

ОСОБЕННОСТИ БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ СПЕКТРАЛЬНЫХ СОСТАВЛЯЮЩИХ СВЕРХСЛАБЫХ ИЗЛУЧЕНИЙ ВЬОНА В РАННЕМ ОНТОГЕНЕЗЕ

Бурлаков А.Б., Медведева А.А., Бурлакова О.В., Малахов Ю.И., Голиченков В.А.

Московский государственный университет им.М.В.Ломоносова, Биологический ф-т,
каф. эмбриологии, Россия, г.Москва, Ленинские горы, МГУ. Д.1, корп.12
Тел.: (495)939-35-25, E-mail: burlakovao@mail.ru

В настоящее время биология стоит на пороге исследования более глубокого уровня биологических систем – корпускулярно-волновой их организации. Само функционирование биосистемы как результат обмена биосигналами предполагает два взаимно коррелированных уровня этого обмена – вещественный (корпускулярный) и волновой. Вещественный уровень хорошо изучен (матричное копирование ДНК-РНК-белки, механизмы клеточной рецепции, перемещение и самосборка клеточных структур и пр.), а тесно связанный с ним волновой уровень практически не исследован.

Начиная с открытия в середине 20-х годов А.Г.Гурвичем митогенетических лучей в экспериментах с корешками лука и почкующимися дрожжами, исследователи обнаруживают дистантные взаимодействия волновой природы между живыми организмами. Ж. и М. Магрю [1;2] показали, что дистантные воздействия бактериальных культур (стафилококк, *Bact. tumefaciens*) и молочнокислых ферментов на половые продукты и на оплодотворенные яйцеклетки морских ежей угнетали их последующее развитие и способствовали появлению аномалий, в то время, как при дистантном взаимодействии бактериальных культур с эмбрионами комаров наблюдали, наоборот, эффект положительной биокоррекции – ускорение вылупления личинок комаров [3]. Эффект дистантного взаимодействия двух растущих культур клеток животных (фибробластов) показан Казначеевым с соавторами [4]: при обработке цитотоксическими агентами (вирусами или сулемой) или при облучении ультрафиолетом одного из образцов культуры клеток в других образцах, инкубированных в отдельных кюветах так, что существовал только оптический контакт между образцами, наблюдали дегенеративные изменения клеток. Наличие дистантных взаимодействий убедительно продемонстрировано на одноклеточных (дрожжи), на растительных тканях (семена, почки, листья, древесная кора), на насекомых, на свежесрезанной шерсти животных и на волосах и крови человека [5] и у бактерий [6]. В последнее десятилетие сверхслабые излучения разной длины волны от биологических объектов разного уровня организации - отдельных компонентов развивающегося куриного яйца [7], половых продуктов и зародышей рыб [8] были непосредственно зарегистрированы с помощью фотоэлектронных умножителей (ФЭУ). Такое самопроизвольное излучение биообъектов - биофотонная эмиссия - по ряду признаков является когерентным, и может быть носителем информации при дистантных взаимодействиях биологических объектов. А.М.Кузин [9] на основании работ по дистантному взаимодействию растений делает заключение, что в основе дистантных взаимодействий организмов лежит биогенное излучение (вторичное) довольно широкого спектрального диапазона, а митогенетические лучи Гурвича и другие виды биоизлучения являются лишь частными случаями вторичного биогенного излучения.

Ранее нами было установлено, что эмбрионы низших позвоночных (рыбы, амфибии) разных стадий развития способны дистантно влиять друг на друга, что регистрируется по изменению ряда параметров их дальнейшего развития. Биокоррекция (изменение параметров развития под влиянием взаимодействия) может быть как положительной (ускорение развития и увеличение числа нормально развивающихся зародышей в группе по сравнению с контрольной), так и отрицательной (замедление развития, снижение числа нормальных зародышей, повышение смертности) [10]. Максимальное коррелирующее взаимовлияние проявляется в случае соизмеримости темпов развития зародышей взаимодействующих групп [11]. Показано, что изменение ряда оптических характеристик биоизлучения может приводить к изменению результата дистантных влияний [12, 13].

Целью настоящего исследования явилось выяснение особенностей проявления дистантных взаимовлияний групп эмбрионов в разных областях оптического диапазона.

Материал и методы

Работу проводили на развивающихся эмбрионах костистой рыбы вьюна *Misgurnus fossilis* (*Pisces, Cypriniformes*). В закрытые кварцевые кюветы (10x10x40мм) помещали группы по 50 развивающихся зародышей одной стадии развития, и ставили кюветы с группами одну на другую, совмещая по длинной оси. Кюветы с экспериментальными группами разделяли интерференционные светофильтрами с максимумами пропускания при 372, 379, 386, 401, 406, 416, 455, 482, 526, 546, 593, 628, 756 и 780 нм (ширина полосы пропускания ± 3 нм). Дополнительным контролем служили группы зародышей, содержащиеся в отдельно стоявших кюветах, экранированных черной бумагой, а также группы зародышей, совмещенные через соответствующий интерференционный фильтр с наполненной водой кюветой без биологического объекта. Для экранирования от возможных внешних волновых воздействий на время эксперимента кюветы размещали в металлическом боксе (400x200x100 мм). Длительность совместной инкубации групп - 24 часа. Затем каждую группу эмбрионов переносили из кювет в отдельные чашки Петри, определяли число погибших эмбрионов в группах и стадии развития по таблицам нормального развития вьюна [14] под бинокулярной лупой (МБС-10) после окончания эксперимента и через сутки. Выявляемые морфогенетические нарушения прослеживали на протяжении всего эмбрионального периода развития и в течение 3-5 суток после вылупления. Все эксперименты проведены в 6-8 кратной повторности.

Результаты и обсуждение

Эксперименты с интерференционными светофильтрами, обладающими узкой полосой пропускания света, показали, что дистантное взаимовлияние эмбрионов разных стадий развития происходило во всех случаях, однако характер последующей реакции эмбрионов менялся в зависимости от длины волны проходящего через светофильтры излучения. Во всех случаях контрольные группы, размещенные как на, так и под светофильтрами и совмещенные оптически с кюветой без живых объектов, развивались впоследствии, как и в отдельно стоящих контрольных кюветах, т.е. сами светофильтры как со стороны зеркальной, так и с противоположной не оказывали влияния на параметры развития зародышей.

Оптический контакт эмбрионов, одна группа которых помещалась в эксперимент на стадии ранней бластулы, на которой зародыш представлен шапочкой недифференцированных клеток (бластомеров) на анимальном полюсе икринки (6 стадия), а другая - через 15 минут после оплодотворения (0 стадия развития), показало наибольшее угнетение процессов эмбрионального развития. При использовании интерференционного светофильтра с максимальным пропусканием в области 371 нм в младшей возрастной группе наблюдается достоверное уменьшение ($p \leq 0,01$) скорости эмбрионального развития и увеличение гибели эмбрионов ($p \leq 0,05$) (рис. 1). В старшей возрастной группе наблюдается наибольшее замедление эмбрионального развития ($p \leq 0,001$) при отсутствии достоверных различий по смертности эмбрионов в сравнении с контролем. Дистантное взаимодействие через светофильтр с максимумом пропускания в области 406 нм приводило к аналогичным последствиям: в младшей возрастной группе к достоверному замедлению развития ($p \leq 0,01$) и достоверному увеличению смертности эмбрионов ($p \leq 0,01$), а в старшей - к значительному замедлению развития ($p \leq 0,001$) при некотором увеличении смертности эмбрионов ($p \leq 0,05$). Дистантное взаимодействие через интерференционного светофильтра с максимумом пропускания в области 416 нм показало наибольшее угнетение ($p \leq 0,01$) эмбрионального развития в обеих возрастных группах эмбрионов. При этом у эмбрионов старшей группы наблюдали наиболее значительное отставание развития (даже от контрольной младшей возрастной группы), гибель эмбрионов увеличивалась более чем в 2 раза ($p \leq 0,01$). Дистантное взаимодействие через светофильтр с максимумом пропускания в области 526 нм показало

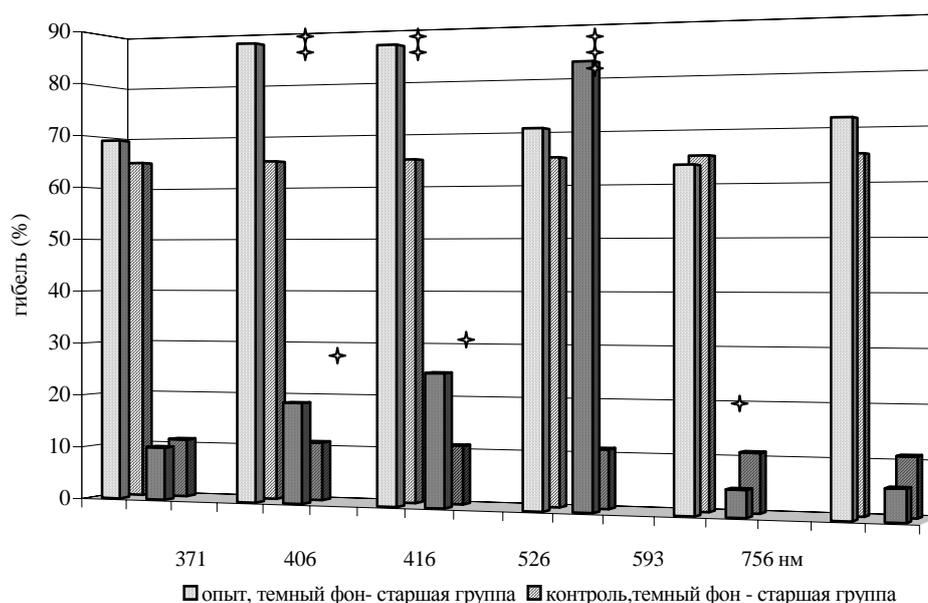


Рис.1. Гибель зародышей выюна после 24-часового дистантного оптического контакта разновозрастных групп через интерференционные светофильтры. При начале эксперимента младшая группа зародышей находилась на 0 стадии, старшая - на 6 стадии развития. + - уровень достоверности различий опытных и контрольных групп $p \leq 0,05$; ++ - $p \leq 0,01$; +++ - $p \leq 0,001$

незначительное отличие эмбрионов младшей возрастной группы от контрольных. Зато в старшей возрастной группе наблюдается угнетение скорости эмбрионального развития ($p \leq 0,001$) и увеличение смертности эмбрионов более чем в 7 раз ($p \leq 0,001$). После дистантного взаимодействия зародышей в области 593 нм, напротив, наблюдали скорее положительную коррекцию развития: если скорость развития эмбрионов и смертность в младшей группе достоверно не отличались от контроля, то в старшей - скорость развития была несколько выше ($p \leq 0,05$), чем в контрольной группе, а процент гибели эмбрионов в 2 раза ниже. Оптический контакт через интерференционный светофильтр с максимумом пропускания в области 756 нм не влиял на скорость развития эмбрионов в младшей возрастной и незначительно увеличивал смертность в этой группе. В старшей возрастной группе наблюдали замедление развития ($p \leq 0,01$) и рассинхронизацию в группе при небольшом снижении смертности эмбрионов.

При дистантном взаимодействии зародышей, одна группа которых помещалась в эксперимент на 6 стадии развития, а другая – на 30- 31 стадиях развития, когда зародыш достаточно развит, имеет четко выделяемые головной (с хорошо различимыми зачатками глаз), туловищным (с 17-20 парами сомитов) и хвостовым отделами, в младшей возрастной группе наблюдали резкое замедление развития и увеличение гибели эмбрионов (рис. 2) при использовании фильтров с максимумом пропускания 406 и 756 нм. Менее заметное угнетение развития ($p \leq 0,05$) эмбрионов этой группы наблюдали при использовании светофильтров с максимумом пропускания 593 нм. При использовании светофильтра с максимумом пропускания в области 416 нм наблюдали достоверное снижение ($p \leq 0,01$) смертности эмбрионов младшей возрастной группы. При использовании всех остальных интерференционных светофильтров наблюдается тенденция к замедлению эмбрионального развития эмбрионов этой возрастной группы без существенного влияния на их жизнеспособность. В старшей возрастной группе наблюдали замедление эмбрионального развития ($p \leq 0,01$) и повышение гибели ($p \leq 0,01$) эмбрионов (416 нм), либо ускорение эмбрионального развития ($p \leq 0,01$) при достоверном ($p \leq 0,01$) увеличении гибели (526 нм), либо отсутствие достоверных различий по сравнению с контролем (372, 406, 593, 756 нм).

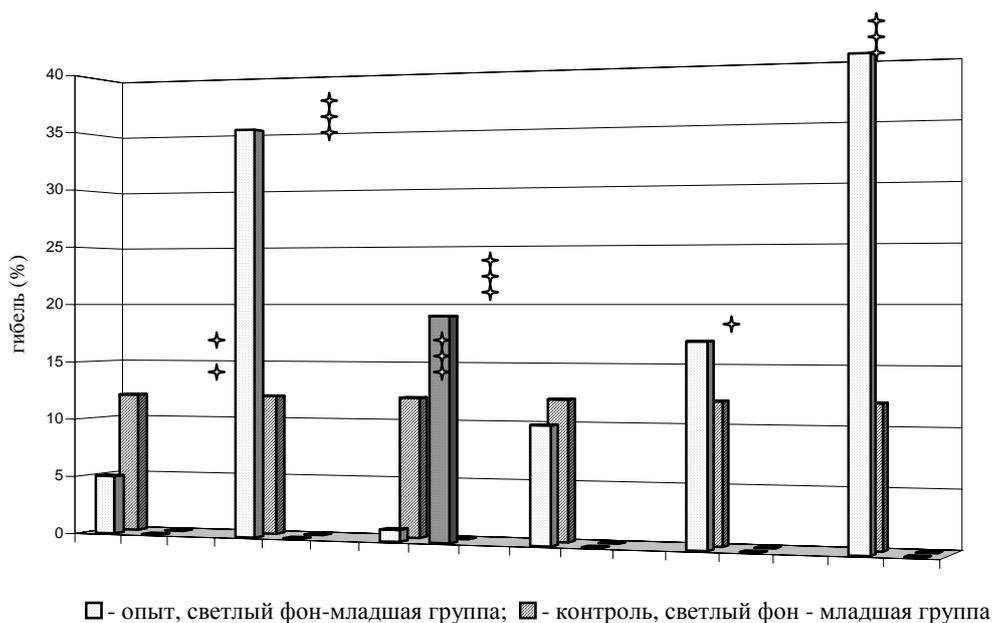


Рис.2. Гибель зародышей вьюна после 24-часового дистантного оптического контакта разновозрастных групп через интерференционные светофильтры. При начале эксперимента младшая группа зародышей находилась на 6 стадии, старшая - на 30 стадии развития. + - уровень достоверности различий опытных и контрольных групп $p \leq 0,05$; ++ - $p \leq 0,01$; +++ - $p \leq 0,001$.

Результаты проведенных экспериментов позволили выявить два интересных момента. Во-первых, использование интерференционных светофильтров, вычлняющих разные длины волн, при оптическом контакте одних и тех же возрастных групп эмбрионов имеет разные биокоррегирующие последствия. Т.о. биоизлучение проявляет себя в разных областях оптического спектра. Во-вторых, сочетание разных возрастных групп зародышей дает разные результаты при использовании одного и того же светофильтра. Эти факты могут свидетельствовать, с одной стороны, по-видимому, о неодинаковом характере сверхслабого излучения, продуцируемого эмбрионами разных стадий развития, а с другой, - о возможных возрастных изменениях воспринимающих эти излучения систем. Так, например, зародыши, помещенные в эксперимент на 6 стадии развития на излучение одной и той же длины волны, проходящее через светофильтр 593 нм от зародышей 0 стадии, реагируют положительной коррекцией развития, а от зародышей 30-31 стадий – слабым угнетением.

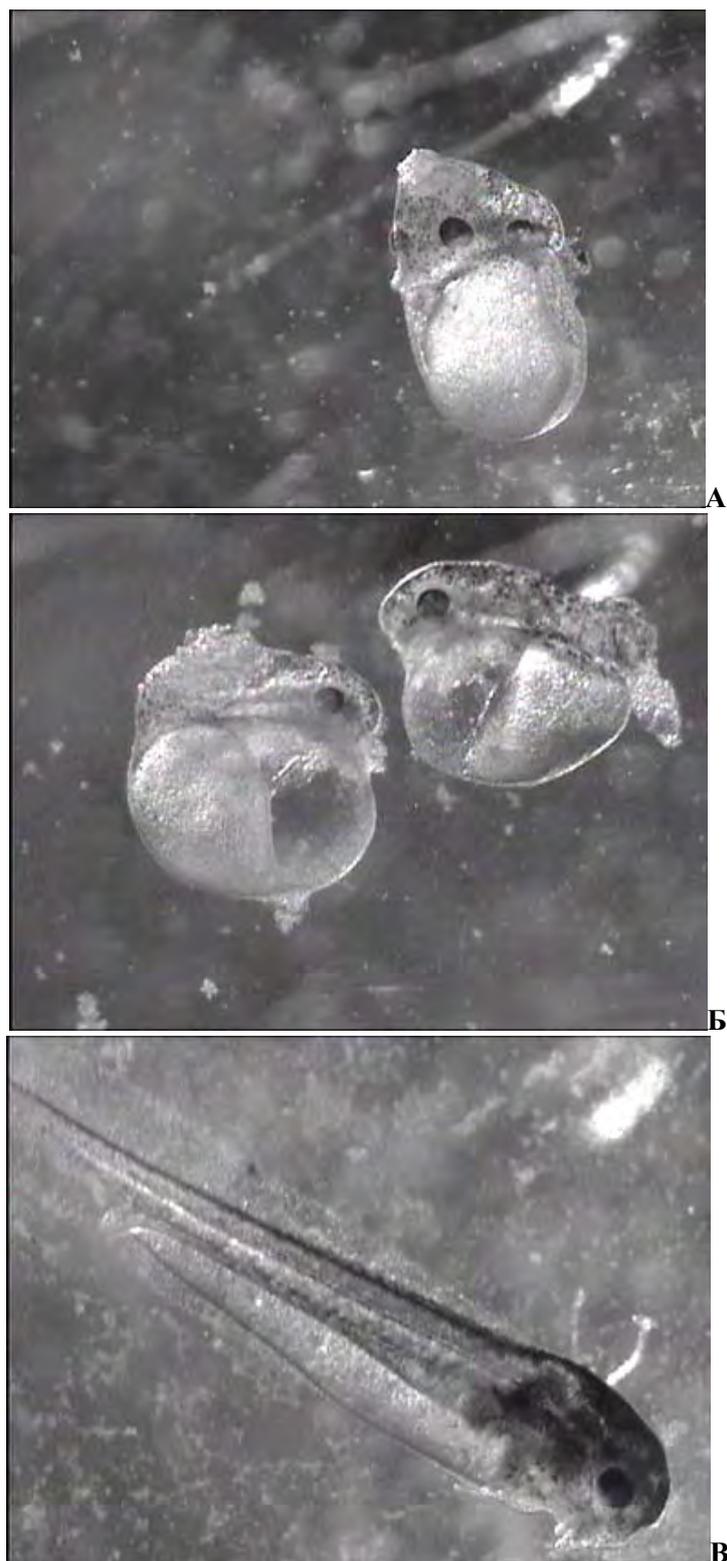
Дополнительную серию экспериментов провели на зародышах ранних стадий вплоть до поздней (эпителиальной) бластулы, оценивая последствия оптических контактов через интерференционные светофильтры групп зародышей, находящихся на одной стадии. Следует отметить, что все наши предыдущие эксперименты свидетельствовали о том, что прямые оптические контакты одностадийных зародышей достоверно не изменяли параметры последующего их развития, т.к. и характер биоизлучений, и состояние воспринимающих систем стадиоспецифичны, т.е. в достаточной степени сходны у зародышей одной стадии (в пределах индивидуального и внутростадийного разброса). Однако, проведенные эксперименты по оптическим контактам групп одностадийных (одновозрастных) зародышей, находящихся на самых ранних стадиях развития (стадия 1- двухклеточный зародыш; стадия 3 и 3,5 – соответственно, 32-х и 64-х клеточный зародыш и стадии 6), показала, что вычленение определенной длины волны негативно сказывается на выживаемости и степени синхронизации развития зародышей в группе. В группах одновозрастных эмбрионов вьюна, помещенных в эксперимент на начальных стадиях дробления и разделенных интерференционными

светофильтрами с полосами пропускания 401 нм, 482 нм или 546 нм, по окончании эксперимента до 8% зародышей развивались со значительными нарушениями морфогенеза, что в дальнейшем приводило к появлению специфических аномалий развития (рис.3), а при использовании светофильтров 482 нм и 546 нм еще и значительно увеличивалась смертность в группах (до 20%).

Эмбрионы, помещенные в экспериментальные условия на 8 стадии развития, оказались чувствительными к пропусканию излучения через светофильтры 372 нм и 379 нм – мы наблюдали значительное увеличение смертности (до 30% в некоторых группах) по сравнению с контрольными. Оптический контакт через светофильтр с пропусканием в области 546 нм тормозил развитие, тогда как в 406 нм, напротив, способствовал слабому ускорению. Более выраженный эффект положительной коррекции с использованием светофильтров с максимумами пропускания не только в области 406, но и 401 нм мы наблюдали в экспериментах с эмбрионами 9 стадии развития (предшествующая процессу гаструляции стадия поздней эпителиальной бластулы) – явное ускорение на фоне небольшой рассинхронизации развития зародышей в группе. Использование светофильтров 546 нм и 455 нм, наоборот, тормозило последующее развитие зародышей. Среди эмбрионов, помещенных в эксперимент на стадии поздней бластулы, аномальное развитие наблюдали в группах, разделенных интерференционными светофильтрами с полосами пропускания в более коротковолновой части спектра (372, 379 и 386 нм). После оптического взаимодействия одновозрастных зародышей на стадии поздней бластулы через светофильтр с максимумом пропускания 406 нм наблюдали эффект ускорения эмбрионального развития по сравнению с контрольными группами, помещавшимися в те же условия в отдельно стоящих кюветах либо при прямом оптическом совмещении 2-х кювет.

Интересно, что узкие спектральные зоны, вычлененные из общего потока сверхслабого биоизлучения, имеют корректирующее влияние на развитие первоначально одностадийных зародышей, тогда как суммарный поток биоизлучения, включающий те же зоны, таковым не обладает. Это может быть связано с тем, что исключительная стимуляция процессов, чувствительных к определенной длине волны, приводит к нарушению баланса функциональных систем в развивающемся организме.

Эксперименты с одностадийными (одновозрастными) эмбрионами показали, что вычленение узких спектральных зон от ближнего ультрафиолета до инфракрасной части оптического диапазона в биоизлучении ранних зародышей в период дробления имеет негативные последствия. На более поздних стадиях проявляется специфичность биологической реакции на определенные спектральные полосы – область 406, а затем и 401 нм (фиолетовая зона) обладает положительным корректирующим действием, а ближний ультрафиолет (372, 379 и 386 нм) усиливает появление нарушений морфогенеза в группе. И эти стадии соответствуют подготовке к гаструляции – первой этапной дифференциации в самоорганизующейся системе, которой и является развивающийся организм, хотя специфическая активность генома появляется на более ранних стадиях, не чувствительных к спектральной специфичности биоизлучений. Дальнейшие исследования спектральной специфичности биоизлучения в раннем онтогенезе низших позвоночных позволят расширить представления о возможной роли сверхслабых биоизлучений в процессах самоорганизации биосистем.



1 мм

Рис.3. Типичные аномалии развития в группах одновозрастных эмбрионов вьюна, помещенных в эксперимент на начальных стадиях развития, разделенных ИС с полосами пропускания 401нм, 482 нм или 546 нм. А - образование 2-х неравноценных голов и недоразвитие туловищных и хвостовых отделов; Б - недоразвитие туловищного и хвостового отдела; В - контроль

Благодарности

Авторы выражают благодарность Российскому фонду фундаментальных исследований, поддержавшему работу (грант РФФИ № 05-04-49251).

Литература

1. Magrou J. Action a distance et embryogenese // Radiobiologia. 1. 1932. P.32.
2. Magrou J., Magrou M., Reiss P. Actions a distance sur le developpement de l'oeuf d'Oursin. Essai d'interpretation // C.r.s.Acad.Sci. 193. 1931. P.609.
3. Magrou J., Magrou M., Roubaud M.E.. C.r.s. Acad. Sci. 192. 1931.P.1134.
4. Казначеев В.П., Михайлова Л.П. Сверхслабые излучения в межклеточных взаимодействиях. Новосибирск.: Наука., 1981.
5. Кузин А.М . Вторичные биогенные излучения - лучи жизни.Пушино.: ОНТИ ПНЦ РАН. - 1997.
6. Nikolaev Yu..A. Distant interaction in bacterium *Pseudomonas fluorescens* as a factor of adhesionregulation.// Biophotonics and Coherent Systems. Proc. 2nd A. Gurwitsch Conf. Add. Contributions (Ed.: L. Belousov, F.-A. Popp, V. Voeikov, R.van Wijk). M.: Moscow University Press. 2000. P.259.
7. Белоусов Л.В., Попп Ф.-А., Казакова Н.И. Сверхслабые излучения куриных яиц и зародышей: неаддитивное взаимодействие двух излучателей и устойчивая неравновесность //Онтогенез. Т.28. N5. 1997. С. 377.
8. Белоусов Л.В., Бурлаков, А.Б., Лучинская, Н.Н. (2003). Статистические и частотно-амплитудные характеристики сверхслабых излучений яйцеклеток и зародышей вьюна в норме и при их оптических взаимодействиях. II. Изменение характеристик сверхслабых излучений при оптическом взаимодействии разновозрастных групп зародышей. // Онтогенез. Т. 34. № 6. С. 453-463.
9. Кузин А.М. 1997. Вторичные биогенные излучения - лучи жизни. Пушино.: ОНТИ ПНЦ РАН. 37с.
10. Бурлаков А.Б., Бурлакова О.В., Голиченков В.А. Дистантные волновые взаимодействия в раннем эмбриогенезе вьюна *Misgurnus fossilis* L // Онтогенез. 2000. Т.31.№5. С.340-347.
11. Доронина Н.Ю., Бурлакова О.В., Бурлаков А.Б., Голиченков В.А. Темпы развития зародышей вьюна *Misgurnus fossilis* L. и проявление дистантных взаимодействий в раннем онтогенезе. // ДАН. 2002.Т.384. N1. С.136-138.
12. Бурлаков А.Б., Бурлакова О.В., Королев Ю.Н., Голиченков В.А. Поляризационные эффекты при дистантном взаимодействии биологических объектов // Вестник МГУ. Сер.Биология. 2002. N2. С. 3-8.
13. Бурлаков А.Б., Бурлакова О.В., Капранов Ю.С.,Короткина М.Р., Голиченков В.А. Перминов С.В., Куфаль Г.Э., Медведева А.А., 2005. Управление дистантным взаимодействием биологических объектов при помощи оптических приборов. Анализ механизмов воздействия. //Электромагнитные волны и электронные системы . Т.10. №1-2. С. 57-65.
14. Костомарова А.А. 1975. Вьюн *Misgurnus fossilis* L. В кн.: Объекты биологии развития. М.: Наука, с.308-323.