

УДК 613.168:612.884.594.38

ДИНАМИКА БОЛЕВОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ МОЛЛЮСКОВ *HELIX* *ALBESCENS* В УСЛОВИЯХ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ЭКРАНИРОВАНИЯ

Костюк А.С., Темурьянц Н.А.

*Таврический национальный университет им.В.И.Вернадского, Симферополь, Украина,
e-mail: timur@crimea.edu*

Показано, что эффект продолжительного электромагнитного экранирования (1 час в день в течение 30 суток) характеризуется фазовыми изменениями параметров болевой чувствительности моллюсков: I фаза – уменьшение болевого порога и латентного периода (гипераналгезия), II фаза – увеличение изучаемых параметров (аналгетический эффект), III фаза – возвращение к уровню исходных данных, IV фаза – стабилизация параметров на уровне, превышающий исходный на 2-9%.

Ключевые слова: электромагнитное экранирование, болевая чувствительность, *Helix albescens*.

ВВЕДЕНИЕ

Одной из актуальных проблем современной биофизики является изучение эффектов ослабленного электромагнитного поля (ЭМП). Это связано как с потребностью определения роли естественного ЭМП различных параметров в процессах жизнедеятельности, так и с необходимостью изучения последствий пребывания организмов различной степени сложности в таких условиях, что имеет важное практическое значение.

Показано, что ответную реакцию организмов на действие ЭМП адекватно характеризует состояние болевой чувствительности. Ее изменения под влиянием ЭМП были обнаружены у животных многих видов и человека [1 – 6].

Болевая чувствительность изменяется при действии ЭМП различных параметров: электромагнитных излучений крайне высокой частоты [3, 7], переменных магнитных полей сверхнизких частот (ПемП СНЧ) [1, 8], радиочастот [9]. Обнаружены изменения болевой чувствительности во время магнитных бурь [10], а также взаимосвязь латентных периодов (ЛП) болевых реакций с уровнем солнечной активности, определяемого Ap-индексом [11]. Ослабленное магнитное поле, создаваемое экранированием, также изменяет болевую чувствительность. В частности, изменения ЛП болевой реакции при экранировании описано М. Kavaliers et al. у мышей и моллюсков [1]. Кроме того, обнаружено, что в этих условиях снижается стресс-индуцированная аналгезия [12]. Однако в этих исследованиях изменения параметров болевой

чувствительности изучены только при кратковременном электромагнитном экранировании (ЭМЭ) животных в течение непродолжительного периода (10 дней), тогда как ее изменения при продолжительном экранировании не исследованы. Между тем в естественных условиях, как правило, имеет место хроническое воздействие указанного фактора. В связи с изложенным целью исследования явилось изучение изменений параметров болевой чувствительности у моллюсков (*Helix albescens*) при их продолжительном ЭМЭ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования выполнены на наземных брюхоногих моллюсках *Helix albescens*, широко распространенных на территории Крымского полуострова и используемых в экспериментах для решения актуальных задач физиологии и биофизики. Сбор улиток производился в поле, вдали от предприятий, линий электропередач. Использовались половозрелые особи, одинаковые по массе и размерам. До эксперимента улитки не менее одной недели находились в активном состоянии.

Ослабление ЭМП достигалось применением экранирующей камеры, конструкция которой описана ранее [13]. В камере соблюдались затемненные условия.

О состоянии болевой чувствительности животных судят по болевому порогу (БП) и ЛП в тесте «горячая пластинка». Обычно в экспериментах используются металлические горячие пластинки, нагреваемые горячей водой [14, 15] и обладающие высокой теплопроводностью, что не позволяет медленно изменять их температуру и, следовательно, фиксировать ее минимальное значение (порог), при котором начинается реакция избегания. Для определения БП была создана специальная установка [16], особенностью которой является горячая пластинка из стекла, на нижнюю поверхность которого методом распыления в вакууме нанесен нитрид титана. Такая конструкция позволяет медленно изменять температуру пластинки (скорость нагрева стекла 0,2 °/сек-0,4 °/сек при изменениях тока на контактах в пределах 0,35 – 0,55 А) и измерять БП и ЛП.

Для определения влияния ЭМЭ на параметры болевой чувствительности моллюсков делили на две равноценные группы по 20 особей в каждой. Опыты проведены с 19.05.09 г. по 18.06.09 г. Животные обеих групп находились в условиях естественной освещенности (продолжительность фаз свет-темнота (L:D) составила 15:9 ч с восходом Солнца в первый день эксперимента в 4:11 ч по местному времени и закатом в 19:10 ч), влажности и температуры воздуха ($t=22\pm 2^\circ\text{C}$). Животные первой группы – биологический контроль – находились в стандартных лабораторных условиях. Животные второй группы в течение одного часа помещались в экранирующую камеру в середине световой фазы (с 10:00 до 11:00 ч.), а остальное время суток находились в условиях, одинаковых с моллюсками интактной группы. Во время экранирования моллюсков второй группы животные контрольной группы находились в затемненных условиях. Регистрацию параметра болевой чувствительности проводили ежедневно у каждого животного после окончания экранирования (11:00-12:00 ч) на протяжении 30 дней.

Для анализа эффекта воздействия ЭМЭ на параметры болевой чувствительности был использован коэффициент эффективности [8]:

$$K_{эф} = ((ЛП_{контр.} - ЛП_{экр.})) / ЛП_{контр.} * 100\%;$$

где $K_{эф}$ – коэффициент эффективности воздействия ЭМЭ, $ЛП_{контр.}$ – среднее значение ЛП моллюсков контрольной группы, $ЛП_{экр.}$ – среднее значение ЛП у животных, подвергнутых ЭМЭ.

Этот коэффициент выводился в каждый день эксперимента.

Статистическую обработку и анализ материала проводили с помощью параметрических методов, применение которых позволила проверка полученных данных на закон нормального распределения. Вычисляли среднее значение исследуемых величин, ошибку средней. Для оценки достоверности наблюдаемых изменений использовали t-критерий Стьюдента. Оценивалась достоверность различий параметров болевой чувствительности в каждый день между данными контрольной и экспериментальной группы (p_1), между исходными данными и данными каждого дня (p_2). За достоверную принимали разность средних при $p < 0,05$. Расчеты и графическое оформление полученных в работе данных проводились с использованием программы Microsoft Excel [17].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что БП у интактных животных колебался в пределах от 29,71°C до 31,38°C, ЛП – от 8,67 сек до 11,2 сек. Параметры болевой чувствительности в течение 30-тисуточного эксперимента с циклом L:D=15:9ч в среднем составили БП – 30,74±0,07°C, ЛП – 10,22±0,11 сек. В литературе существуют сведения о величине ЛП на ноцицептивное раздражение у моллюсков других видов. Согласно Frank S. Prato [14], у моллюсков *Cerata nemoralis* ЛП реакции избегания при температуре 40,0±0,2°C составляет 4,8-6,5 сек, что несколько меньше значений, зарегистрированных нами. Это может быть связано как с различной конструкцией пластинки, так и с видовыми различиями используемых в эксперименте моллюсков. Кроме того, в исследованиях F. Prato ЛП измерялся при $t = 40^\circ\text{C}$, тогда как в наших опытах ЛП определялся при минимальном значении температуры, при которой развивается реакция избегания.

В начале эксперимента параметры болевой чувствительности у моллюсков обеих групп совпадали. У интактной группы животных в течение 2-4 суток эксперимента отмечено снижение ЛП до 9,83 сек, т.е. на 11,6% относительно исходного уровня ($p_2 < 0,05$) (рис. 1). В дальнейшие сроки наблюдения этот показатель возрастал и в течение 6-14 суток эксперимента оставался стабильным.

С 15 по 16 сутки эксперимента наблюдалось достоверное снижение ЛП до 8,67±0,3 сек или на 20,39% относительно исходных данных, в течение 17-23 суток эти показатели постепенно возрастали, достигая начального уровня, а в дальнейшем имела место тенденция к снижению изучаемого параметра.

Динамика параметров болевой чувствительности моллюсков, подвергнутых ЭМЭ, отличалась от таковой контрольных животных. Результаты эксперимента свидетельствуют о фазных изменениях ЛП и БП у моллюсков при их длительном пребывании в условиях экранирования. В течение 1-5 суток наблюдения ЛП постепенно снижался, достигая минимума на 5 сутки. В этот срок эксперимента его

значения составили $8,77 \pm 0,45$ сек, БП – $29,78 \pm 0,3^\circ\text{C}$, тогда как в контрольной группе животных зарегистрирован ЛП – $9,83 \pm 0,44$ сек и БП – $30,5 \pm 0,3^\circ\text{C}$. Таким образом, ЛП снижался на 22,5%, БП – 5,33% относительно исходного уровня данных ($p_2 < 0.05$).



Рис. 1. Динамика ЛП у интактных моллюсков и животных, подвергнутых ЭМЭ. Примечание: * - достоверность различий ($p_1 < 0.05$) относительно значений контрольной группы

Значительное снижение ЛП как относительно данных контрольной группы, так и исходного уровня зарегистрировано и на 6 сутки эксперимента, однако они несколько превышали данные 5 суток исследования.

Следующая фаза заключалась в постепенном возрастании ЛП и БП. Этот процесс продолжался в течение 6-13 суток эксперимента. На 13 сутки ЛП достигал $11,9 \pm 0,49$ сек, БП – $31,82 \pm 0,32^\circ\text{C}$, тогда как у контрольной группы животных ЛП был равен $10,28 \pm 0,24$ сек, БП – $30,78 \pm 0,16^\circ\text{C}$, т.е. ЛП возрастал на 13,6%, БП – 3,3% ($p_1 < 0.05$) относительно данных интактной группы моллюсков. В последующие сроки исследования наблюдалось постепенное снижение ЛП и БП у животных экспериментальной группы по сравнению с контрольной.

Таким образом, в течение 14-18 суток эксперимента параметры болевой чувствительности постепенно достигали значений интактной группы животных, а на 20 сутки изучаемые показатели достигали данных контрольной группы, и эти изменения составили III фазу изменений показателей болевой чувствительности моллюсков в условиях ЭМЭ.

Последующие сроки наблюдения характеризовались стабилизацией изучаемых параметров, которые несколько превышали данные контрольной группы животных.

Таким образом, при однократном ЭМЭ в течение 30 дней зарегистрированы фазные изменения параметров болевой чувствительности моллюсков (I фаза – снижение БП и ЛП (1-5 сутки), II фаза – возрастание показателей (6-13 сутки), III фаза – снова снижение ЛП и БП (14-18 дни)). В последующие сроки наблюдения

изменения изучаемых показателей носили характер тенденции, т.е. имела место фаза стабилизации.

Анализ динамики коэффициента эффективности позволил подтвердить фазные изменения болевой чувствительности моллюсков при их ЭМЭ. I фаза заключалась в снижении Кэф в течение 1-6 суток наблюдений (рис. 2). Минимальное его значение зарегистрировано на 6 сутки, когда оно составило 15,25% ($p_2 < 0.05$).

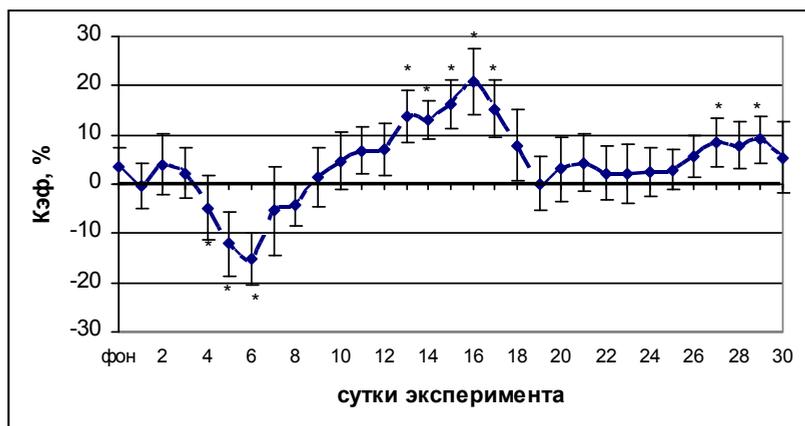


Рис. 2. Динамика коэффициента эффективности ЭМЭ.

Примечание: * - достоверность различий ($p_2 < 0.05$) между исходными данными и данными каждого дня

Эти изменения отражают увеличение чувствительности к ноцицептивному стимулу. II фаза (6-16 суток) характеризовалась постепенным возрастанием Кэф. С 9 суток наблюдения он приобретает положительный знак и достигает максимума на 16 сутки (20,93%). Такие данные свидетельствуют о снижении чувствительности моллюсков к термическому стимулу, т.е. развитию анальгетического эффекта. III фаза (17-19 суток) – постепенное снижение Кэф до нулевого уровня, т.е. утрата анальгетического эффекта. В последующие сроки наблюдения Кэф стабилизировался, превышая нулевой уровень 2-9% ($p_2 < 0.05$).

Полученные нами данные о развитии фазных изменений болевой чувствительности в условиях ЭМЭ согласуются с результатами исследования других авторов. Так, Frank S. Prato et al. (2002) [12] обнаружили такие же изменения у мышей CD1 при их пребывании по 1 часу в день в течение 10 суток в боксе из μ -металла, который ослаблял статическое магнитное поле до 1 мТл, ПеМП частотой 0-100 Гц – в 125 раз. Авторами [12] было обнаружено возрастание ноцицепции по сравнению с контролем и исходными данными на 1-2 сутки эксперимента (I фаза), затем на 5 сутки развивался анальгетический эффект (II фаза) и затем следовало возвращение параметров болевой чувствительности к исходному уровню (III фаза).

В экспериментах E Choleric et al. (2002) [12] также описаны фазные изменения болевой чувствительности мышей C57, находившихся по 2 часа ежедневно в

течение 10 дней в μ -боксе. Эти данные подтверждаются также сведениями о том, что подобные изменения болевой чувствительности ЭМЭ вызывает у мышей разных линий (CD1 и C57) и у мышей одной линии в различных географических районах (Пиза, Италия и Лондон, Онтарио, Канада), 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 [18]. Это подтверждает выводы многих авторов о том, что эффект изменения болевой чувствительности в условиях экранирования очень стойкий и легко воспроизводим.

Результаты наших экспериментов подтверждают этот вывод, однако продолжительность выделенных нами фаз изменений БП и ЛП гораздо больше, что может быть объяснено меньшим ослаблением как статического, так и ПемП СНЧ в наших исследованиях, по сравнению с другими экспериментами Prato et al. [8, 12, 14].

Кроме того, нами обнаружено, что при продолжительном экранировании развивается адаптация, т.е. параметры болевой чувствительности стабилизируются, превышая исходный уровень на 2-9 %. Эти данные подтверждают мнение [19] об использовании ЭМЭ как терапевтического средства.

Специально проведенные эксперименты позволили заключить, что изменения болевой чувствительности, вызванные ЭМЭ, опиоидобусловлены. Об этом свидетельствуют данные опытов, в которых описанные эффекты блокировались антагонистом опиоидов налоксоном, а также сравнивались с анальгезией, вызванной морфином [1, 9, 15].

Основной фактор, вызывающий изменения болевой чувствительности у животных, находившихся в условиях ЭМЭ, остается не выделенным.

Известно, что экраны, изготовленные из различных материалов, могут ослаблять не только статическое магнитное и электрическое поле, но и ПемП различных частотных диапазонов.

Использование в эксперименте экранов с различными свойствами позволит не только выделить основной действующий фактор, но и предложить способы коррекции развивающихся при экранировании нарушений функционального состояния.

Решению указанных задач может способствовать изучение временной организации биологических систем, которая может изменяться при действии не статических, а переменных факторов.

ВЫВОДЫ

1. Определены параметры болевой чувствительности у наземных моллюсков *Helix albescens*. У интактных животных болевой порог в весенний период составил $30,74 \pm 0,07^\circ\text{C}$, латентный период – $10,22 \pm 0,11$ сек.
2. Параметры болевой чувствительности *Helix albescens* изменяются при электромагнитном экранировании.
3. Изменения болевой чувствительности моллюсков при электромагнитном экранировании носят фазный характер: I фаза – увеличение чувствительности к

боли (1-5 сутки) (гипераналгезия), II фаза – развитие аналгетического эффекта (6-13 сутки) (аналгетический эффект), III фаза – возвращение изучаемых показателей к исходному уровню (14-18 сутки), IV фаза – стабилизация параметров на уровне, превышающий исходный на 2-9%.

Список литературы

1. Kavaliers M. Exposure to rotating magnetic fields alters morphine-induced behavioural responses in two strains of mice / M. Kavaliers, K.-P. Ossenkopp // *Neuropharmacology*. – 1984. – Vol. 89. – P. 440-443.
2. Betancur C. Magnetic field effects on stress-induced analgesia in mice: Modulation by light / C. Betancur, G. Dell’Omo, E. Alleva // *Neurosci Lett*. – 1994. – Vol. 182 (2). – P. 147-150.
3. Чуюн Е. Н. Механизмы антиноцицептивного действия низкоинтенсивного миллиметрового излучения / Е. Н. Чуюн, Э. Р. Джелдубаева // Монография. – Симферополь: "Диайпи". – 2006. – 458 с.
4. Kavaliers M. Day-night rhythms in the inhibitory effects of 60 Hz magnetic fields on opiate-mediated 'analgesic' behaviors of the land snail, *Cepaea nemoralis* / M. Kavaliers, K.-P. Ossenkopp, S. Lipa // *Brain Res*. – 1990. – Vol. 517. – P. 276-282.
5. Exposure to oscillating magnetic fields influences sensitivity to electrical stimuli: experiments on humans / F. Papi, S. Ghione, C. Rosa, Del Seppia // *Bioelectromagnetics*. – 1995. – Vol. 16. – P. 295-300.
6. Changes in pain perception and pain-related somatosensory evoked potentials in humans produced by exposure to oscillating magnetic fields / F. Sartucci, L. Bonfiglio, Del Seppia, P. Luschi, S. Ghione, L. Murri, F. Papi // *Brain Res*. – 1997. – Vol. 769 (2). – P. 362-366.
7. Peripheral neural system involvement in hypoalgesic effect of electromagnetic millimeter waves / A. A. Radzievsky, M. A. Rojavin, A. Cowan, S. I. Alekseev, A. A. Jr. Radzievsky, M. C. Ziskin // *Life Sci*. – 2001. – Vol. 68 (1). – P. 143-151.
8. Prato F. S. Extremely low frequency magnetic fields can either increase or decrease analgesia in the land snail depending on field and light conditions / F. S. Prato, M. Kavaliers, A. W. Thomas // *Bioelectromagnetics*. – 2000. – Vol. 21 (4). – P. 287-301.
9. Daily repeated magnetic field shielding induces analgesia in CD-1 mice / F. S. Prato, J. A. Robertson, D. Desjardins, J. Hensel, A. W. Thomas // *Bioelectromagnetics*. – 2005. – Vol. 26 (2). – P. 109-117.
10. Ossenkopp K.-P. Reduced morphine analgesia in mice following a geomagnetic disturbance / K.-P. Ossenkopp, M. Kavaliers, M. Hirst // *Neurosci. Lett*. – 1983. – Vol. 40. – P. 321-325.
11. Galic M. A. Lagged Association Between Geomagnetic Activity and Diminished Nocturnal Pain Thresholds in Mice (Brief Communication) / M. A. Galic, M. A. Persinger // *Bioelectromagnetics*. – 2007. – Vol. 28. – P. 577-579.
12. Shielding, but not zeroing of the ambient magnetic field reduces stress-induced analgesia in mice / E. Choleris, Del Seppia, A. W. Thomas, P. Luschi, G. Ghione, G. R. Moran, F. S. Prato // *Proceedings. Biological sciences. The Royal Society*. – 2002. – Vol. 269. – P. 193-201.
13. Темуриянц Н. А. Особенности регенерации планарий *Dugesia tigrina* при их электромагнитном экранировании в различные сезоны года / Н.А. Темуриянц, Н.А. Демцун, В.С. Мартынюк // *Физика живого*. – 2008. – Т. 16. – № 2. – С. 85-91.
14. Prato F. S. Behavioural evidence that magnetic field effects in the land snail, *Cepaea nemoralis*, might not depend on magnetite or induced electric currents / F. S. Prato, M. Kavaliers, J. J. L. Carson // *Bioelectromagnetics*. – 1996a. – Vol. 17 – P. 123-130.
15. The terrestrial Gastropoda *Megalobulimus abbreviatus* as a useful model for nociceptive experiments. Effects of morphine and naloxone on thermal avoidance behavior / M. Achaval, M. A. P. Penha, A. Swarowsky, P. Rigon, L. L. Xavier, G. G. Viola, D. M. Zancan // *Brazilian Journal Medical and Biological Research*. – January 2005. – Vol. 38 (1) – P.73-80.
16. Установка для изучения болевой чувствительности наземных моллюсков *Helix albescens* / В. Г. Вишнеvский, А. С. Костюк, Н. А. Темуриянц [и др.] // *Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского. Серия «Биология, химия»*. – 2009. – Т. 22 (61). – № 1. – С. 3-8.
17. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич – К.: Модмон, 2000. – 319 с.

18. Cirulli F. Assessment of pain in rodents by using standard laboratory techniques: an ethological perspective aimed at reducing suffering / F. Cirulli, De Acetis, L. E. Alleva // In Progress in the reduction, refinement and replacement of animal experimentation (ed. M. Balin, A. M. Zeller & M. E. Halden). – 2000. – P. 1127–1135.
19. Magnetic field shielding facility to study the effects of a hypogeomagnetic environment on humans / L. D. Keenlside, F. S. Prato, J. A. Robertson, A. W. Thomas // Abstract Collection. Joint Meeting of The Bioelectromagnetics Society and the European BioElectromagnetics Association Davos Congress Center Davos, Switzerland. – June 14 -19, 2009. – P. 521-522.

Костюк О.С.. Динаміка больової чутливості молюсків *Helix albescens* в умовах тривалого електромагнітного екранування / О.С. Костюк., Н.А. Темур'янц // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В. І. Вернадського. Серія: Біологія, хімія. - 2009. - Т. 22 (61). – № 3. – С. 75-82.

Показано, що ефект впливу тривалого електромагнітного екранування (1 година на день) протягом 30 діб характеризується фазовою зміною параметрів больової чутливості молюсків: I фаза – зменшення показників больового порогу і латентного періоду (гіпераналгезія), II фаза – збільшення параметрів, що вивчаються (аналгетичний ефект), III фаза – повернення до рівня початкових даних, IV фаза – стабілізація параметрів на рівні, що перевищує вихідний на 2-9%.

Ключові слова: електромагнітне екранування, больова чутливість, *Helix albescens*.

Kostyuk A.S. Daily repeated electromagnetic fields shielding changes pain sensitivity of land snails of *Helix albescens* / A.S. Kostyuk, N..A. Temuryants // Scientific Notes of Taurida V.Vernadsky National University. Series: Biology, chemistry. - 2009. - Vol. 22 (61). – № 3. – P. 75-82.

It is shown that the effect of the long electromagnetic shielding (1 hour per day) during 30 days is characterized the phase change of parameters the pain sensitivity of molluscs: I phase - the reduction of pain threshold and the latency period (hyperanalgaesia), II phase - an increase of the studied indexes (effect of analgaesia), III phase - a return to the level of baseline data, IV phase - stabilization of parameters at a level higher than the original at 2.9%.

Keywords: electromagnetic shielding, pain sensitivity, *Helix albescens*.

Поступила в редакцію 19.10.2009 з.