

ФИЗИКО – ХИМИЧЕСКИЕ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ПАРАФИНОВОГО ЭКРАНА

В.В. Леднев, Н.А. Белова, Л.К. Сребницкая, О.Н. Ермакова, А.М. Ермаков

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН
Пушино, Московская обл., Россия, 142290.

Введение

Основными источниками природного радиоактивного фона (ПРФ), воздействующего на биологические системы на Земле, являются некоторые радиоизотопы и продукты их распада, входящие в состав почвы, воды, воздуха (внешние источники) и живых организмов (внутренние источники). К внешним источникам облучения относятся и вторичные галактические космические лучи (ГКЛ), также постоянно воздействующие на живые организмы. Согласно некоторым оценкам, относительный вклад вторичных ГКЛ в суммарную годовую дозу облучения составляет примерно 15% [1].

К настоящему времени показано, что ПРФ необходим для нормального развития животных, растений и микроорганизмов. Снижение как внешнего, так и внутреннего естественного облучения, сопровождается ингибированием скорости деления простейших и сине-зеленых водорослей, скорости прорастания растений из семян, скорости развития насекомых и снижением скорости роста (набора веса) молодых мышей и крыс [см. монографии 1, 2 и цитируемые там работы]. В большинстве из экспериментальных исследований снижение ПРФ достигалось с помощью использования свинцовых экранов толщиной 5-10 см или, реже, при размещении тест-систем в помещениях, расположенных на большой глубине под землей. Наблюдавшиеся биоэффекты, полученные в перечисленных выше опытах интерпретировались как результат понижения ПРФ, создаваемого радиоизотопами [1, 2]. В абсолютном большинстве экспериментов о понижении ПРФ судили на основании измерений интенсивности γ -излучения внутри экранированного пространства.

Очевидно, однако, что размещение тест-систем в свинцовых экранах должно сопровождаться не только подавлением радиоактивного фона изотопов, но также изменением энергетического спектра и состава вторичных ГКЛ. Тем не менее, ни в одной из соответствующих работ возможное влияние изменений энергии и состава вторичных ГКЛ на биологические системы не рассматривается.

В ряде публикаций сообщается о наличии корреляции между свойствами некоторых биологических систем и наземными вариациями нуклонной компоненты ГКЛ [3-6], а также отмечается возможная взаимосвязь между показаниями нейтронного монитора и электрофизическими свойствами воды [7, 8]. Однако, представление о том, что вторичная нуклонная компонента может быть фактором, непосредственно влияющим на биосистемы и водосодержащие системы, встречает ряд возражений. Во-первых, в цитированных выше работах, как правило, приводятся очень короткие временные ряды (несколько дней), что ставит под сомнение достоверность полученных корреляций. Во-вторых, наличие корреляций само по себе не означает наличие причинно-следственной связи. Наконец, воздействию нейтронов на биологические системы и водные растворы должна предшествовать их трансформация в ионизирующее излучение в ходе соответствующих ядерных реакций. Согласно оценкам некоторых авторов, в этом случае вариации радиоактивности, инициируемые изменениями интенсивности вторичных ГКЛ, должны быть значительно меньше вариаций радиоактивности, обусловленной наземным радоном [9].

Воздействие альфа-излучения, эммитируемого радоном на элементы, входящие в состав верхних слоев Земли, приводит, в конечном счете, к образованию наземного поля тепловых нейтронов [10]. Естественно предположить, что и эти тепловые нейтроны наряду с тепловыми нейтронами, продуцируемыми ГКЛ, также могут оказывать влияние на разнообразные биологические системы, находящиеся в верхних слоях Земли и непосредственно над ее поверхностью. Вариации эксгаляции радона и концентрации тепловых нейтронов определяются изменениями сил тяготения в системе Земля-Луна – Солнце [10, 11]. Наибольший выход радона, и, соответственно, тепловых нейтронов на поверхность Земли происходит во время фаз полной и новой Луны [10, 11].

О возможных биотропных свойствах вариаций вторичных ГКЛ свидетельствуют также результаты изучения взаимосвязи между различными гелиогеофизическими факторами и числом вызовов скорой помощи по поводу инфарктов миокарда и инсультов головного мозга [12]. Наиболее достоверная корреляция между возрастанием числа инфарктов и инсультов наблюдается в те дни, когда происходит значительное уменьшение интенсивности вторичной нейтронной компоненты ГКЛ

(Форбуш-эффект) [12, стр. 87-89]. Авторы этих исследований отмечают, что полученные результаты не означают, что возрастание числа инфарктов и инсультов происходит вследствие непосредственного воздействия космических лучей. В некоторых работах представлены данные свидетельствующие о влиянии крайне – слабых потоков нейтронов [] на структуру ДНК в растворе.

Имеется также ряд сообщений о биологических эффектах слабых потоков теплых и эпитепловых нейтронов (или их комбинации с γ – излучением) на ряд биологических объектов [13-15].

Перечисленные выше данные показывают, что биотропные свойства вторичных ГКЛ (если таковые имеются) могут быть обусловлены их нейтронной компонентой. В данной статье мы приводим результаты исследований, предпринятых с целью проверки этого предположения.

При постановке экспериментов мы исходили из следующих соображений. Известно, что при прохождении нейтронов через материалы с высоким содержанием водорода – парафин, дерево, полиэтилен - воду происходит существенное изменение их свойств: снижение энергии до тепловых и эпитепловых значений, а также появление ионизирующих частиц - ядер отдачи и γ - фотонов [16]. Очевидно, что взаимодействие вторичных нейтронов ГКЛ с тест-системами различных типов, в том числе и с биосистемами, может измениться после их прохождения через водород - содержащий экран. Обнаружение таких эффектов можно было бы рассматривать как доказательство биотропности крайне слабых потоков вторичных космических лучей и, в первую очередь, их нейтронной компоненты. Для проверки этой гипотезы мы предприняли изучение влияния парафинового экрана на свойства некоторых водных растворов и биологических систем. В данной статье мы представляем результаты изучения воздействия парафинового экрана на электрофизические параметры дистиллированной воды, раствора борной кислоты и раствора карбоната натрия, а также на скорость регенерации и летальность у плоских червей – планарий.

Методы.

Конструкция парафинового и контрольного экранов. Для построения ПЭ использовали ящик с двойными стенками, выполненными из фанеры толщиной 4 мм. Внутренние размеры ящика составляют 29 см × 29 см × 12 см. Пространство между внутренними и внешними стенками ящика залили парафином. Таким образом, после застывания парафина, мы получили экран, все стенки которого состоят из слоя парафина толщиной 1.5 см и двух слоев фанеры с суммарной толщиной 0.8 см (для такого комбинированного экрана в данной статье мы использовали для краткости термин – парафиновый экран - ПЭ). Одна из стенок ящика была выполнена как съемная крышка с размерами 30 см × 30 см × 2.3 см. Контрольный ящик был сделан из картона толщиной 3 мм. Внутренние размеры ящика - 29 см × 29 см × 12 см – были выбраны равными внутренним размерам парафинового экрана.

Водосодержащие тест – системы. При проведении опытов по влиянию ПЭ на свойства водосодержащих систем использовали дистиллированную воду, а также 0.3 М - раствор борной кислоты, H_3BO_3 (рН=4.5) и 0.2 М - раствор карбоната натрия, Na_2CO_3 (рН=10.5). Электропроводность и рН дистиллированной воды и растворов H_3BO_3 и Na_2CO_3 измеряли с помощью кондуктометра типа ОК-102/1 («Radelkis») и рН - метра типа ЭВ-74.

Открытые стеклянные или пластиковые стаканы, содержащие 100-200 мл исследуемого раствора помещали в ПЭ (опытные образцы) или в картонный ящик (контрольные образцы). Ряд опытов с водой и раствором H_3BO_3 был проведен с использованием стаканов, покрытых стеклянной крышкой от чашки Петри или полимерной пленкой типа Parafilm. Измерение рН и электропроводности проводили при комнатной температуре, варьирующей в разные дни проведения экспериментов от 18 до 20 °С.

Для изучения возможного влияния экранирования на свойства раствора Na_2CO_3 использовали измерение скорости реакции автоокисления адреналина в этом растворе [17]. Для этого в стеклянную кювету с длиной оптического пути 0.5 см наливали 2 мл 0,2М - раствора Na_2CO_3 из контрольных или опытных стаканов, к которому добавляли 100 мкл 0.1% - раствора адреналина. В течение нескольких секунд смесь перемешивали встряхиванием, затем кювету помещали в фотоэлектрокалориметр КФК-2. Автоокисление адреналина регистрировали по изменению светопоглощения раствора на длинах волн 364 (в большинстве опытов), 315 и 490 нм. В зависимости от целей эксперимента запись кинетики автоокисления адреналина на самописце ЛКВ проводили в течение 4-20 минут.

Все опыты с использованием ПЭ выполняли в лабораторном помещении, расположенном на 2-м этаже 2-х этажного здания, так что вторичные космические лучи достигали места локализации опытных и контрольных образцов пройдя предварительно через крышу, потолок и стены здания. Контрольный и экранирующий ящики устанавливали на расстоянии 1.0-1.5 м друг от друга на деревянном столе.

Биологические тест – системы (регенерирующие и нативные планарии).

В экспериментах использовали бесполоую лабораторную расу плоских червей планарий *Jirardia tigrina*. Планарий содержали в прудовой воде при комнатной температуре и кормили раз в неделю личинками двукрылых. Для экспериментов отбирали животных длиной около 10 мм, которых прекращали кормить за 7 дней до начала опытов. Регенерация вызывалась ампутацией 1/5 части тела планарий, содержащей головной ганглий. Поперечный разрез планарий делали в области непосредственно под «ушами». Регенерирующие планарии помещали в чашки Петри диаметром 90 мм, содержащие по 30 мл прудовой воды (по 30 штук в каждую). Чашки Петри закрывали стеклянными крышками (первый вариант опыта) или оставляли открытыми (второй вариант опыта). Одну из чашек помещали внутрь ПЭ (опыт), другую – в картонный ящик (контроль). Эксперименты проводились при комнатной температуре, варьирующей от 18 до 20 °С.

Морфометрический анализ регенерации. Для измерения кинетики роста бластымы в экспериментальных и контрольных животных использовали метод прижизненной компьютерной морфометрии, основанный на регистрации фотоконтраста между старыми (пигментированными) и новыми (прозрачными) частями тела планарий [18]. Каждую особь из экспериментальных и контрольных групп фотографировали используя бинокулярную лупу и аналоговую видеокамеру через определенные интервалы времени длительность которых определялась задачами эксперимента. Фотографирование животных одной группы (30 планарий) занимало в среднем 30 мин.

Изображения регенерирующих планарий вводили в компьютер. Используя специальную программу, определяли площадь S всей планарии и площадь s прозрачной регенерирующей бластымы. Результаты этих измерений использовали для вычисления среднего (по 30 регенерантам) значения индекса регенерации $R = s / S$ для контрольных и опытных животных.

Величину биоэффекта поля определяли согласно выражению:

$$\Delta R (\%) = \frac{(R_{\text{э}} - R_{\text{к}}) \pm (\delta_{\text{э}} + \delta_{\text{к}})}{R_{\text{к}}} \times 100\%,$$

где $\delta_{\text{э}}$ и $\delta_{\text{к}}$ – стандартные ошибки средних величин, $R_{\text{э}}$ и $R_{\text{к}}$ – средние значения индексов регенерации соответственно для экспериментальных (опытных) и контрольных планарий.

Результаты.***Водосодержащие системы.******1. Дистиллированная вода.***

На Рис.1 представлены результаты одного из нескольких экспериментов, которые дали практически совпадающие результаты. В данном опыте были использованы открытые пластиковые стаканы, содержавшие по 100 мл дистиллированной воды; при этом площадь поверхности воды, соприкасающейся с воздухом равнялась 23 см². Электропроводность воды возрастала линейно в течение первых трех суток ее экспонирования в ПЭ со скоростью равной $\approx 0,32 \mu\text{S}/\text{час}$. Затем рост электропроводности практически остановился так, что величины электропроводности через 3 суток и через 5 суток составляли соответственно 25,4 μS и 26,8 μS . Величина pH дистиллята через 3 дня экспонирования в ПЭ понизилась на 0,85 единицы pH.

При экспонировании дистиллята в сосудах закрытых крышкой от чашки Петри или полимерной пленкой Parafilm удельная электропроводность и pH практически не изменялись.

2. Борная кислота.

Удельная электропроводность свежеприготовленного 0,32 М – раствора борной кислоты H_3BO_3 , равнялась 12,5 $\mu\text{S}/\text{час}$, т.е. лишь в 6 раз превышала электропроводность дистиллированной воды. В течении 5 дней экспонирования в ПЭ электропроводность раствора борной кислоты увеличивалась практически линейно со скоростью $\approx 0,7 \mu\text{S}/\text{час}$ (Рис. 1). В результате абсолютная величина электропроводности опытных образцов за 5 дней их экспонирования в ПЭ увеличилась на 30,0 μS (от 12,5 до 42,5 μS). За этот же период времени электропроводность контрольных образцов раствора увеличилась лишь на 4 μS (от 12,5 до 16,5 μS). Величина pH в опытных растворах борной кислоты за 5 суток понизилась на 0,2 единицы pH (от 4,40 до 4,20). При этом величина pH (равная 4,4) в контрольных растворах через 5 суток не изменилась.

Также как и в случае опытов с дистиллятом, экспонируя в ПЭ сосуды с борной кислотой, закрытых крышками от чашек Петри или полимерной пленкой мы не обнаружили в них существенных изменений электропроводности и pH по сравнению с контрольными образцами.

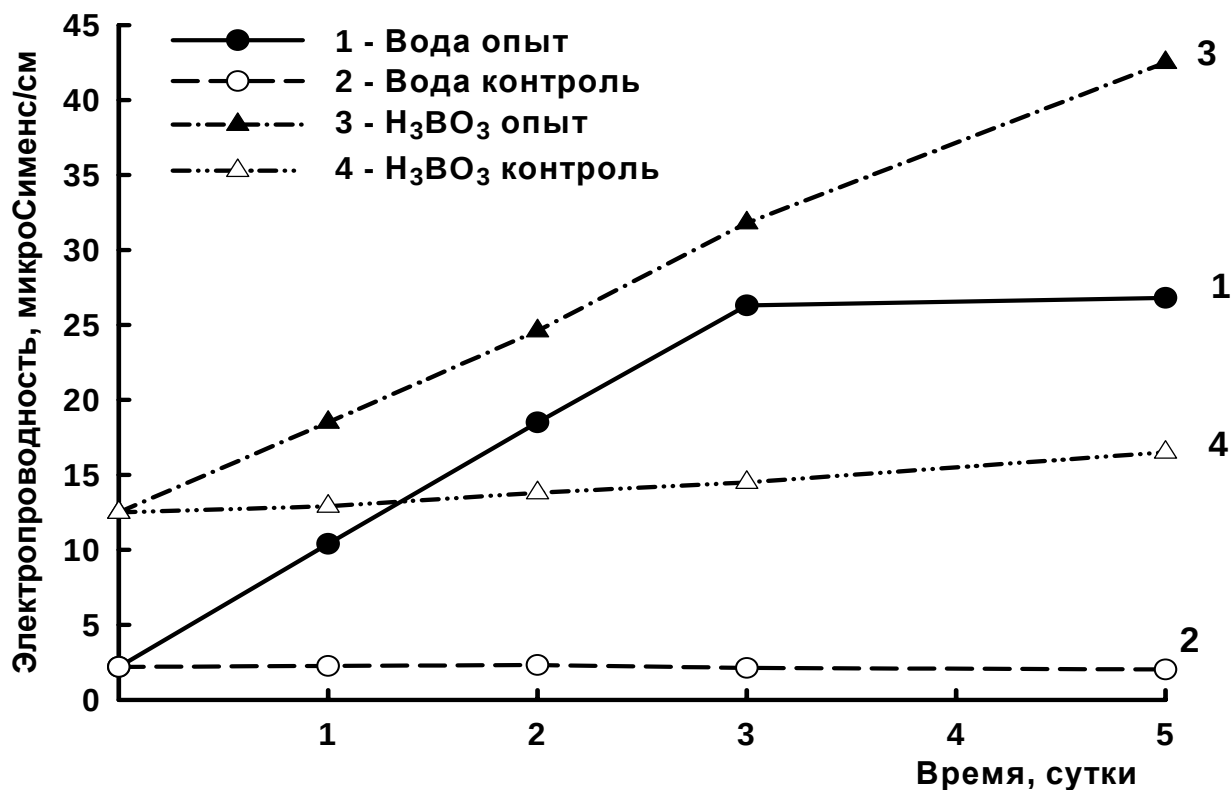


Рис. 1. Зависимость удельной электропроводности образцов дистиллированной воды и борной кислоты, H_3BO_3 , от времени их экспонирования внутри парафинового экрана (опыт) и внутри картонного ящика (контроль).

3. Карбонат натрия.

Значения pH (10.6) и электропроводности (19 mS) опытных и контрольных образцов 0.2 М - раствора Na_2CO_3 не изменялись в пределах точности измерений через 24 часа после начала экспериментов. При этом оказалось, однако, что кинетика автоокисления адреналина в растворе Na_2CO_3 , регистрировавшаяся по поглощению света при $\lambda = 364, 315$ и 490 нм существенно различается для опытных и контрольных образцов (Рис. 2 (а, б, в)). Достоверное изменение скорости автоокисления адреналина в растворе Na_2CO_3 , находившемся в ПЭ, наблюдается уже через 3-4 часа после начала его экспонирования в ПЭ.

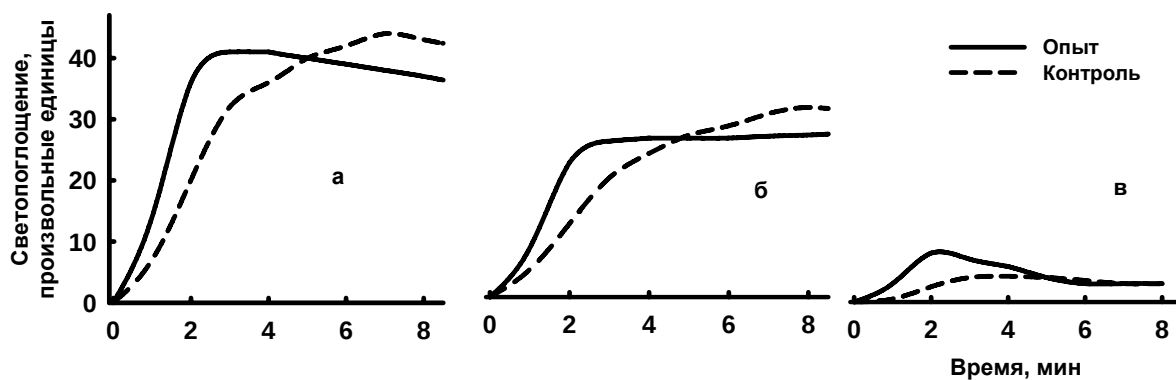


Рис. 2. Зависимость скорости автоокисления адреналина в 0,2 М – растворе карбоната натрия, Na_2CO_3 , (pH = 10,3) экспонированного в течение 24 часов в парафиновом экране (опыт) и в картонном ящике (контроль).

Кинетика поглощения света определялась с использованием трех длин волн ($\lambda = 364$ нм (а), $\lambda = 390$ нм (б) и $\lambda = 315$ нм (в)).

Биологические системы.*Влияние ПЭ на скорость регенерацию и выживание планарий.*

Измерения индекса регенерации планарий через трое суток после начала опыта показали, что планарии, находившиеся в парафиновом экране, регенерируют на 25-35% медленнее, чем планарии в контроле (Рис. 3). Заметим, что 25-35% - разница в площади бластемы соответствует примерно 2-х кратной разнице в объеме бластемы и, соответственно, в числе митозов в стволовых клетках (необластах), приводящих к образованию новой ткани. Таким образом, регенерация планарий в ПЭ сопровождается снижением митотического индекса, характеризующего скорость деления необластов, примерно на 50%. Величина полученных эффектов сравнима или даже превышает соответствующие величины, наблюдаемые при воздействии магнитных полей на регенерирующие планарии [18-19], а также величины биоэффектов, наблюдавшихся через 3 дня экспонирования тест-систем различных типов в свинцовых экранах с толщиной стенок 5-10 см [1, 2].

Неожиданно мы обнаружили, что экспонирование в ПЭ как регенерирующих, так и целых (не ампутированных) планарий в чашках Петри не покрытых крышками происходит гибель всех особей планарий примерно, через 2 дня. При этом все планарии находившиеся в контрольном ящике остались живыми.

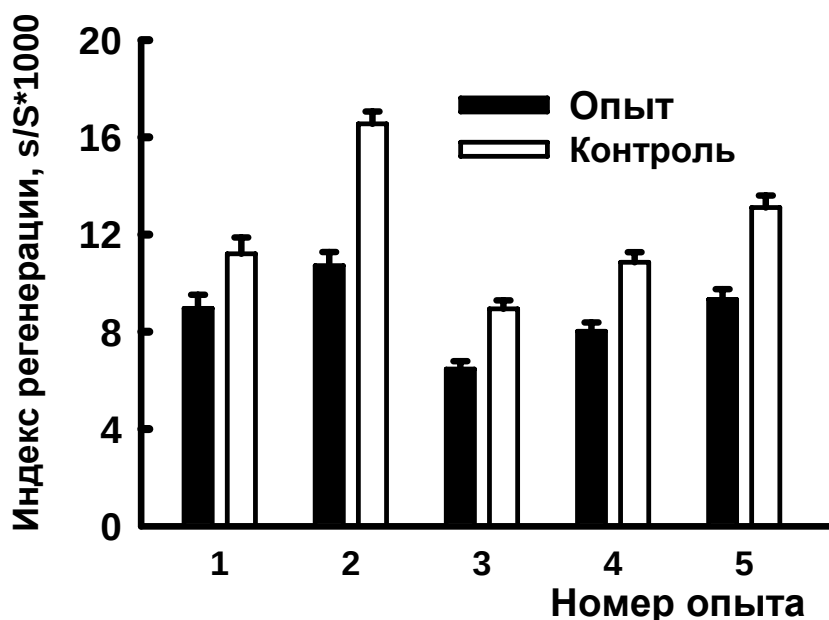


Рис. 3. Зависимость величины индекса регенерации планарий через 72 часа экспонирования животных в парафиновом экране (опыт) и в картонном ящике (контроль).

Обсуждение результатов.

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что трансформация крайне-слабых вторичных ГКЛ в результате прохождения через стенки ПЭ сопровождаются существенным изменением характера их взаимодействия как с водосодержащими растворами, так и с водосодержащими объектами. Очевидно, что для детального объяснения обнаруженных нами эффектов, необходимо проведение количественной оценки изменений в физических характеристиках и составе вторичных ГКЛ происходящих в результате пересечения ими стенок ПЭ, а также анализ продуктов радиолиза воздуха внутри ПЭ и анализ химического состава водных растворов экспонированных в ПЭ. Нам представляется однако, что и без этих данных можно предложить качественное объяснение наблюдаемых эффектов исходя из следующих соображений. При пересечении стенок ПЭ происходит замедление и термализация вторичной нейтронной компоненты

ГКЛ. В результате, внутри ПЭ повышается концентрация тепловых и эпитепловых нейтронов, а также γ излучения. Тепловые нейтроны имеют относительно большое сечение захвата атомами ^{14}N , равное $1,8 \cdot 10^{-24} \text{ см}^2$ [16] (напомним, что доля молекул азота, N_2 , в воздухе составляет $\approx 80\%$). Энергия протона и атома отдачи, ^{14}C , в реакции $^{14}\text{N} (n, p) ^{14}\text{C}$ составляет 0,626 Мэв, причем энергия протона, образующегося в этой реакции, составляет 0,59 Мэв [16]. Пробег такого протона в воздухе равен $\approx 1 \text{ см}$. Пробег β – радиоактивного ^{14}C очень мал. Поскольку протон обладает большой ионизирующей способностью то можно ожидать, что радиолиз воздуха в ПЭ увеличится по сравнению с контролем. Известно, что ионизация воздуха сопровождается образованием ряда положительных и отрицательных ионов (аэроионов), вступающих во взаимодействие между собой и молекулами водяного пара. Важно, что при этом образуется, в частности, также супероксидный анион, $\text{O}_2^{\cdot-}$, и оксид азота, $\text{NO}^{\cdot-}$, а также продукт взаимодействия этих радикалов – пероксинитрит, 'OONO [20, 21]. Заметим, что время жизни супероксида и пероксинитрита существенно увеличивается в щелочных растворах. В то время как при кислых значениях pH пероксинитрит трансформируется в нитрат, NO_3^- , и протон, H^+ , а большая часть супероксид-радикалов соединяясь, с протонами переходит в гидропероксид радикалы, $\text{HO}_2^{\cdot}$.

Мы полагаем, что значительный рост электропроводности дистиллята и раствора борной кислоты связан с сорбцией продуктов радиолиза воздуха и последующим образованием слабых кислот. Эти же процессы могут обусловить значительное снижение pH в дистилляте и относительно небольшое снижение в борной кислоте. Резкое увеличение скорости автоокисления адреналина в опытном растворе карбоната натрия (pH $\approx 10,3$) можно объяснить накоплением в нем супероксида и других радикалов, а также молекулярного кислорода, взаимодействие с которыми является лимитирующим звеном в реакции автоокисления адреналина [20-24].

Снижение скорости регенерации планарий при их размещении в закрытых чашках Петри, а также гибель как регенерирующих, так и нативных планарий в открытых чашках Петри скорее всего является результатом комбинированного воздействия на них тепловых нейтронов, γ – радиации, а также упомянутых выше продуктов радиолиза воздуха.

Литература

1. Кузин А.М. Природный радиоактивный фон и его значение для биосферы Земли М. Наука, 1991, 116с.
2. Кузин А.М. Роль природного радиационного фона и вторичного биогенного излучения в явлениях жизни. М. Наука, 2002, 79с.
3. Белишева Н.К. Значение вариаций геокосмических агентов на состояние биосистемы. Автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук. СПб, 2005, 31с.
4. Белишева Н.К., Гак Е.З. Значение вариаций космических лучей для функционирования биосистемы. Сборник докладов VII междунар. конф. «Экология и развитие Северо – Запада России», 2-7 августа 2002 г., СПб. стр 118-129.
5. Музалевская Н.И., Соколовский В.В. Анализ рядов наблюдений с унитиоловым тестом. В кн.: «Электромагнитные поля в биосфере». Том 1. М. Наука, 1984, стр. 201-215.
6. Белишева Н.К., Кужевский Б.Н., Вашенюк Э.В., Жиров В.К. Связь динамики слияния клеток растущих *in vitro* с вариациями интенсивности нейтронов у поверхности Земли. Докл. РАН, 2005, т.402, №6, стр. 254-257.
7. Цаплин В.С., Логачев Ю.Н., Кондратьев Е.Л. Исследование временных вариаций спектров пропускания водных растворов и их корреляция с космофизическими факторами. Вест. моск. университета., сер. 3 (физика, астрономия), 1981, т. 22, №2, стр. 69-71.
8. Агеев И.М., Шишкин Т.Т. Корреляции солнечной активности с электропроводностью воды. Биофизика, 2001, т. 46, вып. 5, стр. 829-832.
9. Владимирский Б.М., Темурьянц Н.А. Влияние солнечной активности на биосферу – ноосферу. М. МНЭПУ, 2000.
10. Володичев Н.Н., Кужевский Б.Н., Нечаев О.Ю., Панасюк М.И., Шаврин П.И. Явление возникновения всплесков интенсивности нейтронов во время фаз новолуний и полнолуний. Космич. исслед., 1997, т.35, №2, стр. 144-154.

11. Aumento F. Radon tides on an active volcanic island. Terceira, Azores. Geofisica International, 2002, v. 41, №4, pp. 499-505.
12. Бреус Т.К., Раппопорт С.И. Магнитные бури. Медико – биологические и геофизические аспекты. М., Советский спорт, 2003, 190с.
13. Жижина Г.П., Липсон А.Г., Милей Г. Кузнецов В.А., Бурлакова Е.Б. Поле ультраслабых термализованных нейтронов как фактор структурных трансформаций ДНК. Радиационная биология. Радиоэкология, 2003, т.43, №2, стр. 144-146.
14. Матвеева И.С., Смирнов А.Н., Воденников Б.Д., Понов И.М., Семенов Д.С., Колесников М.В., Сыроешкин А.В. Облучение потоком нейтронов как тест на выживаемость спор *Artemia salina*. Бюлл. эксп. биол. и мед., 2004, 138, №11, стр.530-534.
15. Цетлин В.В., Зенин С.В., Головкина Т.В., Дешевая Е.А., Краснова Л.Б., Лебедева Н.Е., Шигин А.И. Роль водной среды в механизме действия сверхмалых доз ионизирующего излучения. Биомед. технол. и радиоэлектроника, 2003, №12, стр. 20-25.
16. Пикаев А.К. Дозиметрия в радиационной химии. М., Наука, 1975.
17. Сирота Т.В. Новый подход в исследовании процесса аутоокисления адреналина и использование его для измерения активности супероксиддисмутазы. Вопр. мед. химии, 1999, т.45, вып. 3, стр. 263.
18. Леднев В.В. Биоэффекты слабых комбинированных, постоянных и переменных магнитных полей. Биофизика, 1996, т.41, вып. 1, стр. 224-232.
19. Леднев В.В., Белова Н.А., Рождественская З.Е., Тирас Х.П. Биоэффекты слабых переменных магнитных полей и биологические предвестники землетрясений. Геофиз. поля и биосфера, 2003, т.2 (1), стр. 3-11.
20. Finlayson – Pitts B. I., Pitts I.N. Chemistry the Upper and Lower Atmosphere: Theory, Experiments, and Application, 1999.
21. Risch M., Korth H-G., Wensing A., Sustmann R., De Groot H. Product formation & kinetic simulations in the pH range 1-14 account for a free – radical of peroxynitrite decomposition. Archives Biochem.&Biophys., 2003, v.418, pp.133-150.
22. Bors W., Michel C., Saran M, Lengfelder. Kinetic investigation of the autooxidation of adrenalin. Zeitschrift für naturforschung. 1978. V33, № 11-12. P. 891-896.
23. Bors W., Michel C., Saran M, Lengfelder. The involvement of oxygen radicals during the autooxidation of adrenalin. Biochem. Biophys. Acta, 1978, 540, pp. 162-172.
24. Misra H.P., Fridovich I. The role of superoxide anion in the autooxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. J. Biol. Chem., 1972, 247, №10, pp. 3170-3175.