

УДК 577.1

ОСОБЕННОСТИ РЕГЕНЕРАЦИИ ПЛАНАРИЙ *DUGESIA TIGRINA* ПРИ ИХ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОМ ЭКРАНИРОВАНИИ В РАЗЛИЧНЫЕ СЕЗОНЫ ГОДА

Темуриянц Н.А.¹, Демцун Н.А.¹, Мартынюк В.С.²

¹ Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского

² Киевский национальный университет имени Тараса Шевченка

Поступила в редакцию 10.10.2008

Исследовано влияние электромагнитного экранирования на процессы регенерации планарий в различные сезоны года. Длительное электромагнитное экранирование планарий зимой приводит к возрастанию индексов регенерации во все сроки наблюдения в 1,5 – 2 раза, летом – только на четвертые, седьмые, восьмые сутки на 20%. Скорость регенерации в зимний период возрастает в 2 – 2,5 раза, во все сроки наблюдения, а в летний – только на шестые и седьмые сутки в три раза, возрастание периодической составляющей в динамике скорости регенерации как и сроков формирования глаз гораздо ярче выражены зимой. Кратковременное электромагнитное экранирование планарий зимой вызывает возрастание индексов регенерации на шестые и десятые сутки на 10, 18%, летом – снижение на 10-12% на восьмые и девятые сутки. Скорость регенерации зимой возрастает в два раза, летом снижается на 12%. Возрастание периодической составляющей в динамике скорости индексов регенерации более ярко выражено зимой, в это же время сроки формирования глаз сокращаются, летом – не изменяются.

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

ВВЕДЕНИЕ

Ранее нами было показано, что электромагнитное экранирование регенерирующих планарий изменяет параметры их регенерации [1]. Выраженность этих изменений зависит от продолжительности экранирования. Как известно эффекты воздействия различных факторов зависят не только от их параметров, но и от исходного функционального состояния биологической системы [2]. Плохо изученной остается проблема сезонной зависимости биологической эффективности электромагнитного экранирования, связанная с годовой ритмикой биологических процессов, когда функциональное состояние организма человека и животных существенно различается. В связи с этим целью исследования был сравнительный анализ влияния электромагнитного экранирования на регенерацию планарий *Dugesia tigrina* в различные сезоны года.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использована лабораторная бесполоя раса планарий *Dugesia tigrina*, привезенная из Института биофизики клетки (ИБК) РАН, а в настоящее время успешно культивируемая и в Таврическом национальном университете им. В.И. Вернадского. Планарии культивируются 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°C. Кормление планарий осуществляется один раз в неделю личинками двукрылых (мотылем). Кормление прекращается за семь дней до эксперимента. Условия культивирования полностью соответствуют таковым, соблюдаемым в ИБК РАН.

Было проведено две серии экспериментов в различные сезоны года: первая серия в зимнее время (февраль 2008 г.), вторая - в летнее (июнь 2008 г.). Для обоих экспериментов отбирали животных длиной $\approx 10 \pm 1$ мм.

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

В обеих сериях экспериментов декапитированные планарии делились на три группы по 25 особей каждая. Животные каждой группы помещались в стеклянные стаканы, содержащие по 50 мл воды (смесь дистиллированной и водопроводной воды в пропорции 1/1).

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

Животные второй группы подвергались длительному электромагнитному экранированию (по 23 часа в сутки в течение десяти дней). Ежедневно в течение одного часа (всегда в одно и то же время - с 10 до 11 час.) проводили контроль регенерационных процессов, измерение температуры воды и т.д.

Третью группу составили животные подвергавшиеся кратковременному экранированию (ежедневно в течении одного часа (с 10 до 11 час.)), а остальное время суток они находились в условиях, одинаковых с животными контрольной группы. Для животных всех групп в течении обоих экспериментов поддерживался одинаковый режим освещенности, температуры.

Для оценки динамики роста регенерационной почки (бластемы) планарий применяли метод прижизненной морфометрии, использующий компьютерные технологии анализа изображений [3, 4].

Подробное описание установки для прижизненной морфометрии, используемой в настоящем исследовании, представлено в наших предыдущих работах [5]. 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. Кроме того, подсчитывали скорость регенерации, т.е. изменение индекса регенерации за сутки (усл.ед./сутки), сроки появления пигментированных участков на месте будущих глаз, время появления сформированных глаз.

Обработка изображений регенерирующих планарий всех групп проводилась слепым методом.

Экранирующая камера представляет из себя комнату размером 2 x 3 x 2 метра, изготовленную из двухслойного железа «Динамо». 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. Ослабление переменного магнитного поля в диапазоне крайне низких частот

составляет порядка от 2 раз для вертикальной составляющей и до 7 раз для горизонтальной.

Обработку экспериментальных данных проводили с помощью непараметрических методов. Статистическая обработка материала проводилась вычислением медианы (М), интерквантильного интервала между 25м и 75м процентилями, включающим 50% значений признака в выборке. Для анализа скорости регенерации проводили анализ кумулятивных данных. 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 Excell [6], программного пакета «STATISTICA – 6.0» [7].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как показали результаты проведенных исследований, регенерация интактных планарий в различные сезоны года имеет определенные особенности. Так, летом уже в первые сутки эксперимента индекс регенерации был на 67% ($p<0,05$) выше, чем зимой, а с третьих по десятые сутки эксперимента он превышал данные зимних экспериментов в 2,0 – 2,5 раза ($p<0,05$) (рис.1).

Летом зарегистрирована и более высокая, чем зимой скорость регенерации. В первый день этот показатель был больше в 3,5 раза и эти различия возрастали с увеличением сроков наблюдения, так как скорость регенерации возрастала с каждым днем (рис.4). Летом в динамике скорости регенерации обнаруживается ярко выраженная периодическая составляющая (рис.2 А).

Зимой периодический характер изменения скорости регенерации плохо выражен (рис. 2 А). Ее значения со вторых по восьмые сутки наблюдения гораздо ниже чем летом, а кумулятивная кривая имела тенденцию к росту со вторых по девятые сутки эксперимента (рис. 4). Таким образом, скорость регенерации в зимних и летних экспериментах, так же как и индекс регенерации существенно различались: летом она была значительно выше и возрастала с увеличением сроков эксперимента. Зимой в течение десяти дней была отмечена лишь тенденция к ее росту. Кроме того, зимой периодическая составляющая плохо выражена (рис.2 А).

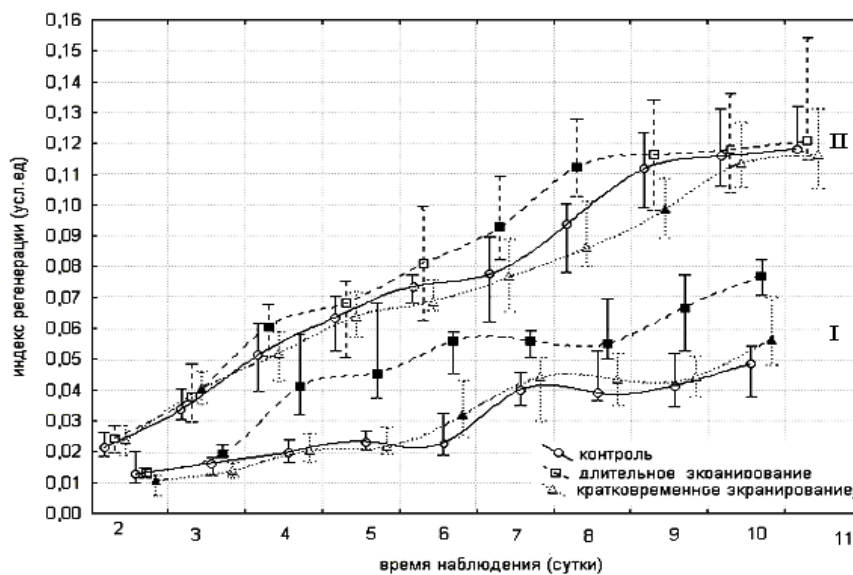


Рис.1. Динамика индекса регенерации планарий в зимний (I) и летний (II) сезоны в различных экспериментальных группах.

Примечания: заштрихованные точки - $p < 0,05$ по сравнению с данными соответствующей контрольной группы; не заштрихованные - $p > 0,05$.

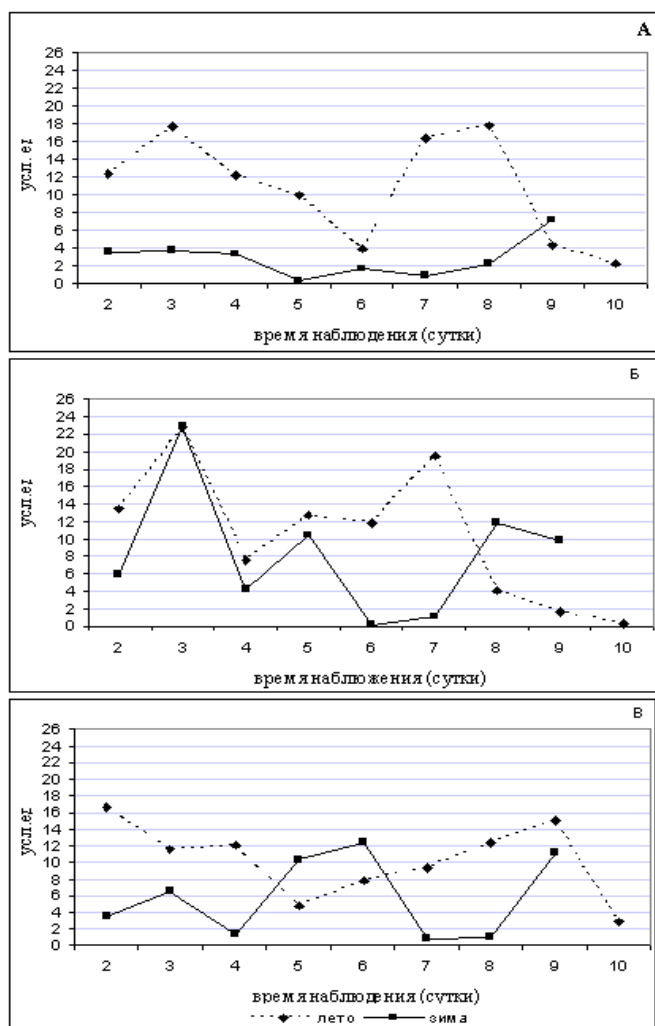


Рис.2. Динамика скорости регенерации в зимней (I) и летней (II) серии экспериментов.

Примечания: А – контрольная группа животных; Б – длительное экранирование; В – кратковременное экранирование.



Рис.3. Динамика скорости регенерации в зимней (А) и летней (Б) серии экспериментов в процентах относительно контроля.

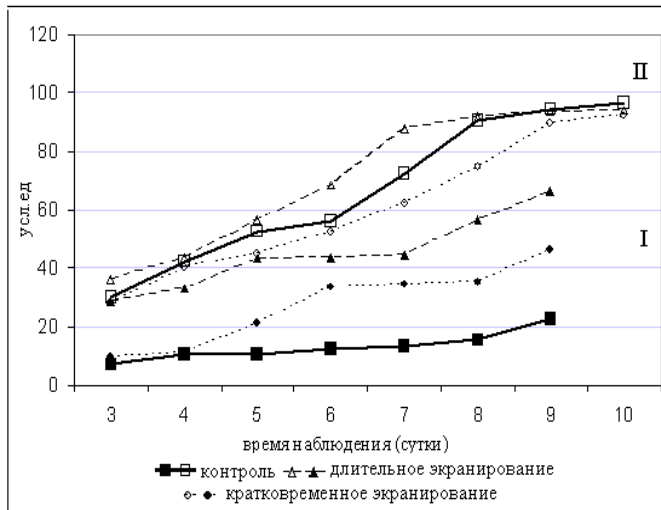


Рис. 4. Кумулятивные кривые скорости регенерации в зимней (I) и летней (II) сериях экспериментов.

Анализ сроков появления глаз также выявил различия в летних и зимних экспериментах. В опытах, проведенных зимой, пигментация на месте будущих глаз появлялась у 12% животных на пятые сутки опыта. Число планарий с этим признаком регенерации медленно возрастало с каждым днем эксперимента и достигало 70% на десятые сутки. В этот срок у 10% животных зарегистрированы полностью сформированные глаза (рис.5А).

Летом пигментация на месте будущих глаз регистрируется на два дня раньше, чем зимой (на третьи сутки у 12% планарий) и уже на пятые сутки у 50% особей обнаруживается этот признак. Полностью сформированные глаза зарегистрированы уже на пятые сутки у 8%, а на седьмые сутки у всех планарий. Таким образом, зимой на десятые сутки опыта глаза обнаружены у 10% особей, летом – у 100%. Важно отметить, что зимой к десятым суткам эксперимента у 30% планарий еще нет никаких признаков образования глаз (рис.5А).

Таким образом, летом во все сроки наблюдения отмечены более высокие индексы и скорости регенерации, чем зимой, скорость регенерации летом прогрессивно возрастает от вторых к десятым суткам эксперимента, зимой – имеется лишь тенденция к ее росту. Летом в скорости индекса регенерации отчетливо проявляется ритмическая составляющая, которая зимой практически не проявляется. Кроме того, летом раньше, чем зимой формируются глаза, причем синхронно у большинства животных, зимой этот процесс значительно растянут во времени.

Пребывание планарий в гипобагнитной среде приводило к изменениям показателей, характеризующих процесс регенерации. Так, в экспериментах, проведенных и зимой, и летом у планарий, находящихся в экранирующей камере по

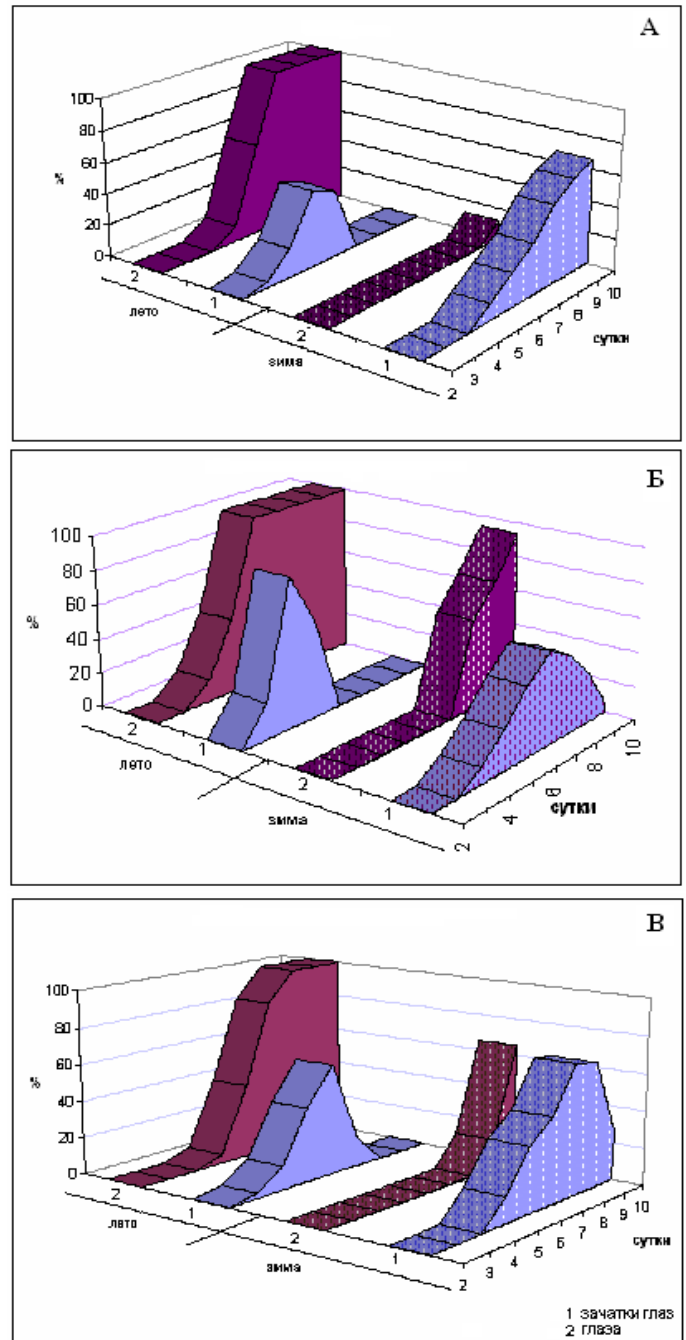


Рис. 5. Доля животных с первичной пигментацией глаз (1) и полностью сформированными глазами (2) в контрольных группах животных (А), в группах животных, подвергнутых длительному (Б) и кратковременному (В) экранированию (в процентах, относительно общего числа животных в группе) в различные сезоны года.

23 часа в сутки, обнаружено возрастание индексов регенерации по сравнению с контрольными данными (рис.1). Зимой с третьих по шестые сутки этот показатель возрос в 1,9-2,5 раза ($p < 0,05$) по сравнению с данными контрольной группы, а с седьмых по десятые сутки в 1,4 – 1,6 раза ($p < 0,05$). Летом это возрастание было выражено гораздо меньше: только на четвертые, седьмые и восьмые

сутки индекс регенерации был достоверно на 18 и 20% выше контрольных данных, в другие сроки отмечена лишь тенденция к его возрастанию. Скорости регенерации так же возрастали в обоих экспериментах, но более значительно – зимой (рис.2Б, рис.3А). Скорость ежедневно нарастала, в отличие от контроля зимней серии экспериментов, регистрировалась ярко выраженная периодическая составляющая (рис.2Б, 3Б), выявленная и в летних экспериментах.

Возрастание индексов и скорости регенерации при длительном пребывании планарий в гипомагнитных условиях сопровождалось более ранним, чем в контрольной группе развитием глаз, причем зимой этот эффект выражен ярче, чем летом. Так, летом полностью сформированные глаза регистрировались у 100% животных на шестые сутки, что на одни сутки раньше, чем в контрольной группе, а зимой на десятые сутки эксперимента глаза обнаруживались у 100% планарий, тогда как в контрольной группе этот признак регенерации регистрировался только у 10% животных (рис. 5Б).

Таким образом, регенерация планарий, находящихся по 23 часа в сутки в гипомагнитной среде, характеризуется более высокими индексами и скоростями регенерации, ритмическими изменениями скорости регенерации, и ее прогрессирующими возрастаниями в течение эксперимента, более ранним развитием глаз. Все эти изменения выражены гораздо ярче зимой.

У планарий, подвергавшихся кратковременному периодическому экранированию (по одному часу в сутки в течении 10 дней) также обнаружены изменения регенераторных процессов. Однако в отличие от длительного экранирования эти изменения носили фазный характер, в течение которых имели место разнонаправленные сдвиги индекса регенерации зимой и летом (рис.1). В зимнем эксперименте обнаружено снижение индекса регенерации на 18% ($p<0,05$) на вторые сутки эксперимента, в летнем - его возрастание на 20% ($p<0,05$) на третьи сутки опыта. В дальнейшие сроки наблюдения зимой индекс регенерации возрастал на 40 и 18% ($p<0,05$) на шестые и десятые сутки эксперимента соответственно, а летом имело место уменьшение этого показателя на восьмые - девятые сутки на 8-12 % ($p<0,05$). Таким образом, изменения индексов регенерации в различное время наблюдения зимой и летом были разнонаправлены, но более выражены зимой.

Скорость регенерации в зимнем эксперименте возрастала по сравнению с данными контрольной группы, выявлен более значительный ее рост в течении эксперимента по сравнению с контролем, а так же появление ярко выраженной ритмической

составляющей (рис 2В, рис.3А,Б, рис.4). В летних экспериментах отмечена тенденция к снижению скорости индекса регенерации, но направленность изменений (возрастание с увеличением сроков наблюдения), а также периодический характер изменений сохранялись.

Динамика развития глаз при кратковременном периодическом экранировании также менялась по разному. Зимой глаза формировались в условиях экранирования быстрее (на десятые сутки глаза зарегистрированы у 60% животных, в контроле у 10%), летом – появление глаз у 100% животных обнаружено на сутки позже, чем в контрольной группе. Таким образом, развитие глаз в зимний период в условиях кратковременного экранирования протекает быстрее, чем летом (рис 3В).

Таким образом, кратковременное пребывание планарий в гипомагнитной среде меняет показатели их регенерации, эти изменения более выражены зимой, чем летом.

Итак, результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что гипомагнитное поле изменяет параметры регенерации у планарий, но в различные сезоны года эти изменения выражены по-разному.

Полученные нами данные о зависимости степени изменений регенераторных процессов от сезона года согласуются с имеющимися литературными данными. Так, обнаружена различная продолжительность сна у мышей при введении барбитуратов [8] в различные сезоны года. Этот показатель колебался от 190 до 470 минут осенью и весной соответственно.

И.Г. Власовой и др. (1988) [9] изучена активность нейронов мозжечка при введении пенициллина в разные сезоны года. Весной обнаружено место начальное торможение активности нейронов на 20-30%, затем - судорожная активность с последующим 30% угнетением, осенью – увеличение активности на 20-30%, с последующей судорожной активностью и 30% угнетением. Описаны неодинаковые изменения основного обмена, температура тела, артериального давления при приеме элеутерококка [10], жень-шеня [11] в различные сезоны года. Описана различная эффективность санаторно-курортного лечения больных ишемической болезнью сердца, язвенной болезнью желудка весной и осенью [12].

Подобная зависимость может быть объяснена сезонной динамикой физиологических процессов, которая меняет исходное функциональное состояние системы, на которую действуют факторы различной природы и интенсивности.

В условиях проведенных опытов летом у планарий регистрировались более высокие индексы

регенерации, которые превышали зимние значения этого показателя в различные сроки наблюдения на 107-220%. Согласно закону начальных значений, функцию тем легче модулировать, чем меньше она отклонена от среднего. При больших значениях индекса и скорости регенерации, наблюдаемых летом, следует ожидать и менее выраженного роста этих показателей под влиянием различных факторов, что и наблюдалось в настоящем исследовании при длительном и кратковременном экранировании.

В зимних экспериментах, когда исходный уровень регенерации был значительно ниже, эффективность длительного электромагнитного экранирования возростала.

Такая же закономерность прослеживается и при анализе результатов кратковременного экранирования, которое вызывает гораздо менее выраженные эффекты, чем длительное пребывание планарий в экранирующей камере, что полностью согласуется с имеющимися литературными данными о зависимости биологической эффективности физических факторов малой интенсивности от продолжительности воздействия [13,14].

Полученные нами данные о более выраженном эффекте электромагнитного экранирования зимой согласуются с имеющимися литературными данными. Так, подробно изучена зависимость уровня статистической значимости реакции организма при воздействии слабого переменного магнитного поля (ПеМП) частотой 8 Гц от сезона года [15]. Оказалось, что при прочих равных условиях наиболее выраженные изменения различных физиологических показателей при действии ПеМП регистрируются в феврале, марте. Начиная с июня и до октября эффекты действия ПеМП для большинства показателей перестают быть статистически значимыми.

Менее выраженные эффекты действия гипомангнитного поля летом по-видимому, связаны с тем, что в этот период организмы различной степени сложности обладают максимальной резистентностью к действию большинства факторов внешней среды [8].

Таким образом, результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что изменение параметров регенерации планарий при электромагнитном экранировании зависит от сезона года. Эти изменения более выражены зимой чем летом. Полученные данные могут быть использованы при планировании экспериментальных исследований.

ВЫВОДЫ

1. Эффективность электромагнитного экранирования, оцениваемая по параметрам регенерации планарий, зависит от сезона года. Наиболее выраженные изменения регенерации наблюдаются в зимний период.
2. Стимуляция регенераторных процессов у планарий при длительном электромагнитном экранировании более выражена зимой, чем летом, о чем свидетельствует более значительные возрастания индексов регенерации, скорости регенерации и снижение сроков формирования глаз.
3. Кратковременное электромагнитное экранирование вызывает разнонаправленные изменения регенераторных процессов у планарий, которые носят фазный характер. Выраженность фаз и степени изменений регенераторных процессов ярче проявляется зимой, чем летом.

Авторы выражают благодарность сотрудникам ИБК РАН Ледневу В.В., Беловой Н.А., Ермакову А.М., Тирасу Х.П., Шейман И.М. за помощь в освоении методов культивирования и изучения регенерации планарий.

Литература

1. Демцун Н.А., Махонина М.М., Темурьянц Н.А., Мартынюк В.С. Влияние электромагнитного экранирования различной продолжительности на регенерацию планарий *Dugesia tigrina* // Физика живого. – 2008. – Т.16. -№1.- С. 68-73.
2. Пресман А.С. Электромагнитные поля и живая природа – М. Наука 1968. -288с.
3. Тирас Х.П., Сахарова Н.Ю. Прижизненная морфометрия планарий // Онтогенез. – 1984. – Т 15, №1. – С. 42-48
4. Тирас Х.П., Хачко В.И. Критерии и стадии регенерации у планарий // Онтогенез. – 1990. – Т 21. – С. 620-624.
5. Вшиневский 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.
6. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. – К.: Модмон, 2000. – 319 с.
7. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica. М.: МедиаСфера, 2006. – 312 с.
8. Голиков А.П. Сезонные ритмы в физиологии и патологии. М. Медицина, 1973. – 156с
9. Власова И.Г., Ли А.В., Фролов В.А. Влияние инфранизкочастотного магнитного поля на устойчивость нервных клеток к гипоксии // Патол.

- Физиология и эксперим. Терапия. – 1988. - №3. – С. 17 – 21.
10. Дардымов И. В., Кириллов О. И., Юргенс И. Л. Новые данные о нормализующем действии элеутерококка. — В кн.: Материалы XXII научн. сессии Хабаровского мед. ин-та. Хабаровск, 1965. - С. 216-218.
11. Блехман И.И. Синхронизация в природе и технике. – М:Наука, 1981. – 352 с.
12. Оранский И. Е. Природные лечебные факторы и биологические ритмы. – М: Медицина.-1988 - 220 с.
13. Темурьянц Н.А. О биологической эффективности слабого ЭМП инфранизкой частоты // Проблемы космической биологии 1982 Т.43. – С.128 -139.
14. Темурьянц Н.А., Владимирский Б.М., Тишкин О.Г. Сверх низкочастотные электромагнитные сигналы в биологическом мире. – Киев: Наукова думка, 1992. – 188 с.
15. Макеев В.Б. , Темурьянц Н.А., Владимирский Б.М. Физиологически активные инфранизкочастотные магнитные поля. // Электромагнитные поля в биосфере. Т. 2. Биологическое действие электромагнитных полей. – М.: Наука, 1984. – С. 62-82.

ОСОБЛИВОСТІ РЕГЕНЕРАЦІ ПЛАНАРІЙ *DUGESIA TIGRINA* ПРИ ЇХ ЕЛЕКТРОМАГНІТНОМ ЕКРАНУВАННІ У РІЗНІ СЕЗОНИ РОКУ

Темур'янц Н.А., Демцун Н.А., Мартинюк В.С.

Досліджено вплив електромагнітного екранування на процеси регенерації планарій в різні сезони року. Тривале електромагнітне екранування планарій взимку призводить до зростання індексів регенерації у всі терміни спостереження в 1,5 - 2 рази, влітку - тільки на четверту, сьому, восьму добу на 20%. Швидкість регенерації в зимовий період зростає в 2 - 2,5 рази, протягом всіх термінів спостереження, а в літній - тільки на шосту та сьому добу в три рази, зростання періодичної складової в динаміці швидкості регенерації як і термінів формування очей набагато яскравіше виражені взимку. Короткочасне електромагнітне екранування планарій зимою викликає зростання індексів регенерації на шосту та десятую добу на 10, 18%, влітку - зниження на 10-12% на восьму і дев'яту добу. Швидкість регенерації взимку зростає в два рази, влітку знижується на 12%. Зростання періодичної складової в динаміці швидкості індексів регенерації спостерігається взимку, у цей же час терміни формування очей скорочується, влітку - не змінюється.

Ключові слова: електромагнітного екранування, регенерація, *Dugesia tigrina*.

FEATURES REGENERATION IN PLANARY *DUGESIA TIGRINA* UPON ELECTROMAGNETIC SHIELDING IN DIFFERENT SEASONS OF YEAR

Temurjants N.A., Demtsun N.A., Martynyuk V.S

The effect of electromagnetic shielding for the regeneration process of planarians is analyzed in various seasons of the year. Long electromagnetic shielding of planarians in winter leads to the indexes increase of regeneration in all observation terms 1.5 - 2 times, in summer - only on the fourth, seventh, eighth day in 20%. The speed of regeneration in winter increases in 2 - 2.5 times in all observation terms, and in summer - only on the sixth and seventh day in 3 times, the increase of the periodic component in the dynamics of the regeneration speed as and the formation term for the eyes is brighter expressed in winter. Short-term electromagnetic shielding of planarians in winter causes the indexes increase of regeneration on the sixth and tenth day in 10,18%, in summer - the decline in 10-12% on the eighth and ninth day. The regeneration speed in winter grows twofold, during the summer declines in 12%. The increase of the periodic component in the dynamics of the regeneration speed indexes is more expressed in winter, at the same time observation terms for the eyes is reduced, in summer - is not changed.

Key words: electromagnetic shielding, *Dugesia tigrina*, regeneration.
