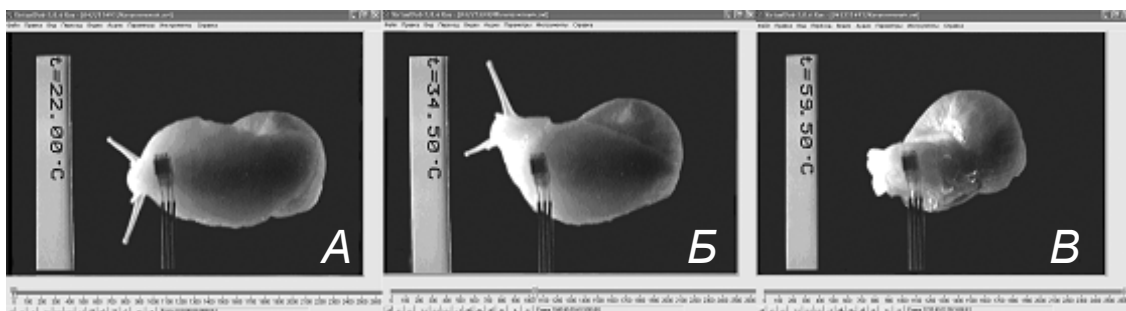


Рис. 2. Поведенческая реакция брюхоногого моллюска *Helix albescens* при действии теплового раздражителя. По горизонтальной оси – значение времени (с), по вертикальной – температура пластинки (°С). Фото с экрана ПК (Print Screen SysRq)

А – распластывание моллюска на стеклянной пластинке при $t = 22$ °С; Б – поднятие ноги над поверхностью стеклянной пластинки при минимальных значениях температуры ($t = 34.5$ °С); В – реакция полного избегания (подъем всей подошвы)

Одновременно на каждом кадре регистрировались значения температуры, измеряемой при помощи полупроводникового термометра (диапазон измеряемых им температур от -10 °С до $+85$ °С с точностью до ± 0.5 °С), и времени, которые высвечивались на индикаторном табло, располагавшемся на одном из краев пластинки. Как проявление начала реакции избегания рассматривался отрыв передней части ноги моллюска от поверхности пластинки. Регистрацию показателей проводили у каждого животного ежедневно после очередного воздействия электромагнитного фактора в интервале 11–13 ч в течение 21-х суток. В этих исследованиях, как и в опытах с планариями, экспериментальных животных делили на две группы: интактные моллюски и животные, содержащиеся в условиях ЭМЭ.

Методы статистической обработки. Изменения параметров регенерации планарий и ноцицепции моллюсков в эксперименте по сравнению с контролем определялись путем вычисления коэффициента эффективности [Prato et al., 2000]

$$K_{\text{эф}} = \frac{(K_3 - K_k) \pm (\delta_3 + \delta_k)}{K_k \pm \delta_k} 100 \% \quad (1)$$

для каждого дня эксперимента. Ошибка не превышала 3 %.

Изменение параметров регенерации у «правшей» относительно «левой» определяли коэффициентом модификации

$$K_m = \frac{(R - L) \pm (\delta R + \delta L)}{R \pm \delta R} 100 \% , \quad (2)$$

где K_m – разность (%) между величинами ИР или СД в группе «правшей» (R) и «левой» (L); δR , δL – стандартные ошибки измерений в группах животных с разной функциональной асимметрией.

Для оценки достоверности наблюдаемых изменений использовали t -критерий Стьюдента, критерий Манна–Уитни и T -критерий Вилкоксона. Для выявления достоверных различий между динамикой изучаемых показателей использовалось угловое преобразование Фишера, суть которого состоит в переводе процентных долей в величины центрального угла, который измеряется в радианах. Расчеты и графическое оформление полученных в работе данных проводились с использованием программы Microsoft Excel и программного пакета «STATISTICA – 6.0» [Лапач и др., 2000; Боровиков, 2003].

Характеристика экранирующей камеры. Экранирующая камера была изготовлена из двухслойного железа «Динамо» и представляла собой помещение размерами $2 \times 3 \times 3$ м. Ее экранирующие свойства определялись путем измерения спектральной плотности магнитного поля (МП) в диапазоне частот от 10^{-4} до 10^5 Гц. В области инфранизких и низких частот (0–100 Гц) использовался феррозондовый магнитометр чувствительностью 1 нТл, точность измерения составляла ± 3 %. В области более высоких частот (10^2 – 10^5 Гц) использовались измерительная катушка и селективный усилитель У28. Внутри камеры для частот 10^{-4} –30 Гц коэффициент экранирования МП находился в пределах 3–4 на промышленной частоте 50 Гц и кратных гармониках 150 и 250 Гц – около 3. На более высоких частотах имела место тенденция к уменьшению коэффициента экранирования. Коэффициент экранирования постоянной компоненты МП по вертикальной составляющей составил 4.4 раза, по горизонтальной – 20 раз. Кроме того, в помещении лаборатории и в экранирующей камере измерялся естественный радиационный фон с помощью радиометра β - γ -излучения РКС-20.03 «Припять». Величина фона составила 10–15 мкР/ч, что соответствует норме. Различий естественного радиационного фона в лаборатории и в экранирующей камере не выявлено [Богатина и др., 2010]. В камере соблюдалось затемнение.

Результаты и их обсуждение

Сезонные различия регенерации планарий *Dugesia tigrina* при ЭМЭ. Результаты исследования свидетельствуют о том, что интенсивность регенерации головного конца тела планарий *Dugesia tigrina* в различные сезоны года неодинакова (рис. 3).

Наиболее интенсивно регенерационные процессы протекают летом, об этом свидетельствуют самые высокие значения ИР и СД, которые возрастают с увеличением сроков наблюдения. Индекс регенерации планарий в летний сезон превышал значения

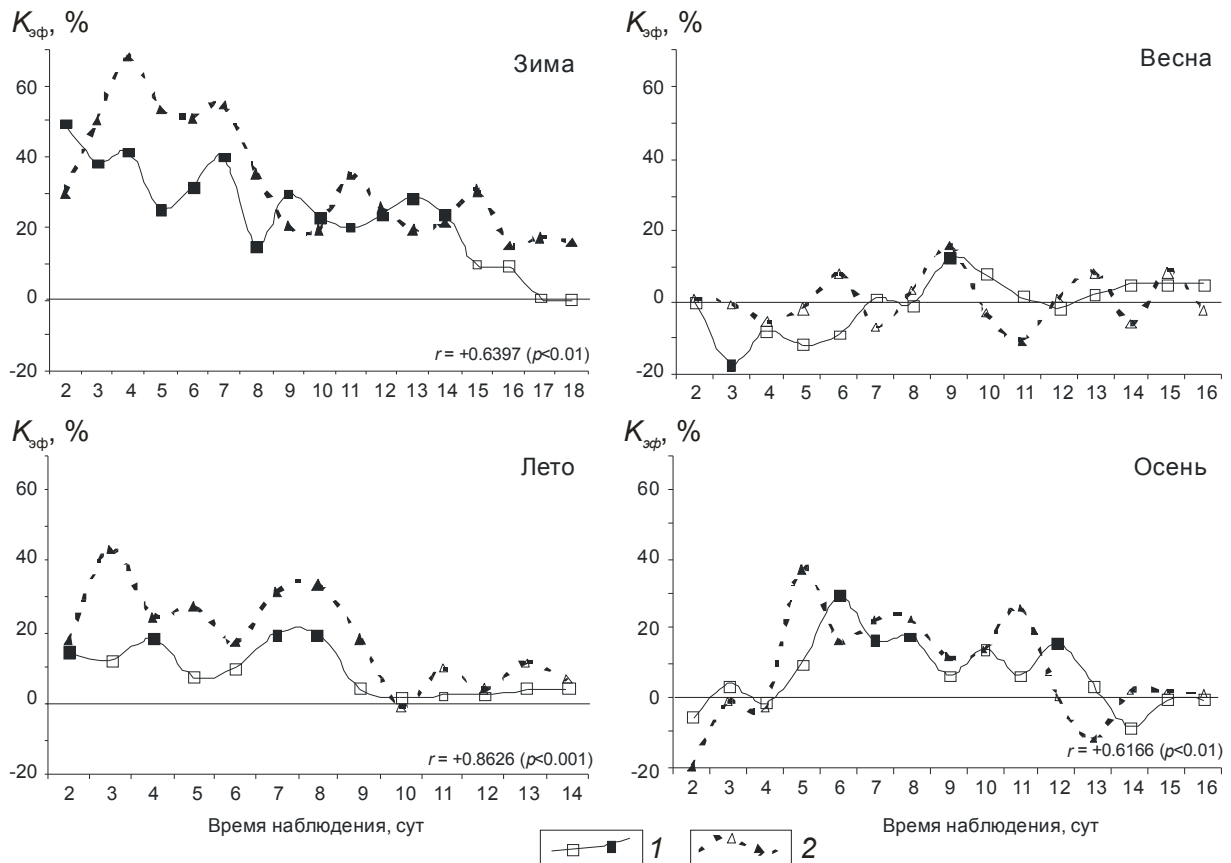


Рис. 3. Коэффициент эффективности ($K_{эф}$) ЭМЭ, рассчитанный по индексу регенерации (1) и скорости движения (2) в разные сезоны года, относительно планарий контрольной группы, принятой за 0 %. Залитые значки – достоверные различия относительно контрольной группы животных ($p < 0.05$) по критерию Манна–Уитни

таковых в зимний, осенний и весенний сезоны с 3-х по 13-е сутки экспериментов в 1.9–3.3 раза, 1.2–2.1 раза и 1.2–1.8 раза соответственно ($p < 0.01$). Для летнего сезона обнаружена и самая высокая скорость движения регенерирующих планарий, которая изменялась от 1.04 мм/с на 2-е сутки эксперимента до 2.30 мм/с на 14-е сутки. Между ИР и СД обнаружена достоверная корреляция ($r = 0.87$, $p < 0.001$). Стабилизация ИР начиналась с 10-х суток наблюдения.

Зимой регенерация характеризовалась самыми низкими значениями ИР (0.01–0.09 усл.ед) и СД (0.78–1.20 мм/с), коэффициент корреляции между которыми был значительно ниже, чем летом ($r = 0.37$). Стабилизация ИР в этот сезон года начиналась с 18-х суток.

Весной и осенью зарегистрированы более высокие, чем зимой, но более низкие, чем летом, значения ИР и СД. Между этими показателями осенью коэффициент корреляции $r = 0.96$ ($p < 0.001$). Весной значения ИР и СД превышали таковые осеннего сезона лишь в отдельные сутки наблюдения. Весной коэффициент корреляции между этими показателями $r = 0.77$ ($p < 0.01$). Стабилизация ИР весной и осенью начиналась с 15-х – 16-х суток наблюдения.

Таким образом, у планарий зимой регистрировался самый низкий уровень регенерационных процессов, интенсивность регенерации возрастала в последовательности осень – весна – лето. Полученные данные соответствуют представлениям о сезонной ритмике биологических систем [Голиков А.П., Голиков П.П., 1973; Биологические..., 1984].

Установлено, что ЭМЭ изменяет интенсивность регенерационных процессов в зависимости от сезона года. $K_{эф}$, рассчитанные по СД и ИР, в каждом сезоне изменялись однотипно, между ними обнаруживается достоверная положительная корреляция, но первый параметр всегда изменяется больше, чем второй. В зимний и летний сезоны зарегистрирована стимуляция регенерационных процессов со вторых суток эксперимента. Зимой значение $K_{эф}$ индекса регенерации возросло до 50 %, а $K_{эф}$ скорости движения – до 68 %; летом значение $K_{эф}$ индекса регенерации возросло только до 15 %, а $K_{эф}$ скорости движения – до 43 %.

В осенний сезон стимулирующий эффект был отмечен после четырехсуточного латентного периода и выражен больше, чем летом – в 1.3–8 раз в различные сроки для ИР и в 1.1–19.3 раза для СД, но меньше, чем зимой, – в 1.4–36.9 раз и 1.3–45.5 раз соответственно ($p < 0.05$). С увеличением сроков наблюдения стимулирующий эффект экранирования снижался и становился равным нулю зимой, осенью и летом на 17-, 11-, 10-е сутки соответственно.

Весной была обнаружена иная динамика $K_{эф}$. В этот сезон года в отдельные дни первой недели эксперимента $K_{эф}$ не изменялся или имел отрицательные значения, т.е. имела место тенденция к угнетению регенерации, которая с 9-х суток эксперимента сменялась тенденцией к возрастанию $K_{эф}$. В этот сезон года не выявлено корреляции между $K_{эф}$ индекса регенерации и $K_{эф}$ скорости движения. Итак, $K_{эф}$ весной имел лишь тенденцию к возрастанию с увеличением сроков наблюдения.

Как было показано, ЭМЭ стимулирует регенерацию головного конца тела планарий зимой, летом и осенью, стимулирующий эффект уменьшается с увеличением сроков регенерации и зависит от сезона года: стимуляция наиболее выражена зимой, наименее летом. Весной наблюдалась лишь тенденция к стимуляции регенерации, и $K_{эф}$ в отличие от других сезонов возрастал с увеличением длительности экранирования. Особенности реакции организма на действие разнообразных факторов в весенний период описаны в ряде исследований, причины этого явления обсуждаются в работе [Фролов и др., 1988].

Оценка, проведенная с помощью углового преобразования Фишера, показала, что динамика $K_{эф}$ индекса регенерации и скорости движения в различные сезоны года достоверно различается ($p < 0.05$).

Таким образом, ЭМЭ стимулирует регенерацию головного конца тела планарий, интенсивность стимуляции зависит от исходного функционального состояния животных, определяемых сезоном года. Этот вывод подтверждает результаты исследования влияния ЭМЭ на планарий с различной функциональной асимметрией.

Взаимосвязь интенсивности регенерации планарий *Dugesia tigrina* с их функциональной асимметрией. В результате тестирования 350 планарий в Т-образном лабиринте были выделены две группы животных. В первую группу вошли животные *RL*-формы, или «симметрики», не обнаружившие достоверного предпочтения одного какого-либо направления движения в лабиринте, они составили 60 % популяции. Во вторую группу (40 % популяции) вошли животные «асимметрики»: *R*-формы (или «правши»), предпочитающие правый поворот в лабиринте, и *L*-формы (или «левши»), предпочитающие левый поворот. Среди «асимметриков» преобладают «правши», их количество составило 57 %, тогда как «левшей» насчитывалось 43 %. Таким образом, полученные нами данные о распределении «симметриков» и «асимметриков» в популяции согласуются с опубликованными данными [Бианки и др., 1990].

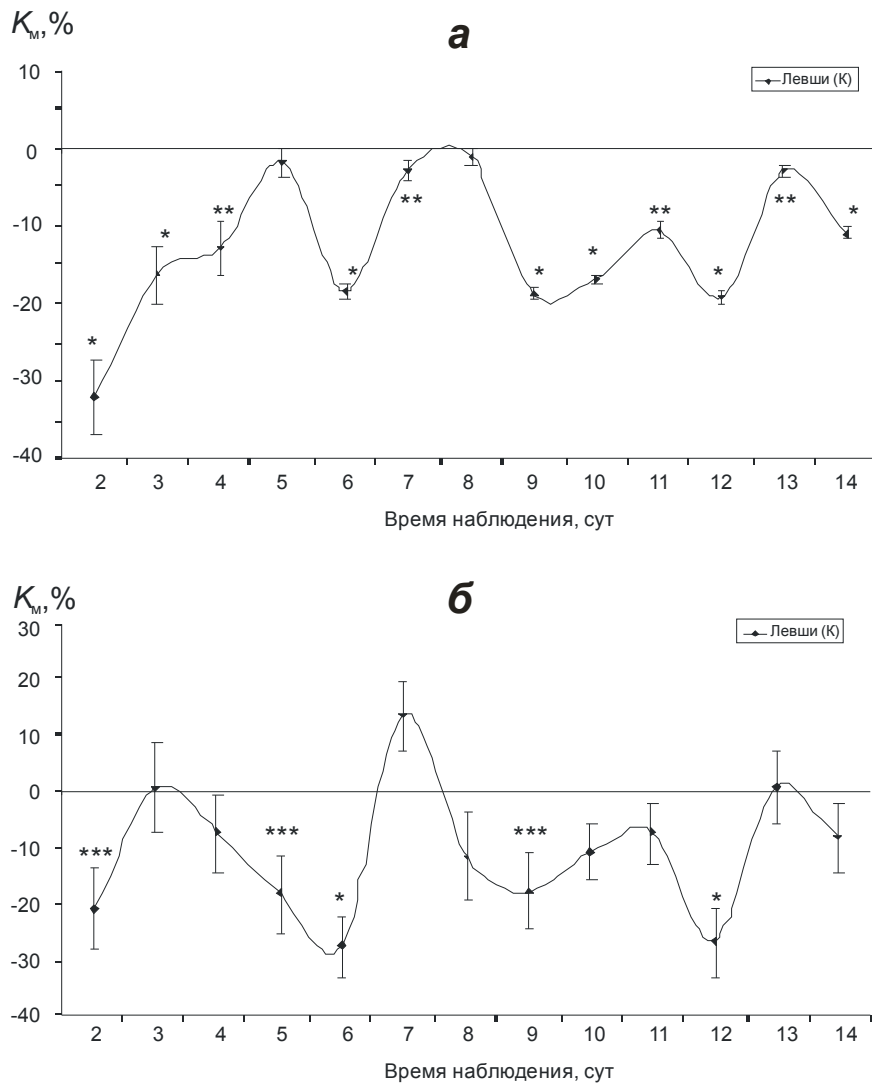


Рис. 4. Коэффициент модификации (K_M) параметров регенерации интактных планарий «левшей» относительно животных группы «правшей», принятых за 0 %

a – индекс регенерации; *б* – скорость движения. Звездочки на рис. 4, 5 – различия достоверны при сравнении значений у животных с разной функциональной асимметрией: * $p < 0.001$; ** $p < 0.01$, *** $p < 0.05$

Проведенные исследования свидетельствуют о том, что выраженность регенераторных процессов у животных с различной функциональной асимметрией неодинакова.

Анализ K_M параметров регенерации интактных животных показал, что у «левшей» в отдельные периоды наблюдений ИР и СД значительно меньше, чем у «правшей». Так, на 6-е, 9-е – 11-е сутки наблюдения ИР примерно на 20 % ниже, чем у «правшей» (рис. 4,а).

СД интактных «левшей» также была меньше, чем у «правшей», и только на седьмые сутки эксперимента превышала данные, полученные у *R*-форм. Так же, как ИР, самая низкая скорость движения зарегистрирована на шестые и 12-е сутки (рис. 4,б).

Между СД и ИР как у *L*-, так и у *R*-форм обнаружена высокая корреляционная связь – $r = 0.8$ ($p < 0.001$).

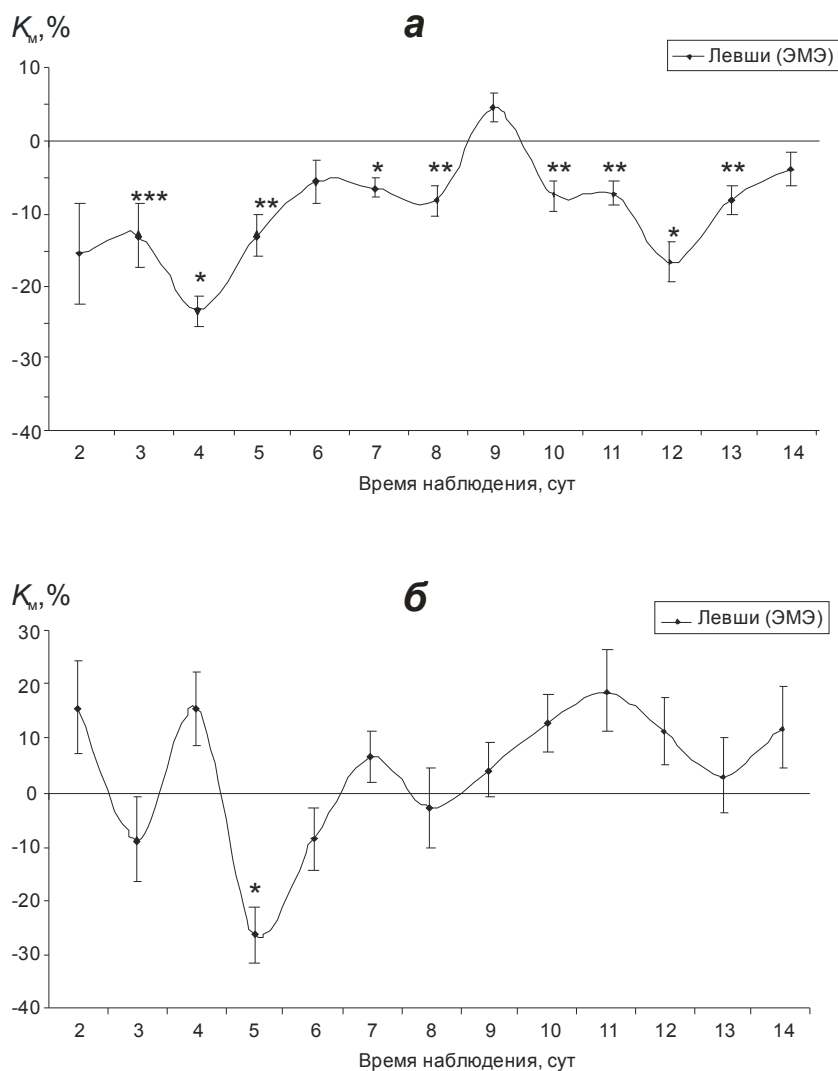


Рис. 5. Коэффициент модификации (K_M) параметров регенерации планарий группы «левшей» относительно животных группы «правшей», принятых за 0 %, которые были подвергнуты воздействию ослабленного ЭМП

а – индекс регенерации; *б* – скорость движения

Анализ K_M регенераторных процессов планарий с различной функциональной асимметрией, содержащихся в условиях ЭМЭ, показал, что ИР «левшей» превышает значения в группе «правшей» только лишь на девятые сутки, но эти данные статистически не достоверны. В остальные сроки наблюдения ИР в *L*-группе ниже, чем у *R*-форм (рис. 5,а).

Максимальное снижение СД «левшей», подвергавшихся влиянию ЭМЭ, относительно «правшей» выявляется на пятые сутки $\approx -26\%$ ($p < 0.001$). В остальные сроки наблюдения СД животных *L*-формы превышала значения изучаемого показателя в группе *R*-планарий, но эти данные были недостоверными (рис. 5,б).

Коэффициент корреляции между ИР и СД животных, содержащихся в условиях длительного ЭМЭ, несколько снижается в группе «правшей» до 0.6 ($p < 0.05$), а в группе «левшей» до 0.7 ($p < 0.001$). ЭМЭ приводит к стимуляции регенерационных процессов, о чем свидетельствует возрастание ИР и СД. Но больше этот процесс выражен у *R*-планарий.

Изменение параметров ноцицепции моллюсков *Helix albescens* при ЭМЭ. Как показали проведенные исследования, ослабленное ЭМП, создаваемое экранированием, вызывает фазные изменения ноцицепции у моллюсков *Helix albescens*. Начальная фаза изменений параметров ноцицептивной чувствительности моллюсков в условиях экранирования характеризовалась снижением порога (Π) и латентного периода (ЛП) реакции избегания (РИ) в течение 1-х – 8-х суток наблюдения соответственно от 30.4 до 29.48 °С и от 9.71 до 8.31 с. Достоверное снижение $K_{эф}$ было отмечено на 3-й день эксперимента, а минимальное его значение зарегистрировано на 6-е сутки, когда оно составило $-14.4 \pm 2.04\%$ ($p_2 < 0.001$) (рис. 6). Данные изменения характеризуют увеличение чувствительности моллюсков к действию термического раздражителя.

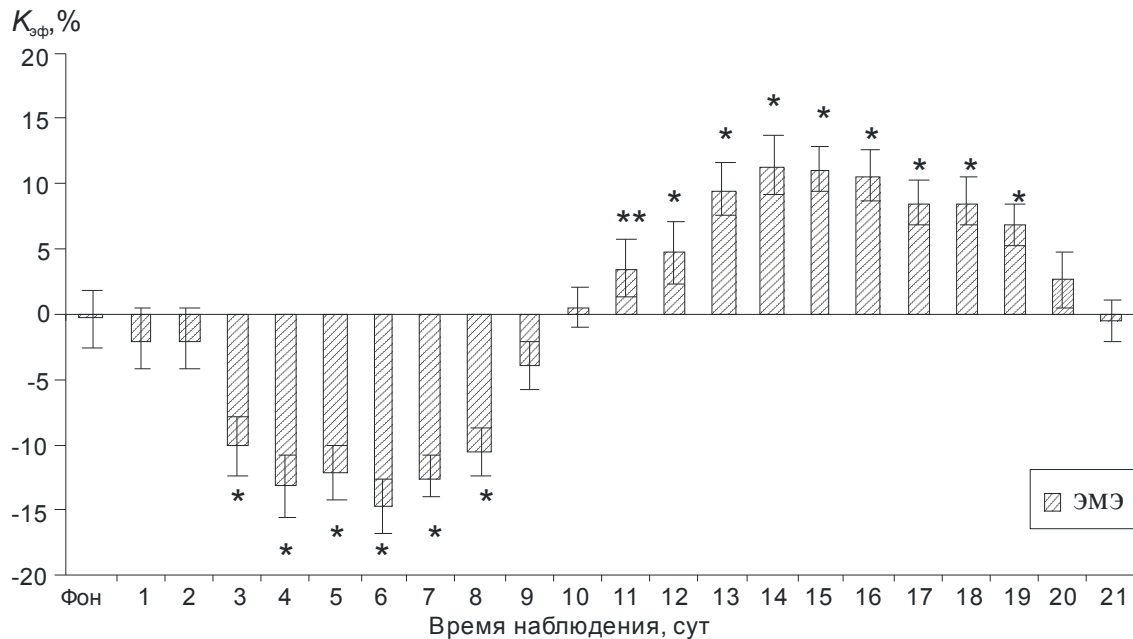


Рис. 6. Динамика ($\bar{x} \pm S\bar{x}$) коэффициента эффективности ЭМЭ. Звездочки – различия достоверны между данными у интактных моллюсков, принятых за 0%, и у животных, подвергнутых ЭМЭ: * $p < 0.001$; ** $p < 0.01$

После 9-х суток воздействия ЭМЭ чувствительность моллюсков к термическому раздражителю снижается, о чем свидетельствует возрастание показателей реакции избегания ($\Pi - 31.45 \pm 0.14$ °С, ЛП – 11.31 ± 0.21 с) относительно исходного уровня данных ($p_2 < 0.001$), что указывает на развитие антиноцицептивного эффекта. $K_{эф}$ приобретает положительный знак и достигает максимального значения $11.63 \pm 2.24\%$ ($p_2 < 0.001$) на 14-е сутки эксперимента. Последующие дни характеризовались постепенным снижением эффекта, и $K_{эф}$ возвращался к начальному уровню.

Таким образом, ЭМЭ вызывает фазные изменения: первая фаза заключалась в увеличении чувствительности к термическому раздражителю (гипералгезия), в последующем развивалась вторая фаза (гипоалгезия), которая сменялась стадией возвращения изучаемых показателей к исходному уровню – третья фаза.

Этот вывод согласуется с результатами исследования других авторов. В определенной степени сходные изменения были обнаружены у мышей линии CD-1 при их пребывании по 1 ч в день в течение 10 суток в экранирующем боксе из μ -металла, который ослаблял статическое магнитное поле до 1 мТл, а переменное магнитное поле с частотой 0–100 Гц – в 125 раз [Prato et al., 2005]. Ноцицептивная чувствительность возрастала по сравне-

нию с контролем и исходными значениями на 1-е–2-е сутки эксперимента (первая фаза), затем на 3-и–4-е сутки развивался антиноцицептивный эффект, достигая максимального значения на 5-е сутки, после чего показатели реакции избегания на 8-е сутки возвращались к исходному уровню. Е. Холерис и другие воспроизвели результаты Дел Сеппия и других исследователей [Del Seppia et al., 2000], однако использовали μ -боксы различного размера, формы и разных «выстилающих» материалов [Choleris et al., 2002]. Они описали также фазные изменения ноцицептивной чувствительности мышей C57, находившихся по 2 ч ежедневно в течение 10 дней в μ -боксе.

Эти данные подтверждаются также сведениями о том, что подобные изменения ноцицепции ЭМЭ вызывает у мышей разных линий (CD1 и C57) и у мышей одной линии в различных географических районах (Пиза, Лондон, Онтарио), тогда как ограничение их подвижности (стресс-фактор) стимулирует развитие стресс-индуцированной анальгезии только у мышей, используемых в Канаде, но не в Италии. Данное явление может быть связано с генетическими различиями мышей CD1, разводимых в этих странах [Cirulli et al., 2000]. Это подтверждает выводы многих авторов о том, что эффект изменения ноцицептивной чувствительности в условиях экранирования очень стойкий и легко воспроизводим.

Результаты проведенных экспериментов подтверждают этот вывод, однако продолжительность выделенных фаз изменений П и ЛП реакции избегания гораздо больше, что может быть объяснено меньшим ослаблением как статического, так и переменного магнитного поля сверхнизкочастотного диапазона в наших исследованиях по сравнению с другими экспериментами [Prato et al., 1996, 2000; Choleris et al., 2002].

Наблюдаемые нами изменения ноцицепции, возможно, связаны с ослаблением переменной составляющей магнитного поля экранированием. Эти данные находятся в полном соответствии с результатами Р.А. Вевера и Ф.С. Прато, которые применяли переменное магнитное поле для коррекции расстройств, вызванных ЭМЭ. Так, Р.А. Вевер [Wever, 1979] нормализовал циркадианный ритм ряда физиологических показателей у добровольцев, вызванный пребыванием в экранирующем бункере, дополнительным воздействием на них переменного магнитного поля частотой 10 Гц. Ф.С. Прато [Prato et al., 2009] добился нормализации ноцицептивной чувствительности животных, находившихся в экране, применением переменного магнитного поля частотой 120 Гц.

Кроме ослабления переменного магнитного поля важное значение имеет изменение соотношения интенсивности постоянного и переменного магнитных полей определенных диапазонов, т.е. изменение всего спектра действующих ЭМП.

Изменения интенсивности регенерации тела планарий и ноцицептивной реакции моллюсков в условиях действия измененного спектра естественных ЭМП могут быть объяснены на основе мелатониновой теории действия электромагнитных факторов.

Известно, что ЭМП различных параметров ингибирует синтез мелатонина [Reiter, 1993] и смещает акрофазу его секреции [Pflugger, Minder, 1996]. В результате этих изменений проявляются многочисленные физиологические эффекты воздействия электромагнитных факторов.

Мелатонин, являясь эволюционно древней молекулой, обнаружен у простейших организмов [Hardeland, 1999]. Как у планарий [Itoh et al., 1999], так и у моллюсков [Abran et al., 1994] выявлен не только мелатонин, но и его предшественник – серотонин, а также мелатонинсинтезирующие ферменты [Itoh et al., 1999], идентифицированные в головном ганглии, в нервных стволах и соединяющих их комиссурах.

Если закономерности синтеза мелатонина, его физиологическая активность схожи у позвоночных и беспозвоночных животных, то правомерно распространить представления об изменении его секреции под влиянием ЭМП, полученные на позвоночных, и на беспозвоночных животных.

Мелатонин – нейроэндокринный преобразователь сигналов внешней среды, благодаря чему он вовлекается в модуляцию разнообразных физиологических процессов. Мелатонин изменяет пролиферативную активность клеток, ингибируя их митотическую активность, с чем может быть связано изменение регенераторных процессов у планарий, модифицирует функции цитоскелета, вследствие чего, по-видимому, меняется двигательный аппарат клетки [Benítez-King, 2006], в частности ресничек [Truta et al., 2005], что в свою очередь отражается на скорости движения животных, а также обладает антиноцицептивным действием. Эти эффекты имеют выраженную сезонную зависимость, обусловленную изменением ритмики синтеза мелатонина. Следовательно, изменение концентрации мелатонина отражается на ИР, СД, ноцицептивной реакции, а также инфранианной ритмике.

Заключение

Как показали проведенные исследования, слабое электромагнитное экранирование стимулирует регенераторные процессы у планарий. Интенсивность стимуляции зависит от исходного состояния животных, определяемого сезоном года, а также от функциональной асимметрии. Кроме того, электромагнитное экранирование вызывает фазные изменения ноцицептивной чувствительности моллюсков: увеличение чувствительности к термическому раздражителю сменяется развитием антиноцицептивного эффекта.

Литература

- Бианки В.Л., Шейман И.М., Зубина Е.В. Предпочтение направления движения в Т-образном лабиринте у планарий // Журнал высшей нервной деятельности. 1990. Т. 40, № 1. С. 102–107.
- Биологические ритмы / Под ред. Ю. Ашофф. М.: Мир, 1984. 414 с.
- Богатина Н.И., Шейкина Н.В., Мартынюк В.С., Темурьянц Н.А., Павлюков Д.В. Метод получения крайне слабых постоянного магнитного и электрического полей и хорошо воспроизводимого комбинированного магнитного поля для биологических исследований // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Сер. Биология. Химия. 2010. Т. 23, № 2. С. 125.
- Боровиков В. Statistica. Искусство анализа данных на компьютере: Для профессионалов. 2-е изд. СПб.: Питер, 2003. 688 с.
- Вишневский В.Г., Костюк А.С., Темурьянц Н.А. Установка для определения параметров болевой чувствительности наземных моллюсков // Физика живого. 2009. Т. 17, № 2. С. 174–178.
- Голиков А.П., Голиков П.П. Сезонные ритмы в физиологии и патологии. М.: Медицина, 1973. 167 с.
- Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях. Страсбург, 18 марта 1986 г., глава III, статья 6.
- Крещенко Н.Д., Шейман И.М., Фесенко Е.Е. Исследование слабого электромагнитного излучения на регенерацию глотки у планарий *Dugesia tigrina* // Онтогенез. 2001. Т. 32, № 2. С. 148–153.

- Ланач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. Киев: Модмон, 2000. 408 с.
- Патент № 48095 Украины МПК51 А 01 К 61/00 / Темуриянц Н.А., Баранова М.М., Демцун Н.А. № U 200908540. Заявл.: 13.08.2009. Оpubл. 10.03.2010. Бюл., 1865.
- Темуриянц Н.А., Владимирский Б.М., Тишкин О.Г. Сверхнизкочастотные электромагнитные сигналы в биологическом мире. Киев: Наук. думка, 1992. 188 с.
- Темуриянц Н.А., Туманянц К.Н., Костюк А.С. Влияние различных экологических факторов на моллюсков // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Сер. Биология. Химия. 2010. Т. 23 (62), № 3. С. 159–166.
- Тирас Х.П., Сахарова Н.Ю. Прижизненная морфометрия планарий // Онтогенез. 1984. Т. 15, № 1. С. 42–48.
- Тирас Х.П., Сребницкая Л.К., Ильясова Е.Н., Леднев В.В. Влияние слабого комбинированного магнитного поля на скорость регенерации планарий *Dugesia tigrina* // Биофизика. 2007. Т. 52, № 2. С. 372–375.
- Фролов В.А., Чибисов С.М., Рапопорт С.И., Артемьева О.А. Хронобиология и хронокардиология. М.: Изд-во УДН, 1988. 244 с.
- Шмидт-Ниельсен К. Физиология животных: приспособление и среда. М.: Мир, кн. в 2-х т., 1982. 800 с.
- Abran D., Anctil M., Ali A. Melatonin activity rhythms in eyes and cerebral ganglia of *Aplysia californica* // Gen. and Comp. Endocrinol. 1994. V. 96, N 2. P. 215–222.
- Achaval M., Penha M.A.P., Swarowsky A., Rigon P., Xavier L.L., Viola G.G., Zancan D.M. The terrestrial Gastropoda *Megalobulimus abbreviatus* as a useful model for nociceptive experiments. Effects of morphine and naloxone on thermal avoidance behavior // Brazilian J. Medical and Biological Res. January 2005. V. 38, N 1. P. 73–80.
- Asashima M., Shimada K., Pfeiffer C.J. Magnetic shielding induces early developmental abnormalities in the newt, *Cynops pyrrhogaster* // Bioelectromagnetics. 1991. V. 12(4). P. 215–224.
- Benítez-King G. Melatonin as a cytoskeletal modulator: implications for cell physiology and disease // J. Pineal Res. 2006. V.40, N 1. P. 1–9.
- Choleris E., Del Seppia C., Thomas A.W., Luschi P., Ghione G., Moran G.R., Prato F.S. Shielding, but not zeroing of the ambient magnetic field reduces stress-induced analgesia in mice // Proceedings. Biological sciences. The Royal Society. 2002. V. 269. P. 193–201.
- Cirulli F., De Acetis L., Alleva L.E. Assessment of pain in rodents by using standard laboratory techniques: an ethological perspective aimed at reducing suffering // Progress in the reduction, refinement and replacement of animal experimentation / Eds. M. Balin, A.M. Zeller, M.E. Halden. Amsterdam: Elsevier, 2000. P. 1127–1135.
- Del Seppia C., Luschi P., Ghione S., Crosio E., Choleris E., Papi F. Exposure to a hypogeomagnetic field or to oscillating magnetic fields similarly reduce stress-induced analgesia in C57 male mice // Life Sci. 2000. V. 66 (14). P. 1299–1306.
- Hardeland R. Melatonin and 5-methoxytryptamine in non-metazoans // Reprod. Nutr. Dev. 1999. V. 39. P. 399–408.
- Itoh M., Shinozawa T., Sumi Y. Circadian rhythms of melatonin-synthesizing enzyme activities and melatonin levels in planarians // Brain Research. 1999. V. 830, N 1. P. 165–173.
- Jenrow K.A., Smith C.H., Liboff A.R. Weak extremely low frequency magnetic field – induced regeneration anomalies in the planarian *Dugesia tigrina* // Bioelectromagnetics. 1996. V. 17. P. 467–474.
- Kavaliere M., Hirst M., Teskey G.C. A functional role for an opiate system in snail thermal behavior // Science. 1983. V. 220. P. 99–101.
- Koziak A.M., Desjardins D., Keenlside L.D., Thomas A.W., Prato F.S. Light alters Nociceptive effects of magnetic field shielding // Bioelectromagnetics. 2006. V. 27. P. 10–15.

- Lohmann K.J., Willows A.O.D.* Lunar-modulated geomagnetic orientation by a marine mollusk // *Science*. 1987. V. 235. P. 331–334.
- Pflugger D.H., Minder C.E.* Effects of exposure to 16.7 Hz magnetic fields on urinary 6-hydroxymelatonin sulfate excretion of Swiss railway workers // *J. Pineal Res.* 1996. N 21. P. 91–100.
- Prato F.S., Kavaliers M., Carson J.J.L.* Behavioural evidence that magnetic field effects in the land snail, *Cepaea nemoralis*, might not depend on magnetite or induced electric currents // *Bioelectromagnetic.* 1996. V. 17. P. 123–130.
- Prato F.S., Kavaliers M., Cullen A.P., Thomas A.W.* Light-dependent and -independent behavioural effects of extremely low frequency (ELF) magnetic fields in a land snail are consistent with a parametric resonance mechanism (PRM) // *Bioelectromagnetics.* 1997. V. 18. P. 284–291.
- Prato F.S., Kavaliers M., Thomas A.W.* Extremely low frequency magnetic fields can either increase or decrease analgesia in the land snail depending on field and light conditions // *Bioelectromagnetics.* 2000. V. 2. P. 287–301.
- Prato F.S., Robertson J.A., Desjardins D., Hensel J., Thomas A.W.* Daily repeated magnetic field shielding induces analgesia in CD-1 mice // *Bioelectromagnetics.* 2005. V. 26. P. 109–117.
- Prato F.S., Desjardins-Holmes D., Robertson J.A., Keenlside L.D., Thomas A.W.* Introduction of a sinusoidal magnetic field into a hypogeomagnetic environment: effect on nociceptive behavior in CD-1 mice // *Annual Meeting of The Bioelectromagnetics Society and the European BioElectromagnetics Association, Davos, Switzerland, June 14–19, 2009.* P. 12–15.
- Reiter R.J.* The melatonin rhythm: both a clock and a calendar // *Experientia.* 1993. V. 49, N 8. P. 654–664.
- Truta Z., Neamtu S., Morariu V.* Zero magnetic field influence on in vitro human spermatozoa cells behavior // *Romanian J. Biophys.* 2005. V. 15. P. 73–79.
- Wever R.A.* *The Circadian system of man: results of experiments under temporal isolation.* New York: Springer, 1979. 276 p.

Сведения об авторах

ТЕМУРЬЯНЦ Наталья Арменаковна – доктор биологических наук, профессор кафедры физиологии человека и животных и биофизики, Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского. 95007, г. Симферополь, пр. Вернадского, д. 4. Тел.: (+380652) 60-86-05. E-mail: timur328@gmail.com

ДЕМЦУН Наталья Александровна – кандидат биологических наук, ассистент кафедры валеологии и безопасности жизнедеятельности человека, Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского. 95007, г. Симферополь, пр. Вернадского, д. 4. Тел.: (+380652) 60-86-05. E-mail: timur328@gmail.com

КОСТЮК Александра Сергеевна – аспирант кафедры физиологии человека и животных и биофизики, Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского. г. Симферополь, ул. Родионова, д. 16, кв. 4. Тел.: (+38050) 936-56-03. E-mail: alexkostyuk@mail.ru

ЯРМОЛЮК Наталья Сергеевна – аспирант кафедры физиологии человека и животных и биофизики, Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского. г. Симферополь, ул. Киевская, д. 104, кв. 1. Тел.: (+38050) 936-55-87. E-mail: nat_yarm@mail.ru

FEATURES OF REGENERATION OF PLANARIANS *DUGESIA TIGRINA* AND NOCICEPTION OF MOLLUSCS *HELIX ALBESCENS* UNDER WEAK ELECTROMAGNETIC SHIELDING

N.A. Temuryants, N.A. Demtsun, A.S. Kostyuk, N.S. Yarmolyuk

Taurida National V.I. Vernadsky University, Simferopol, Ukraine

Abstract. Found that weak electromagnetic shielding stimulates regenerative processes in planarians *Dugesia tigrina*, the intensity of stimulation depends on the initial state of the animals, defined seasons, and on their functional asymmetry. Revealed that the effect of weak electromagnetic field causes the phase changes of nociceptive sensitivity of the molluscs *Helix albescens*: increased sensitivity to thermal stimulus is replaced by the development hypoanalgetic effect.

Keywords: electromagnetic shielding, regeneration index, velocity of movement, functional asymmetry, nociception, planarians, molluscs.