

УДК 57.034:57.04

МЕТОД КРАТКОСРОЧНОГО ПРОГНОЗА УЛЬТРАДИАННЫХ И ИНФРАДИАННЫХ РИТМОВ НА ОСНОВЕ РЕГИСТРАЦИИ ФЛУКТУАЦИЙ РАДИОАКТИВНОСТИ КАЛИЯ-40

© 2023 г. М.Е. Диатроптов*,#, М.А. Диатроптова**, С.М. Слесарев***

*Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Ленинский просп., 33, Москва, 119071, Россия

**НИИ морфологии человека имени академика А.П. Авцына Российского научного центра имени академика Б.В. Петровского, ул. Цюрупы, 3, Москва, 117418, Россия

***Ульяновский государственный университет, ул. Льва Толстого, 42, Ульяновск, 432017, Россия

#E-mail: diatrom@inbox.ru

Поступила в редакцию 22.08.2023 г.

После доработки 11.09.2023 г.

Принята к публикации 20.09.2023 г.

В Москве и Ульяновске проведено одновременное наблюдение флуктуаций радиоактивности от природного изотопа калия-40. Показано, что изменения скорости счета от источников в данных географических точках не одновременны, а синхронизированы по местному солнечному времени. Основываясь на этом наблюдении и учитывая, что флуктуации радиоактивности коррелируют с ритмами температуры тела, разработан и подтвержден метод краткосрочного прогноза ультрадианных ритмов активности животных. Также проведен анализ согласованности динамики интенсивности флуктуаций распада и ежесуточных показателей прироста клеточной культуры L-929. Установлено, что наивысший коэффициент корреляции регистрируется при сопоставлении показателя пролиферативной активности культуры с величиной интенсивности флуктуаций распада, взятой за предыдущие сутки. Таким образом, основываясь на данных о флуктуациях радиоактивного распада калия-40, являющихся индикатором биотропного фактора среды, можно проводить краткосрочные прогнозы ультрадианных и инфрадианных биологических ритмов.

Ключевые слова: флуктуации, макрофлуктуации, радиоактивность, ультрадианные ритмы, инфрадианные ритмы.

DOI: 10.31857/S0006302923060169, EDN: RLHRXY

Ультрадианные внутрисуточные и инфрадианные трех-четырёхсуточные ритмы различных физиологических и биохимических показателей у животных описаны в многочисленных работах [1–7]. Однако механизмы формирования этих биологических ритмов не установлены. Нами было показано, что ультрадианные ритмы активности и температуры тела у мелких млекопитающих и птиц синхронны между особями, находящимися в изоляции друг от друга даже в условиях постоянного освещения, обеспечивающих исключение синхронизирующего влияния светового ориентира смены дня и ночи [8]. Это наблюдение указывает на существование внешнего фактора, влияющего на активность животных. Удобным для исследования механизмов формирования инфрадианных ритмов является интенсивность пролиферативной активности клеток в культуре, имеющая околочетырёхсуточную ритмичность [9]. Наличие ритмов в культуре клеток L-929 ука-

зывает на действие фактора среды не только через гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему организма, но и на изолированные фибробластоподобные клетки. Эксперименты по ежедневному размораживанию одинаковых проб культуры клеток L-929 и последующему анализу инфрадианных ритмов их пролиферативной активности показал, что этот ритм в клетках полностью определяется внешним воздействием, т.е. является экзогенным [9]. Иными словами, в природе существует некий фактор среды, оказывающий стимулирующее влияние на двигательную активность животных и угнетающее на пролиферативную активность клеток.

Сопоставление различных гелиогеофизических параметров с ультрадианной и инфрадианной динамикой биологических параметров не привело к выявлению значимых и постоянно наблюдающихся корреляций. Нами была выявлена

связь динамики температуры тела с геомагнитными Рс5-пульсациями [10], однако применение пермаллового экрана не повлияло на амплитуду и степень синхронизации ультрадианных ритмов мышей [11]. Учитывая, что в динамике скорости счета от радиоактивных источников выявляются периоды, аналогичные спектру ультрадианных ритмов животных, нами было выполнено исследование, подтверждающее связь флуктуаций радиоактивности калия-40 с ритмами температуры тела мелких млекопитающих и птиц [12]. Феномен закономерных флуктуаций радиоактивного распада был установлен разными группами исследователей [13–20]. Вероятно, помимо случайных флуктуаций на радиоактивный распад или на приборы его регистрирующие, действует квазиритмический фактор внешней среды. Как показали наши исследования, этот фактор или воздействие, тесно с ним связанное, является биотропным.

Чтобы приблизиться к пониманию природы данного фактора необходимо установить является ли этот фактор глобальным или зависит от места исследования. В частности, флуктуации радиоактивного распада наблюдаются одновременно в разных географических точках или зависят от местного солнечного времени? Что касается биологических ритмов, то ранее нами было показано, что в различных географических точках (Москва и Ульяновск) ультрадианные ритмы температуры тела мышей, находящихся в условиях постоянного освещения, синхронизированы по местному солнечному времени [21].

Таким образом, представляется актуальным:

1) сопоставить динамику флуктуаций скорости счета от природного радиоактивного источника ^{40}K в двух географических пунктах, расположенных на разных долготах (Москва и Ульяновск);

2) оценить возможность краткосрочного прогноза ультрадианных ритмов животных в Москве на основе данных по флуктуациями радиоактивности ^{40}K , измеренным в Ульяновске;

3) сопоставить динамики интенсивности флуктуаций радиоактивного распада ^{40}K и ежесуточных показателей прироста клеточной культуры L-929, имеющих инфрадианную ритмичность.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Динамику температуры тела регистрировали у половозрелых самцов мышей линии C57Bl/6, массой тела 26–30 г ($n = 8$), хомячков Кэмпбелла (*Phodopus campbelli*) ($n = 7$) и обыкновенных зеле-

нушках (*Chloris chloris*) ($n = 8$). Не позднее, чем за две недели до эксперимента животным в брюшную полость имплантировали датчики ДТН4-28/ТЛ4-28 (ООО «ЭМБИ РЕСЕРЧ», Новосибирск). В качестве анестетика внутримышечно вводили золетил (Virbac Sante Animale, Франция) в дозе 5–7 мг/кг. Животных содержали в индивидуальных клетках. Доступ к воде и пище был свободным. Температуру тела измеряли с частотой 1 раз в мин, данные накапливались в памяти датчика в течение 20 сут, а затем считывались бесконтактным способом. Все виды животных находились при постоянном искусственном освещении, что позволяло исключить возможное синхронизирующее действие на ультрадианные ритмы режима свет/темнота. Животных беспокоили максимально редко – раз в четыре-пять дней, в разное время суток. Периоды повышения температуры, вызванные посещением человека, исключались из анализа. С целью исключения присутствующего околосуточного тренда вычисляли ежеминутные изменения температуры тела у каждой особи. Учитывая, что предполагаемый активизирующий внешний фактор могут воспринимать не все животные и не всегда, вычисляли медианное значение по группе животных, а затем сглаживали показатели путем вычисления скользящего среднего с окном в 13 мин.

Исследование пролиферативной активности культуры клеток было проведено на трансформированных фибробластах мыши L-929. Культуру клеток L-929 культивировали в ростовой среде DMEM/F12 с L-глутамином (Capricorn Scientific, Германия) с добавлением 10% фетальной бычьей сыворотки (Biosera, Франция), 50 Ед/мл пенициллина и 50 мкг/мл стрептомицина («ПанЭко», Россия) при 37°C во влажной атмосфере, содержащей 95% воздуха и 5% CO_2 . С целью выявления инфрадианных ритмов пролиферативной активности культуры L-929 ежедневно в период с 9 по 31 марта 2023 г. клетки в количестве 100 тыс. в объеме 2 мл среды высевали на 8 чашек Петри диаметром 35 мм. Для оценки пролиферативной активности каждые последующие сутки клетки снимали с двух чашек Петри путем добавления 1 мл раствора трипсин 0.25% : версен 0.02% (1 : 1) и инкубировали 5 мин при 37°C. Количество клеток L-929 подсчитывали на автоматическом счетчике клеток TC-20 (Bio-Rad Laboratories, США). В качестве показателя, характеризующего пролиферативную активность культуры, вычисляли ежесуточное увеличение численности клеток: отношение числа клеток в культуре в день исследования по отношению к предыдущему дню. Для анализа использовали показатели ежесуточного

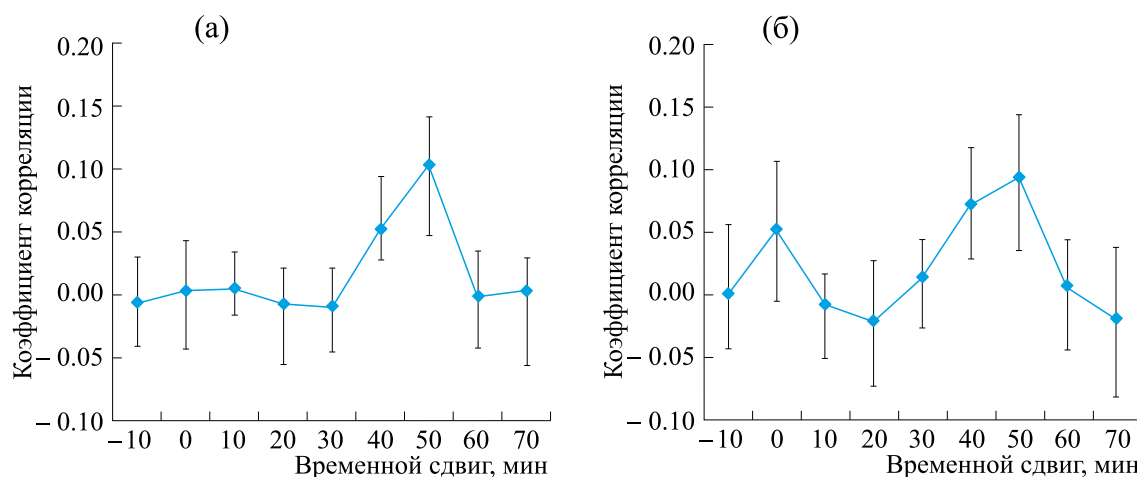


Рис. 1. Значения коэффициентов корреляции между двумя временными рядами интенсивности радиоактивности ^{40}K , регистрируемыми в Москве и Ульяновске, рассчитанные с разной величиной сдвига друг относительно друга. Представлены медианы и интерквартильный размах: (а) — данные за период 24 февраля—31 марта 2023 г., (б) — данные за период 2—30 апреля 2023 г.

прироста клеток через трое суток инкубации, что является временем наиболее стабильного логарифмического увеличения их численности.

В качестве источника природного радиоактивного изотопа ^{40}K использовали сульфат калия (ОАО «Буйский химический завод», Буй, Костромская обл.). Интенсивность радиоактивного распада измеряли с помощью сцинтилляционного детектора Atom Fast 8850 (НПП «КБ Радар», Москва), основой которого является кристалл йодида цезия (CsI) размером $8 \times 8 \times 50$ мм. С целью изоляции системы от атмосферных гамма-квантов пакеты с сульфатом калия вместе с детектором были помещены в свинцовый короб внутренним размером $20 \times 20 \times 20$ см и толщиной стенки 30 мм. Такой экран ослаблял фоновые значения скорости счета примерно в 20 раз. Датчик, расположенный в центре короба, обкладывали равномерно со всех сторон сульфатом калия. Ежеминутные показатели скорости счета сглаживали скользящим средним в окне 13 мин. В среднем приборы регистрировали около 2000 событий в мин. При исследовании инфранианной динамики суточную величину параметра интенсивности флуктуаций радиоактивного распада рассчитывали следующим образом: вычисляли величину ежеминутных изменений зарегистрированных мощностей дозы, брали эти значения по модулю, а затем вычисляли среднее за сутки значение. Два прибора внутри одной локации давали аналогичную многосуточную динамику с коэффициентом корреляции более 0.8.

Статистическую обработку полученных результатов проводили в программе Statistica 7.0 (StatSoft Inc., США). Для выявления связи исследуемых динамик биологических параметров и скорости радиоактивного распада использованы методы вычисления коэффициента корреляции Пирсона (r) и метод наложения эпох. Результаты представлены в виде медианы и интерквартильных размахов. Статистическую значимость различий между значениями показателей определяли по t -критерию Стьюдента. Результаты расчетов считали статистически значимыми при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Сглаженные суточные кривые динамики скорости счета, полученные от приборов, находящихся в Москве и Ульяновске, сопоставляли по универсальному времени, т.е. одновременно и с разным временным сдвигом. В среднем за 36 суток наблюдений (с 24 февраля по 31 марта 2023 г.) при анализе одновременных рядов значение коэффициента корреляции значимо не отличалось от нуля, тогда как при временном сдвиге в 50 мин, соответствующем сопоставлению кривых по местному солнечному времени, коэффициенты корреляции составили 0.10 (0.05, 0.14) и статистически значимо отличались от величин, рассчитанных при других временных сдвигах ($p < 0.001$) (рис. 1а). Необходимо отметить, что в другой период наблюдений (со 2 по 30 апреля 2023 г.) помимо выраженного пика, наблюдающегося по местному времени, также регистрируется досто-

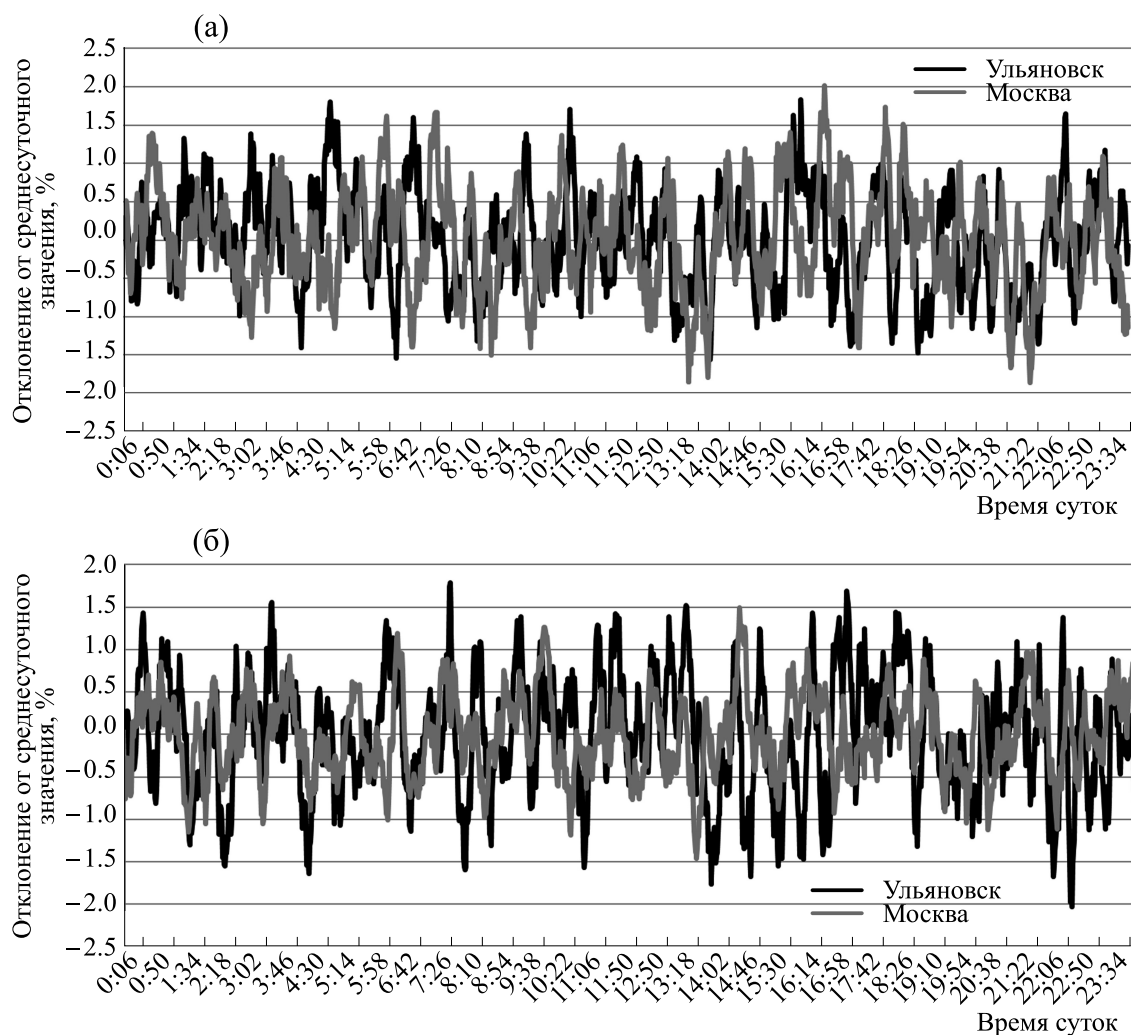


Рис. 2. Динамики интенсивности радиоактивности ^{40}K , регистрируемые в Москве и Ульяновске, сопоставленные по местному солнечному времени (сдвиг в 45 мин): (а) — средний уровень синхронизации, $r = 0.10$ ($p < 0.001$), данные за 30 марта 2023 г.; (б) — высокий уровень синхронизации, $r = 0.19$ ($p < 0.001$), данные за 26 марта 2023 г.

верное увеличение показателя по глобальному времени (рис. 16). Примеры, иллюстрирующие динамику измеренной радиоактивности ^{40}K в Москве и Ульяновске при сопоставлении по местному солнечному времени приведены на рис. 2.

При сопоставлении динамики ежеминутных изменений температуры тела по группе зеленушек, находящихся в Москве, с интенсивностью радиоактивного распада ^{40}K в Ульяновске наилучшее совпадение наблюдалось при рассмотрении с 50-минутным смещением — вначале наблюдается всплеск скорости счета в Ульяновске, а через 50 мин — увеличение величины ежеминутного прироста температуры тела у птиц в Москве. При таком смещении коэффициенты корреляции со-

ставляли 0.09 (0.04, 0.15) и статистически значимо отличались от показателей, рассчитанных при других временных сдвигах. Для хомячков наблюдалась аналогичная, но несколько менее выраженная закономерность с $r = 0.06$ (0.02, 0.11). При аналогичном сопоставлении динамики температуры тела мышей с интенсивностью радиоактивного распада статистически значимые коэффициенты корреляции не выявлены. Вероятно, это связано с тем, что основной период активности мышей примерно в два раза более продолжительный, чем у птиц и хомячков. Следовательно, у мышей не каждый момент увеличения интенсивности возбуждающего фактора среды сопровождается откликом.

Распределение методом наложенных эпох динамики изменения интенсивности радиоактив-

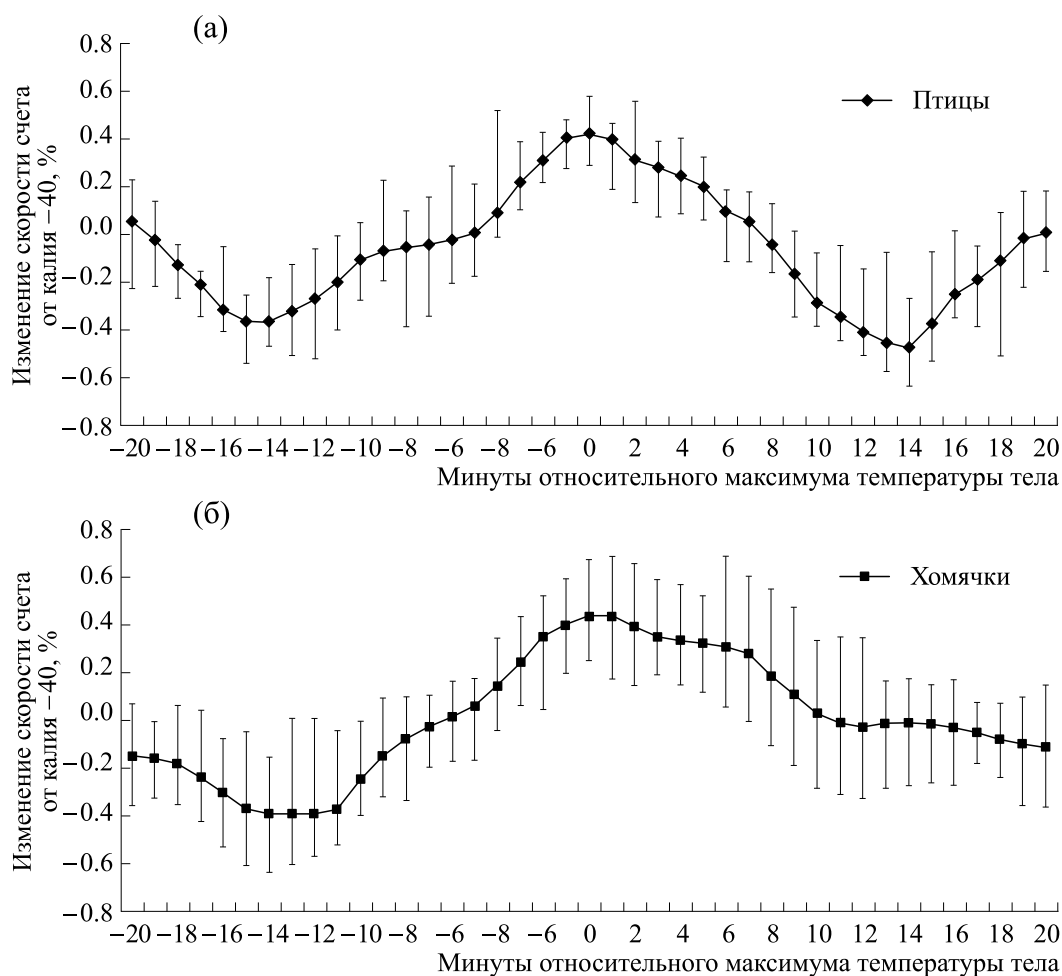


Рис. 3. Распределение методом наложенных эпох динамики изменения интенсивности радиоактивного распада, регистрируемой в Ульяновске, относительно наблюдаемых в Москве моментов максимумов выраженных (более 0.02°C в мин) увеличений прироста температуры тела у представителей различных классов животных по местному солнечному времени: (а) — зеленушки (класс птиц), (б) — хомячки (класс млекопитающих). Представлены медианы и интерквартильный размах.

ного распада относительно моментов максимумов выраженных (более 0.02°C в мин) увеличений прироста температуры тела по местному солнечному времени показало отсутствие принципиальных различий между исследуемыми видами животных (рис. 3). При сопоставлении данных по местному солнечному времени в период максимальных ежеминутных приростов температуры тела животных наблюдается статистически значимое увеличение скорости счета от калия-40 ($p < 0.001$).

При анализе связи ежесуточных показателей прироста числа клеток в культуре с интенсивностью флуктуаций радиоактивного распада наивысший коэффициент корреляции наблюдался при условии сопоставления результатов прироста клеточной культуры, полученной около 12 часов

текущего дня, с интенсивностью флуктуаций радиоактивного распада за предыдущие сутки, т.е. временная разница между параметрами составляла 12 ч. При таком условии величина ежесуточного приращения числа клеток в культуре отрицательно коррелировала с интенсивностью флуктуаций радиоактивного распада ^{40}K ($r = -0.53$, $p = 0.016$) (рис. 4). Для наглядности на рис. 4 данные по интенсивности флуктуаций радиоактивности представлены с обратным знаком.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Основываясь на полученных результатах, можно утверждать, что наблюдаемые в Ульяновске изменения скорости счета от природного изотопа ^{40}K через 50 мин с большой вероятностью

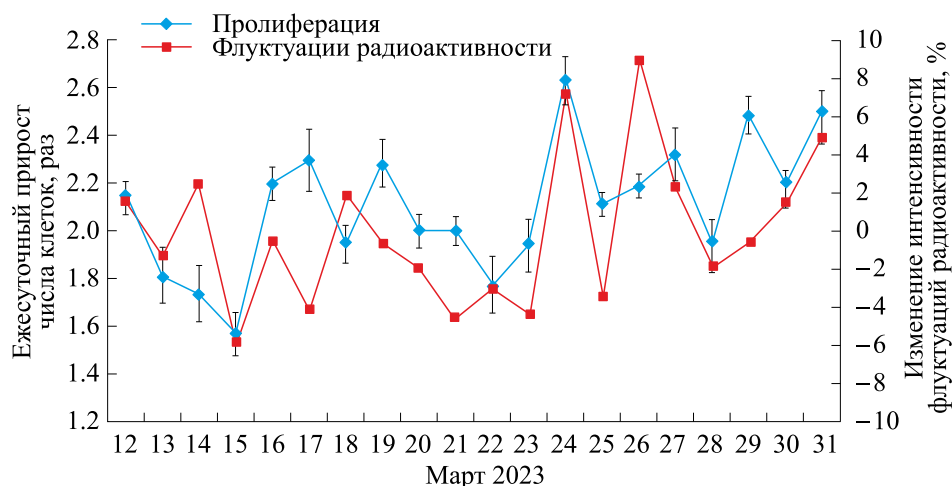


Рис. 4. Динамика ежесуточного приращения числа клеток культуры L-929 в сопоставлении с изменением интенсивности флуктуаций радиоактивности от ^{40}K . Данные по флуктуациям радиоактивности смещены на 1 сут вперед и для наглядности взяты с противоположным знаком.

будут наблюдаться в Москве. При анализе одно-временных рядов связь между показателями в Москве и Ульяновске в период 24 февраля—31 марта не наблюдалась, а в другой временной интервал (со 2 по 30 апреля) она регистрировалась, но по величине была значительно меньшая, чем по местному времени. Следовательно, фактор, влияющий на радиоактивный распад или систему его регистрации, не действует одновременно на все точки Земли. Нужно отметить, что заметный суточный тренд в динамике флуктуаций радиоактивности не наблюдается. Основной вклад в обнаруженный эффект вносят колебания в диапазоне 20—240 мин. Мы не обнаружили связи изменения радиоактивности с моментами восхода/захода Солнца, не наблюдается также резких изменений показателя в полдень или полночь. Однако именно вращение Земли каким-то образом определяет фазу этих колебаний в конкретной географической точке.

Необходимо отметить, что в условиях постоянного освещения у птиц циркадианный ритм составлял 23 ч, а фаза активности ежедневно смещалась по оси времени примерно на 1 час. Следовательно, полученный нами результат не может определяться случайным совпадением внутрисуточных гармоник биологического и физического процесса. Также нужно заметить, что для млекопитающих нами была получена более выраженная корреляционная связь, при сопоставлении динамики температуры тела не с абсолютными изменениями радиоактивности, а с интенсивностью их флуктуаций [12], тогда как для птиц такой закономерности не выявлено.

Основываясь на том, что показатель интенсивности радиоактивного распада является индикатором биотропного фактора среды, и фаза его колебаний определяется местным солнечным временем, можно прогнозировать ультраниантные ритмы активности животных с опережением в случае Ульяновск—Москва на 50 мин. Практического применения для этого метода пока трудно придумать, однако сам по себе факт работоспособности такого прогноза убедительно подтверждает обнаруженные вышеприведенные феномены.

Полученная нами отрицательная корреляционная связь между пролиферативной активностью культуры клеток и интенсивностью флуктуаций радиоактивности от ^{40}K указывает на действие искомого биотропного фактора не только через нервную или эндокринную систему, как это вероятно происходит в случае ультраниантных ритмов, но и непосредственно на отдельные фибробластоподобные клетки. Установленное нами 12-часовое запоздание реакции клеток на данный внешний фактор можно использовать при проведении химиотерапии, когда необходимо введение препарата в фазу деления клеток при максимальной чувствительности опухолевых клеток к препарату [22]. Вероятно, и колебания пролиферативной активности клеток и флуктуации радиоактивности являются независимыми следствиями некоторого внешнего фактора, подавляющего пролиферацию клеток и усиливающего флуктуации радиоактивности. Однако без проведения соответствующих исследований нельзя ис-

ключать и непосредственное действие флуктуаций радиоактивности на биообъекты.

ВЫВОДЫ

1. Динамика флуктуаций скорости счета от природного радиоактивного источника ^{40}K в географических точках, расположенных на разных долготах (Москва — Ульяновск), синхронизирована по местному солнечному времени.

2. На основе данных о флуктуациях радиоактивности ^{40}K в Ульяновске можно предсказывать с опережением на 50 мин динамику изменения температуры тела животных в Москве.

3. Установлена возможная прямая или косвенная связь флуктуаций радиоактивности ^{40}K и температуры тела исследуемых биообъектов.

4. Установлено, что ежесуточные показатели прироста численности клеточной культуры L-929 отрицательно коррелируют с интенсивностью флуктуаций радиоактивности ^{40}K .

5. Колебания пролиферативной активности клеток и флуктуации радиоактивности могут являться как взаимозависимыми, так и независимыми следствиями некоторого внешнего фактора, подавляющего пролиферацию клеток и усиливающего флуктуации радиоактивности. Однако эта разница не влияет на эффективность использования найденной связи для построения краткосрочного прогноза.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках темы Государственного задания ИПЭЭ РАН 0089-2021-0004 «Экологические и эволюционные аспекты поведения и коммуникации животных».

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

При работе с экспериментальными животными руководствовались Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета ЕС об охране животных, используемых в научных целях. Эксперимент одобрен комиссией по биоэтике ИПЭЭ РАН (Протокол № 14 от 15.01.2018 г.).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Л. Я. Глыбин, В. А. Святуха и Г. Ш. Цициашвили, *Биофизика*, **40** (4), 829 (1995).
2. C. Focan, G. Cornélissen, and F. Halberg, *In Vivo*, **9**, 401 (1995).
3. C. Maschke, J. Harder, G. Cornelissen, et al., *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **57**, 126 (2003).
4. R. Jozsa, A. Olah, G. Cornelissen, et al., *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **59**, 109 (2005).
5. В. Я. Бродский, *Биохимия*, **79** (6), 619 (2014).
6. I. D. Blum, L. Zhu, L. Moquin, et al., *Elife*, **3**, ID e05105 (2014).
7. C. Bourguignon and K. F. Storch, *Front. Neurol.*, **8**, ID 614 (2017).
8. М. Е. Диатроптов, Г. Н. Арсеньев, В. С. Шатеева и др., *Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского. Биология. Химия*, **8** (1), 76 (2022).
9. М. А. Диатроптова, А. М. Косырева, О. В. Макарова и др., *Бюл. эксперим. биологии и медицины*, **172** (8), 244 (2021).
10. М. Е. Диатроптов, Н. В. Ягова, Д. В. Петровский и А. В. Суров, *Бюл. эксперим. биологии и медицины*, **171** (5), 639 (2021).
11. М. Е. Диатроптов и М. А. Диатроптова, *Бюл. эксперим. биологии и медицины*, **171** (6), 777 (2021).
12. М. Е. Диатроптов и А. В. Суров, *Докл. РАН. Науки о жизни*, **509** (1), 137 (2023).
13. С. Э. Шноль, *Космофизические факторы в случайных процессах* (Svenska fysikarkivet, Стокгольм, 2009).
14. А. Г. Пархомов, *Космос. Земля. Человек. Новые грани науки* (Наука, М., 2009).
15. В. А. Панчелюга и М. С. Панчелюга, *Биофизика*, **60** (2), 395 (2015).
16. В. А. Панчелюга, *Метафизика*, № 4, 10 (2020).
17. A. G. Parkhomov. *Int. J. Pure Appl. Phys.*, **1** (2), 119 (2005).
18. E. Fischbach, J. B. Buncher, J. T. Gruenwald, et al., *Space Sci. Rev.*, **145**, 285 (2009).
19. S. A. Bogachev, A. G. Khralamov, I. A. Kishin, et al., *J. Phys.: Conf. Series*, **1690**, 012028 (2020).
20. V. Milián-Sánchez, F. Scholkmann, P. Fernández de Córdoba, et al., *Sci. Rep.*, **10**, ID 8525 (2020).
21. М. Е. Диатроптов, С. М. Слесарев и Т. А. Зенченко, *Бюл. эксперим. биологии и медицины*, **172** (7), 87 (2021).
22. M. A. Blank, V. A. Gushchin, F. Halberg, et al., *In Vivo* (Athens, Greece), **9** (4), 395 (1995).

Method for Short-Term Prediction of Ultradian and Infradian Rhythms Based on the Registration of Fluctuations in the Rates of Radioactive Decay of Potassium-40

M.E. Diatropov*, M.A. Diatropova**, and S.M. Slesarev***

*A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences, Leninskii prosp. 33, Moscow, 119071 Russia

**A.P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology, B.V. Petrovsky National Research Centre of Surgery, ul. Tsurupy 3, Moscow, 117418 Russia

***Ulyanovsk State University, ul. Lva Tolstogo 42, Ulyanovsk, 432017 Russia

Observations of fluctuations in the rates of radioactive decay of potassium-40, a naturally occurring radioactive isotope of potassium, were made simultaneously in Moscow and Ulyanovsk. It was shown that variations of the count rates from sources in these geographic areas did not happen at the same time but were synchronized with local solar time. Based on this observation and taking into account that fluctuations in the rates of radioactive decay correlate with body temperature rhythms, a method for short-term prediction of ultradian rhythms of animal activity was developed and validated. The correlation analysis was conducted to see the relationship between the dynamics of the intensity of radioactive decay rates variability and the daily growth rates of the cell culture L-929. It was found that the maximum correlation coefficient can be observed after comparison of the indicator of the proliferative activity of the culture with the value of the intensity of radioactive decay rates variability as it was the day before the comparison. Thus, based on the data on fluctuations in the rates of radioactive decay of potassium-40, which is an indicator of the biotrophic factor of the environment, it is possible to make short-term forecasts of ultradian and infradian biological rhythms.

Keywords: fluctuations, macrofluctuations, radioactivity, ultradian rhythms, infradian rhythms