

611. 013/018 (043.3)  
К 56

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РСФСР  
И МОСКОВСКИЙ ОРДЕНА ЛЕНИНА ГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ им. Н. И. ПИРОГОВА**

---

На правах рукописи

**КОВАЛЕВ Станислав Павлович**

**КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ АДАПТАЦИИ  
К ВОЗДЕЙСТВИЮ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ПОЛЯ  
ПРОМЫШЛЕННОЙ ЧАСТОТЫ**

**(03.00.11 — эмбриология и гистология)**

**А В Т О Р Е Ф Е Р А Т**

**диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук**

**МОСКВА — 1981 82**

Работа выполнена на кафедре гистологии и эмбриологии Запорожского медицинского института.

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор **ЗАГОРУЧЕНКО Е. А.**

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор **ДЕЛЕКТОРСКИЙ В. В.**

кандидат медицинских наук **КОРОЛЕВ Ю. Н.**

Ведущее учреждение

I Московский ордена Ленина и ордена Трудового Красного Знамени медицинский институт имени Н. М. Сеченова.

Защита состоится « 11 » *ноябрь* 198 *82* г. в \_\_\_\_\_ час.

на заседании специализированного совета К 084.11.07 по эмбриологии и гистологии во II Московском ордена Ленина медицинском институте имени Н. И. Пирогова. (г. Москва, Г-435, Малая Пироговская, д. 1а).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке института.

Автореферат разослан « \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 198 г.

**Ученый секретарь**

**специализированного совета**

**В. П. РЫБАКОВ.**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Изучение влияния факторов внешней среды на живые организмы и биологические среды имеет важное теоретическое и практическое значение. Среди других физических факторов особое место занимают электромагнитные излучения вследствие их чрезвычайно широкого распространения в окружающей среде. В последние годы в связи с бурным развитием энергетики и вводом в эксплуатацию линий электропередач рабочим напряжением 500, 750, 1150 кВ приобрел особую актуальность вопрос о биологическом действии в качестве производственного и экологического фактора электромагнитного поля промышленной частоты (ЭМП ПЧ) (50 Гц).

Исследованиями Т.Е.Сазоновой (1964, 1971), Т.П.Асановой и А.И.Ракова (1966), Ю.Д.Думанского с соавт. (1976а, б, 1977), Р.Д.Рабовича с соавт. (1977, 1978, 1979), Е.В.Прохватило (1976, 1977а, б), С.В.Колесникова и Б.А.Чухловина (1978), В.Д.Дышлогова с соавт. (1973, 1980), M. Shandala et al. (1979), A. Marino et al. (1974, 1976, 1977, 1980), G. Fisher et al. (1976), A. Sheppard, M. Eisenbud, (1977), P. Bernardi et al. (1978), D. Kolcun et al. (1979), C. Felstone et al. (1979), D. Hjerensen (1979) и других авторов установлено, что воздействие ЭМП ПЧ приводит к возникновению морфофункциональных нарушений нервной, сердечно-сосудистой, пищеварительной и мочеполовой систем. Однако, несмотря на определенный прогресс, достигнутый в этих исследованиях, многие первичные механизмы воздействия практически еще не вскрыты. Оспаривается возможность патологических эффектов поля (А.В.Икубенко и В.В.Луковкин, 1971; A. Kruger, E. Reed, 1975; E. Malbovzon, 1976; M. Struzza, 1976; H. Le Van, G. Andre, 1976; G. Wittke et al., 1977; R. Waibel, S. Schuy, 1978; B. Knave et al., 1979). Отсутствуют сведения по изучению процессов адаптации, компенсации и восста-

07к-000516

повлечения нарушенных функций. Накопленный обширный фактический материал в достаточной степени бессистемен, поскольку исследования ведутся на разных уровнях организма, не учитывая того, что наблюдаемые эффекты действия поля трансформированы на данные уровни, как справедливо отмечает О.Г.Кадников (1979), изменяя в элементарных клеточных процессах.

Цель работы. В настоящей работе поставлена цель — с помощью применения комплекса современных методов исследования изучить наличие, степень и характер биологического действия Э.П. частотой 50 Гц напряженностью электрической составляющей 50 и 150 кВ/м на культивируемые клетки человека и животных; определить состояние компенсаторно-приспособительных механизмов клеток, подвергаемых воздействию Э.П.

Основные задачи исследования.

1. Методом радиоавтографии изучить состояние процессов биосинтеза РНК, коллагена и неколлагеновых белков культивируемыми фибробластами под влиянием электромагнитного поля промышленной частоты изолированно и в условиях предварительного введения адреналина и циклического 3,5'-аденозинмонофосфата (цАМФ).

2. При тех же условиях эксперимента изучить состояние клеточных ядер, процессов пролиферации, колониеобразования и динамику неспецифической реакции клеток.

3. Сопоставить изменения, обнаруживаемые в ходе данных исследований с явлениями, наблюдаемыми в фибробластах в очаге асептического воспаления в условиях целостного организма, подвергаемого воздействию электромагнитного поля.

4. Обсудить возможность модификации влияния электромагнитного поля с помощью веществ, стимулирующих клеточные адаптационные механизмы.

Научная новизна исследования. Проведенное комплексное ис-

следование реакций клетки, как целостной системы, выведенной из-под организменного влияния, позволило установить ряд неизвестных ранее закономерностей в реакции клеток на электромагнитное поле промышленной частоты, связанных с непосредственным действием поля на клетку и протекающие в ней процессы. Обнаружено, что при достаточно длительном воздействии фактора в клетках могут возникать необратимые изменения, ведущие к их гибели. Дополнены сведения о характере первичного взаимодействия поля с клеточными структурами. Выявленные изменения являются неспецифическими и носят характер расстройств регуляции метаболизма. Нарушения процесса биосинтеза коллагена культивируемыми фибробластами под влиянием электромагнитного поля присущи также аналогичным клеткам в составе целостного организма. Обнаружен модифицирующий эффект веществ, стимулирующих клеточные адаптационные механизмы — адреналина, цАМФ и теофиллина.

Практическая ценность работы. Результаты исследований имеют значение для дальнейшей разработки теории биологического действия электромагнитных полей низкочастотного диапазона (50 Гц), уточнения имеющихся нормативов, регламентирующих пребывание людей в зоне влияния электромагнитного поля. Полученные данные способствуют углублению познаний закономерностей реакции клеток на применяемые экстремальные воздействия. Выявление возможности и рассмотрение механизмов предотвращения влияния поля с помощью веществ, стимулирующих клеточные адаптационные механизмы, является важным для разработки мер по предупреждению повреждающего влияния электромагнитного поля промышленной частоты на человека.

Апробация работы. Проведена на совместном заседании кафедр гистологии и эмбриологии, анатомии человека, патологической анатомии, топографической анатомии и оперативной хирургии Запорожского медицинского института и совместной научной конференции

кафедры морфологии медико-биологического факультета, кафедры гистологии и эмбриологии педиатрического факультета и группы эмбриогенеза II Московского медицинского института.

Публикации. Материалы диссертации доложены на Всесоюзной конференции "Актуальные проблемы развития человека и млекопитающих" (Москва, 1979г.), V Всесоюзной конференции "Физиология и патология соединительной ткани" (Новосибирск, 1980г.), I Украинском съезде анатомов, гистологов, эмбриологов и топографоанатомов (Винница, 1980г.), на заседании Запорожского областного общества анатомов, гистологов и эмбриологов (Запорожье, 1979г.), конференциях молодых ученых Запорожского медицинского института (1976-1980гг.), конференции Запорожского медицинского института по результатам внедрения изобретений и рационализаторских предложений (1977г.). Результаты опубликованы в 5 научных работах.

Объем работы. Диссертация построена по традиционному плану, изложена на 220 страницах машинописного текста, иллюстрирована 38 рисунками и 2 таблицами на 33 страницах. Работа состоит из введения, 4 глав, заключения, выводов и указателя литературы из 462 названий /из них: 259 отечественных и 203 иностранных источников.

#### СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования. Для решения поставленных вопросов проведены экспериментальные исследования с использованием первично-трипсицизированной культуры фибробластоподобных клеток эмбриона человека (75 культур); перевиваемой культуры фибробластов китайского хомячка (штамм BIIIdi FAF -28 клон 237 - 45 культур); млекопитающей линии СВА-св20р (90 животных).

Первично-трипсицизированная культура фибробластов эмбриона человека готовилась по общепринятой методике и выращивалась на

покровных стеклах в пробирках (Д.Б.Голубев с соавт., 1976) и в микрочашках на предметных стеклах по модифицированному нами методу - F. Hernandez-Baumgarten, (1975) (С.П.Ковалев, 1979), в ростовой среде, содержащей среду I99 (2/3), лактальбумин (1/3) с добавлением 10% сыворотки крупного рогатого скота. Перевиваемые культуры фибробластов китайского хомячка, используемые для оценки выживаемости клеток и патологии митоза, выращивались во флаконах Карреля и на покровных стеклах в пробирках в среде Игла (90%) с добавлением сыворотки крупного рогатого скота (10%) и глутамина (1%). Изучение реакции фибробластов в условиях целостного организма проводилось в очаге асептического воспаления, вызываемого введением стерильных целлоидиновых бло-ков размерами 2x2x5 мм мышам под кожу спины на срок 1, 3, 5, 6 и 9 суток (Н.Г.Хрущов, 1976).

Объекты подвергались воздействию электромагнитного поля частотой 50 Гц напряженностью электрической составляющей 50 и 150 кВ/м в сроки от 1 до 48 часов (тканевые культуры) и от 1 до 9 суток (животные). Выбор напряженности 50 кВ/м в качестве исходной обусловлен: топологией электромагнитных полей вблизи токонесущих элементов подстанций и линий электропередач (Л.В. Прохватило, 1978); теоретическими расчетами особенностей проникновения поля в биологические объекты и поглощения энергии ЭМП в биологическом материале (С.М.Майнелсон, 1975; A. Sheppard, M. Eisenbud, 1977); принципом "10-кратного запаса прочности", используемого в гигиенических исследованиях, при условии, что величина напряженности 5 кВ/м предусмотрена в качестве предельно допустимой величины, начиная с которой пребывание людей в ЭМП должно регламентироваться (Ю.Д.Думанский, Л.В.Прохватило, 1979; A. Sheppard, M. Eisenbud, 1977). Кроме того, данная величина

напряженности достаточно часто используется в исследованиях других авторов, что делает возможным сравнение полученных результатов. В качестве заведомо повышенной, вызывающей изменения с большей степенью достоверности, выбрана величина напряженности 150 кВ/м. Экспериментальная установка, моделирующая воздействие электромагнитного поля частотой 50 Гц заданной напряженности на культуру ткани, состояла из повышающего трансформатора ТТ - 1020 У1, имеющего напряжение на выходе 7500 В при включении в сеть 220 В. Свободный электрод подвешивался внутри термостата на штанге из диэлектрика на расстоянии 5 см от днища камеры. Таким образом, в пределах цилиндра между электродом и дном термостата создавалось однородное электрическое поле, в которое помещались сосуды с культивируемыми клетками. Расчет напряженности поля проводился по формуле  $E = \frac{U}{l}$  где  $U$  - напряжение на выходе трансформатора, измеряемое киловольтметром С-196, и  $l$  - расстояние между электродами. Облучение экспериментальных животных осуществлялось на установке, состоящей из трансформатора УРС-70 К1, имеющего выходное напряжение 75 кВ, и двух плоско-параллельных пластин, на которые подавалось напряжение, измеряемое киловольтметром. Мыши помещались в поле в клетке из оргстекла, обдуваемой вентилятором для удаления озона, образующегося у края пластин при явлении коронирования.

Регистрируемыми показателями в культуре ткани при исследовании биологического действия ЭМП ПЧ явились: динамика колониеобразования, митотическая активность и течение митоза, состояние ядер - площадь, структура хроматина, количество ядрышек, динамика неспецифической реакции, синтез РНК, коллагена и неколлагеновых белков. Изучение течения асептического воспаления проводилось посредством регистрации толщины фибробластической капсулы и интенсивности синтеза коллагена фибробластами.



С целью изучения наличия и определения степени чувствительности клеток к воздействию ЭМП применялась проба Пака и Маркуса (Т.Ракс, Р.Маркус, 1956), позволяющая оценить выживаемость клеток по их способности образовывать макроколонии. В эксперименте использована культура фибробластов китайского хомячка. Облучение проводили двумя методами — в течение всего периода культивирования (7 суток), а также предварительно перед посевом в течение 5, 24 и 48 часов. Результаты оценивались путем подсчета количества колоний опытных и контрольных культур, а также количества клеток в колониях с учетом эффективности посева. Митотическую активность определяли путем подсчета фигур митоза с учетом фаз на 5000 клеток и выражали в промилле (‰). Определение патологических форм митоза проводилось в соответствии с указаниями И.А.Алова (1972), В.М.Блюмкина и В.Н.Хданова (1971). В целях повышения достоверности результатов в данном эксперименте нами использована культура фибробластов китайского хомячка, имеющая высокий митотический индекс.

Оценка состояния интерфазных ядер проводилась на препаратах, обработанных по методу Фельгена (Б.Ромейс, 1953). Определение площади ядер осуществлялось по формуле площади эллипса, (Я.Е.Хесин, 1957). Измерения проводились с помощью окулярного микрометра МОВ-1. Полученные данные разбивались на 14 классов в логарифмической последовательности с классовым интервалом  $0,05 \lg \text{мкм}^2$ . Определялись средние взвешенные для каждого класса и по ним строились вариационные кривые. Степень и характер конденсации хроматина интерфазных ядер изучали путем визуального подсчета количества конденсированных хроматинных образований (С.Т. Ворсанова и К.Н.Гринберг, 1977; Т.Тралка et al., 1979). Результаты представлены в виде гистограмм. Подсчет количества ядрышек, окрашенных светлым зеленым, проводился визуально. Определялось

также среднее содержание ядрышек на ядро (А.И.Керудило, В.Ф.Семешин, 1966; С.И.Машкин, М.И.Назарова, 1975).

Синтез РНК изучался методом радиоавтографии с использованием в качестве предшественника  $5\text{-H}^3$ -уридина (уд. акт. 3,3 мкюри/мл) в концентрации 2 мкюри/мл при длительности экспозиции 20 мин. Контроль включения предшественника осуществлялся при помощи обработки препаратов РНК-азой (1 мг/мл - 1 мин), обработки 10% раствором ТХУ (5 мин) (П.М.Махуга, В.В.Черкасов, 1974; P. Nauth, D. Quaglino, 1965). Препараты покрывали эмульсией типа "М" и экспонировали в течение 2-х недель. Интенсивность метки оценивали путем визуального подсчета зерен серебра над 100 ядрами клеток культуры с учетом фона. Изучение синтеза коллагена проводили с помощью  $\text{C}^{14}$ -пролина (уд. акт. 29,5 мк/г; 3,4 мкюри/мл) в дозе 2 мкюри/мл при длительности экспозиции 2 часа (Н.Т.Хрущов, 1966). Препараты покрывали эмульсией типа "Р" и экспонировали в течение 2-х недель. Подсчет количества автографов проводили на стандартной площади над 100 клетками культуры с учетом фона. Синтез неколлагеновых белков изучался с применением  $\text{C}^{14}$ -триптофана (уд. акт. 25 мк/г; 5,1 мкюри/мл) - аминокислоты, не содержащейся в коллагене (В.И.Мазуров, 1974), в дозе 2 мкюри/мл при 2-х часовой экспозиции.

Динамика неспецифической реакции изучалась путем определения доли клеток, диффузно окрашенных нейтральным красным (Л.Х.Эйбус, 1977; Ю.И.Корыстов, 1977). Покровные стекла с культурами по окончании срока воздействия погружали в среду 199, содержащую 0,02% нейтрального красного, на 1 мин. Подсчет количества диффузно окрашенных клеток производили из расчета 200 клеток на каждую временную точку.

Изучение синтеза коллагена фибробластами очага асептического воспаления производили путем введения животным за 2 часа до

окончания срока опыта на 1, 3, 5, 6 и 9-е сутки  $C^{14}$ -пролина в дозе 2 мкг/ори/г веса. Парафиновые срезы толщиной 5-7 мкм покрывали эмульсией типа "Р" и экспонировали в течение 2-х недель. Подсчет количества автографов над фибробластами в составе капсулы проводили в 4-х квадратах окулярной сетки на площади  $400 \text{ мкм}^2$  над 100 клетками препарата.

В целях изучения возможного адаптивного эффекта и детализации биоэффектов поля предварительно применяли вещества: адреналин, циклический 3',5'-аденозинмонофосфат и теофиллин. Выбор данных веществ обусловлен их участием в адаптационных реакциях и важной ролью системы циклического АМФ в молекулярных механизмах повреждения клетки (Э.Ш.Матлина с соавт., 1973; А.Д.Браун с соавт., 1974; Г.И.Дорофеев с соавт., 1978). Адреналин, стимулирующий внутриклеточное образование цАМФ, в частности, в культивируемых фибробластах (D. Dixon-Shanley, J. Knittle, 1976), вводился в конечной концентрации  $1 \times 10^{-7}$  и  $1 \times 10^{-5}$  г/мл (Ю.А.Романов, 1969; А.К.Рябуха, 1973). Циклический АМФ применялся в концентрации  $3 \times 10^{-5}$  М (G. Johnson et al., 1971; G. Manjer, M. Kuleva, 1974; С.И.Полыкарпова, Е.Б.Васильева, 1980). В условиях целостного организма повышение внутриклеточной концентрации цАМФ осуществлялось путем введения блокатора фосфодиэстеразы цАМФ - теофиллина (R. Butcher, E. Sutherland, 1962), в дозе 15 мг/кг (И.П.Западнюк с соавт., 1974).

Результаты проведенных экспериментов подвергнуты статистической обработке с использованием элементов корреляционно-регрессионного анализа на ЭВМ "Электроника-100". Статистические характеристики выборок рассчитывались с учетом изменчивости признака в каждой культуре (Г.С.Катинас с соавт., 1969; Г.С.Катинас, В.Б.Полонский, 1970; Г.С.Катинас, 1977).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В изученной литературе мы не встретили сведений о том, вызывает ли воздействие электромагнитного поля промышленной частоты необратимые нарушения жизненно важных функций клеток, что могло бы привести к их гибели. Имеющиеся данные (В.Д.Дышловой, В.С.Качура, 1977) свидетельствуют об отсутствии выраженных изменений в составе монослоя культивируемых клеток. Лишь применение очень высоких напряженностей поля, порядка 2000–6000 В/см (А. Marino, R. Becker, 1977) в течение длительного времени (7 суток) вызывало гибель культур и сползание клеток с подложки. Однако указанные сроки являются предельными при культивировании первично-трипсинизированных культур. Следовательно, полученные данные нельзя считать всецело обусловленными воздействием ЭМП. В этом случае применение клонирования позволяет при прохождении клетками ряда последовательных делений выявить скрытые повреждения, что выражается в снижении эффективности клонирования и появлении "малых" или abortивных колоний (С.И.Армоненко, 1977; Т. Puck, P. Marcus, 1956). В наших опытах постоянное воздействие ЭМП напряженностью 50 кВ/м в течение всего периода роста клеточной популяции не вызывало достоверного снижения числа колоний по сравнению с контролем. Однако количество клеток в составе колоний снижалось весьма значительно, составляя 49,7% от контрольного уровня. При действии ЭМП напряженностью 150 кВ/м повреждение проявлялось в ближайшие сроки, что вызывало снижение количества колоний до 27,8% от контрольного уровня. Размножению клеток, успешно заканчивающих первые деления, подавлялось при прохождении последующих делений, что приводило к образованию "малых" колоний. Предварительное, проводимое перед посевом, 5-ти часовое воздействие ЭМП напряженностью 50 кВ/м не вызывало досто-

верных изменений показателей эффективности клонирования. Увеличение времени экспозиции до 24 часов оставляло неизменным число образующихся колоний, вызывая некоторое снижение количества клеток в колониях (74,5%). 24-часовое воздействие ЭМП напряженностью 150 кВ/м вызывало снижение содержания колоний и количества клеток в колониях, соответственно, до 79,5 и 70,8% от контрольного уровня. 48-ми часовая экспозиция клеток в период субкультивирования с ЭМП 50 кВ/м приводила к уменьшению числа колоний до 83,4% и содержания клеток в колонии до 87,5% от контрольных показателей. Под влиянием ЭМП напряженностью 150 кВ/м эффективность клонирования составила 58,3%. Содержание клеток в колонии при этом снижалось до 53,1%.

Обнаруженные изменения колониобразующих свойств фибробластов тесным образом связаны с выявленным нами нарушением клеточной пролиферации. Под влиянием ЭМП напряженностью 50 кВ/м через 5 часов от начала воздействия наступало снижения митотического индекса с  $4,16 \pm 0,25\%$  в контроле до  $2,05 \pm 0,34\%$  в опыте ( $P/0,01$ ). В динамике облучения пролиферативная активность культуры восстанавливалась. Митотический индекс при этом достигал  $4,60 \pm 0,27\%$ , оставаясь, однако, ниже уровня контрольных культур на данной стадии культивирования -  $5,90 \pm 0,36\%$ . ЭМП напряженностью 150 кВ/м вызывало более глубокие сдвиги в процессе пролиферации. Под влиянием фактора через 5 часов от начала воздействия митотический индекс снижался с  $4,16 \pm 0,25\%$  до  $2,21 \pm 0,30\%$  ( $P/0,01$ ). При исследовании через 48 часов митотическая активность не восстанавливалась, составляя  $2,58 \pm 0,34\%$  против  $5,90 \pm 0,36\%$  в контроле ( $P/0,01$ ).

Наблюдаемое снижение интенсивности пролиферации под влиянием электромагнитного поля промышленной частоты сочетается с возрастанием числа патологических митозов. Кратковременное воздействие ЭМП напряженностью 50 и 150 кВ/м незначительно увеличивало

общий уровень патологических митозов - соответственно, до 13,6% и 14,2% против 11,2% в контроле ( $P < 0,05$ ). Длительная экспозиция с ЭМП напряженностью 50 кВ/м вызвала нарастание общего числа патологических форм митоза с 8,7% в контроле до 19,8% в опыте ( $P < 0,01$ ). Наиболее выраженные изменения развивались под влиянием 43-ми часового воздействия ЭМП напряженностью 150 кВ/м. Общий уровень патологии митоза достигал 39,4%. Основными формами патологии явились: хромосомные и хроматидные мосты - 44,2%, отставание хромосом в метакинезе - 21,1%, 3-х групповые метафазы - 6,6%, 3-х полюсные митозы - 3,4%, пикнотизация ядер в телофазе - 2,9%.

Приведенные результаты экспериментов показывают, что электромагнитное поле оказывает непосредственное действие на культивируемые фибробласты, вызывая нарушение пролиферации и появление патологических форм митоза, возникновение которых, как указывают И.А.Алов (1972, 1975), Л.С.Строчкова (1978), М.Н.Болтовская с соавт. (1979), связано с нарушением спирализации хромосом и синтеза белка, функционально связанных с делением клетки. Полученные нами данные согласуются с результатами исследований Р.Б.Самойловой и У.Ш.Ахмедова (1969), Ф.В.Зуникова (1972), В.Ю.Стрепыовой (1973), I. Tudosa (1972), R. Negrich (1976), A. Marino, R. Vesica (1977) о снижении уровня митотической активности и появлении патологических митозов под влиянием сходных по частотно-энергетическим характеристикам электромагнитных факторов. Нарушение колониеобразующих свойств фибробластов в условиях предварительного воздействия ЭМП свидетельствует о наличии кумулятивных эффектов в характере действия ЭМП ПЧ.

Воздействие электромагнитного поля вызвало изменения в составе клеточных ядер. 5-ти часовое облучение полем напряженностью 50 кВ/м приводило к снижению средних показателей площади

ядер фибробластов с  $I,1966 \pm 0,00293 \text{ лг мкм}^2$  в контроле до  $I,1825 \pm 0,00237 \text{ лг мкм}^2$  в опыте. Удлинение экспозиции до 48-ми часов вызывало дальнейшее снижение средних показателей площади до  $I,1650 \pm 0,00367 \text{ лг мкм}^2$  ( $P/0,01$ ). При этом наблюдалось выраженное смещение вершины вариационной кривой, соответствующей главному классу с  $I,25$  до  $I,15 \text{ лг мкм}^2$ . Площадь ядер клеток, подверженных воздействию ЭМП напряженностью  $150 \text{ кВ/м}$  через 5 часов снижалась до  $I,1738 \pm 0,00319 \text{ лг мкм}^2$  против  $I,1966 \pm 0,00293 \text{ лг мкм}^2$  в контроле, а через 48 часов -- до  $I,1563 \pm 0,00384 \text{ лг мкм}^2$  с  $I,2669 \pm 0,00234 \text{ лг мкм}^2$  в контроле ( $P/0,01$ ).

Кратковременное облучение культуры фибробластов ЭМП напряженностью  $50 \text{ кВ/м}$  приводило к статистически достоверному нарастанию числа клеток, ядра которых не содержат конденсированных образований хроматина, в среднем на  $12\%$ . Спустя 48 часов от начала воздействия происходило снижение содержания ядер с диффузным хроматином в среднем на  $15\%$  при одновременном увеличении содержания гетерохроматинизированных ядер. ЭМП напряженностью  $150 \text{ кВ/м}$  в ранние сроки воздействия вызывало значительное повышение содержания ядер с диффузным хроматином -- на  $16,8\%$ . 48-ми часовое воздействие резко увеличивало содержание гетерохроматинизированных ядер.

Среднее содержание ядрышек под воздействием ЭМП напряженностью  $50 \text{ кВ/м}$  в ранние сроки возрастало с  $2,58$  до  $2,83$  на ядро за счет увеличения доли ядер с 3-5 ядрышками. Удлинение сроков воздействия оставляло неизменным среднее число ядрышек на ядро --  $2,86$ . ЭМП напряженностью  $150 \text{ кВ/м}$  вызывало выраженное снижение содержания ядрышек на ядро -- до  $1,82$  в отличие от  $2,58$  в контроле.

Динамика изменений интенсивности синтеза РНК под влиянием напряженности электромагнитного поля в  $50 \text{ кВ/м}$  характеризовалась повышением концентрации радиоактивной метки, обусловленной

включением  $H^3$ -уридина в ядра культивируемых фибробластов в среднем на 53,6% выше контрольного уровня. Увеличение интенсивности воздействия до 150 кВ/м обуславливало прогрессивное уменьшение скорости включения предшественника. Интенсивность метки при этом составила  $8,3 \pm 3,21$  зерен серебра на ядро против  $17,3 \pm 5,18$  в контроле ( $P < 0,01$ ).

Обнаруженные изменения в составе клеточных ядер свидетельствуют об активации компенсаторно-приспособительных механизмов в клетках в ранние сроки исследования. Наши данные согласуются с результатами исследований В.В. Лоцуховой с соавт., (1977), наблюдавших нарастание содержания ядрышек в гепатоцитах мышей под влиянием электрических полей. По мнению А.Д. Харазовой, (1974), активация биосинтеза РНК на ранних этапах внешнего воздействия является следствием развития в клетках активного компенсаторного процесса, являющегося отражением явления "репаративной адаптации" (В.Я. Александров, 1966; Д.С. Саркисов с соавт., 1980). Длительное воздействие ЭМП напряженностью 150 кВ/м приводило к стойкому угнетению исследуемых функций в результате декомпенсации клеточных адаптационно-приспособительных механизмов.

Введение адrenalина в концентрациях  $1 \times 10^{-7}$  и  $1 \times 10^{-5}$  г/мл перед воздействием электромагнитного поля вызывало повышение средних показателей площади ядер до  $1,2620 \pm 0,00314$   $1 \text{ гмкм}^2$  и  $1,2477 \pm 0,00283$   $1 \text{ г мкм}^2$  против  $1,1650 \pm 0,00367$   $1 \text{ г мкм}^2$  при действии ЭМП напряженностью 50 кВ/м и  $1,2225 \pm 0,00256$   $1 \text{ г мкм}^2$  и  $1,2539 \pm 0,00269$   $1 \text{ г мкм}^2$  против  $1,1563 \pm 0,00384$   $1 \text{ г мкм}^2$  при действии ЭМП напряженностью 150 кВ/м. Воздействие гормона приводило к нарастанию содержания ядер с диффузным хроматином и увеличению среднего содержания ядрышек на ядро до 3,05 и 2,94 против 2,86 при изолированном действии ЭМП. Интенсивность синтеза РНК под влиянием ЭМП напряженностью 50 кВ/м в условиях предварительного введения



адреналина была близкой той, которая имела место при изолированном действии ЭМП. Уровень включения  $H^3$ -уридина в ядра фибробластов, испытывающих действие ЭМП напряженностью 150 кВ/м и адреналина превысил отмеченный при действии отдельно взятого ЭМП в среднем на 48,2%.

Динамика синтеза коллагена фибробластами под влиянием ЭМП напряженностью 50 кВ/м характеризовалась угнетением процесса, регистрируемым по снижению интенсивности метки, обусловленной включением  $C^{14}$ -пролина в цитоплазму клеток, в среднем до 48% от уровня контрольных культур. Интенсивность включения  $C^{14}$ -триптофана, отражающего синтез неколлагеновых белков, под влиянием поля данной напряженности превысила в 1,79 раза уровень контрольных культур. Динамика изменения синтеза коллагена под влиянием ЭМП напряженностью 150 кВ/м характеризовалась прогрессивным угнетением данной функции. Концентрация радиоактивной метки снижалась, составляя в среднем 0,76 от уровня контрольных препаратов. Синтез неколлагеновых белков под влиянием фактора данных параметров (150 кВ/м) усиливался в ранние сроки в 1,41 раза с последующим угнетением.

Различия в степени подверженности влиянию поля процессов синтеза коллагена и неколлагеновых белков заключаются, по-видимому, как в отличии механизмов биосинтеза этих белков, так и в неоднозначности генетической детерминированности этих процессов. Отличия в механизме заключаются в необходимости гидроксирования пролина и лизина - аминокислот, составляющих значительную долю аминокислотного состава коллагена. Гидроксирование протекает в присутствии ионов металла, аскорбиновой кислоты, во многом зависит от напряжения кислорода внутри клетки и является, таким образом, лимитирующим фактором (М.Хвашиц, И.Гурник, 1968; R. Bhatnagar, S. Karaka, 1971). Изменение содержания одного

из этих компонентов вследствие воздействия поля приводит к снижению интенсивности синтеза коллагена. Вероятно также, что синтез коллагена характеризуется особым состоянием генетического аппарата клетки, обеспечивающем возможность транскрипции соответствующих участков генома (Д.С.Саркисов с соавт., 1980). Активность этих участков может изменяться, например, на протяжении клеточного цикла (R.Priest, 1972). В связи с этим закономерным оказывается предположение о разной чувствительности процессов биосинтеза к внешним воздействиям, прямо или косвенно оказывающим влияние на генетический аппарат клеток.

Исследование процесса биосинтеза коллагена в условиях предварительного введения адреналина в концентрации  $1 \times 10^{-7}$  г/мл показало, что совместное влияние гормона и ЭМП напряженностью 50 кВ/м характеризовалось незначительной интенсификацией включения  $C^{14}$ -пролина в фибробласты в поздние (24-48 ч.) сроки исследования по сравнению с культурами, не содержащими гормона. Предварительное введение адреналина в концентрациях  $1 \times 10^{-7}$  г/мл и  $1 \times 10^{-5}$  г/мл вызывало выраженное снижение интенсивности синтеза неколлагеновых белков, (соответственно до 0,68 и 0,49 от контрольного уровня), активность биосинтеза которых под влиянием ЭМП напряженностью 50 кВ/м возрастала весьма значительно. Влияние предварительно введенного циклического АМФ в концентрации  $3 \times 10^{-5}$  м в условиях воздействия ЭМП напряженностью 50 кВ/м на синтез коллагена и неколлагеновых белков имело характеристики, по динамике и направленности близкие к действию адреналина в концентрации  $1 \times 10^{-5}$  г/мл, но отличалось большей выраженностью. Результаты опытов по воздействию ЭМП напряженностью 150 кВ/м на культуры фибробластов, содержащие предварительно введенные адреналин и ЦАМФ показали, что введение препаратов предотвращало выраженное угнетение процессов биосинтеза. Введение адрена-

лина в концентрации  $1 \times 10^{-7}$  г/мл повышало интенсивность включения  $C^{14}$ -пролина в среднем в 2,33 раза по сравнению с культурами, не содержащими агента. Влияние адреналина в концентрации  $1 \times 10^{-5}$  г/мл характеризовалось повышением интенсивности синтеза по сравнению с культурами, не содержащими агента, в 1,54 раза. Выраженным стимулирующим действием обладал предварительно введенный цАМФ в концентрации  $3 \times 10^{-5}$  М. Введение препарата повышало интенсивность метки, обусловленной включением  $C^{14}$ -пролина, в 3,35 раза по сравнению с культурами, испытывавшими изолированное влияние ЭМП.

Действие адреналина связано со специфической активацией аденилатциклазы - фермента, входящего в состав клеточной оболочки и катализирующего внутриклеточное образование циклического АМФ (T. Rall, 1972). Данная реакция, являющаяся характерной для многих тканей, присуща также культивируемым эмбриональным фибробластам (D. Dixon-Shanley, J. Knittle, 1976). Система циклического АМФ играет ведущую роль в регуляции метаболизма клетки, контролируя реализацию генетической информации и регулируя биосинтез белков на уровне транскрипции и трансляции (J.-P. Jost, H. Rickenberg, 1971; Ю. Ю. Чирков, 1977). Резкое повышение внутриклеточного содержания цАМФ индуцирует возникновение "биохимического шока", постулированного Баком и Александром (З. Бак, П. Александр, 1963), что выражается в ингибировании пролиферации клеток (G. Che-Chung, P. Gallino, 1974), угнетении биосинтеза ДНК (T. Diamanstein, A. Ulmer, 1975), задержке клеточного цикла в фазе  $G_1$  (R. walters et al., 1974), стимуляции синтеза функциональных белков (T. Kanamori et al., 1974). Данные эффекты осуществляются посредством активации протеинкиназ, стимулируемых цАМФ (D. Walsh, E. Krebs, 1973), фосфорилирующих ферменты и структурные белки. Повышение фонда макромолекул в ответ на внешнее воздействие является следствием активного компенсаторного процесса (А. Д. Каразова, 1974), об-

ший базисный механизм которого состоит в увеличении трофики-пластической и энергетического потенциала клетки, выполняющей специфическую функцию, и обеспечивается активацией генетического аппарата клетки, системы ДНК-РНК-белок (Г.Н.Крыжановский, 1972). Таким образом, предварительное введение адреналина и цАМФ приводило к индукции описанных выше процессов и обеспечивало создание "биохимического фона резистентности" что предотвращало выраженные сдвиги в синтезе белков под влиянием ЭМП. Более выраженным действием обладал экзогенный цАМФ, вводимый в культуральную среду, что может быть обусловлено нарушением его внутриклеточного образования под влиянием адреналина вследствие повреждения мембранных ферментов.

Существенным условием для изучения характера биологического действия ЭМП ИЧ является обнаружение возможных черт агентоспецифичности, что имеет важное значение для оценки адаптационных возможностей клетки. Влияние электромагнитного поля напряженностью 50 кВ/м стимулировало нарастание содержания клеток, диффузно окрашенных нейтральным красным, к 48-ми часам превысившее контрольный уровень на 26,6%. Прекращение воздействия ЭМП приводило к восстановлению гранулярного распределения красителя, которое постепенно замедлялось по мере удлинения сроков воздействия. Воздействие ЭМП напряженностью 150 кВ/м стимулировало более выраженное подавление процесса гранулообразования, вместе с тем, восстановление гранулярного распределения красителя значительно замедлилось. Предварительное введение адреналина обуславливало выраженное нарастание содержания диффузно окрашенных клеток. Однако восстановление гранулярного распределения красителя происходило достаточно быстро и в полном объеме.

Обнаруженные закономерности влияния ЭМП показали, что под воздействием фактора в клетках развивается неспецифическая ре-

акция, возникновение которой связано с декомпартментализацией низкомолекулярных соединений в результате ингибирования механизмов активного транспорта мембран лизосом (Л.Х.Эйдус, 1976, 1977; Ю.И.Корыстов, 1977). Полученные данные, таким образом, подтверждают мнение исследователей Н.И.Гончаровой (1972), С.Л.Арбера и А.А.Аджимолаева (1975), Э.Ш.Исмаилова (1977), О.Г.Кадникова (1979), W. Arnold, J. Azzi (1977), о том, что одним из основных проявлений биологического действия ЭМП низкочастотного диапазона на клеточном уровне — нарушение функций клеточных мембран вследствие их поляризации. Стимуляция развития неспецифической реакции предварительно введенным адреналином с последующим быстрым и полным восстановлением исходного состояния после прекращения воздействия характеризуют одну из сторон адаптивного эффекта гормона, опосредуемого системой ЦАМФ.

Своеобразие биологического действия ЭМП низкочастотного диапазона заключается в их способности глубоко проникать в ткани организма, оказывая непосредственное влияние на клетки организма (И.Г.Герцен, 1976; С.Г.Кадников, 1979; C. Gary, 1976; A. Marino et al., 1977). Ежедневное 12-ти часовое воздействие ЭМП напряженностью 50 кВ/м изменяло характеристики развития процесса асептического воспаления у экспериментальных животных. Наиболее выраженные различия между сном и контролем отмечено на 6-е сутки после введения инородного тела. Размеры фибробластической капсулы составили в среднем около 140 мкм в опыте в отличие от 220 мкм у контрольных животных. Интенсивность включения  $C^{14}$ -пролина в фибробласты в составе капсулы при этом составила  $12,6 \pm 3,07$  зерен серебра на клетку при уровне  $14,3 \pm 3,16$  в контроле (P/0,01). Воздействие электромагнитного поля в условиях параллельного ежедневного 3-х кратного введения животным блокатора фосфодиэстеразы — теофиллина в дозе 15 мг/кг приводило

к усилению интенсивности синтеза коллагена, выражающемуся в нарастании концентрации радиоактивной метки, обусловленной включением  $C^{14}$ -пролина, до  $16,7 \pm 4,21$  зерен серебра на клетку. Толщина фибробластической капсулы при этом достигала 250 мкм.

Учитывая данные литературы о преимущественном участии в асептическом воспалении экзогенной популяции фибробластов, (М.А. Ланге, Н.Г. Хруцов, 1973), вероятно предположить, что ЭМП оказывает сочетанное влияние, нарушая процесс размножения клеток в ране, а также дифференцировку предшественников. Снижение интенсивности биосинтеза коллагена явилось результатом непосредственного влияния фактора на функционирующие клетки. Полученные нами данные о стимуляции биосинтеза коллагена фибробластами под влиянием теофиллина согласуются с результатами других исследователей, наблюдавших активацию деятельности фибробластов в очаге асептического воспаления под влиянием биологически активных веществ — катехоламинов, теофиллина, резерпина (М.К. Васильцов, 1972; А.М. Чернух, 1979). Активирующее влияние теофиллина на синтез коллагена фибробластами обусловлено возрастанием внутриклеточной концентрации цАМФ вследствие блокирования фосфодиэстеразы (R. Butcher, F. Sutherland, 1962; W. Cheung, 1970, 1971).

Обобщая приведенные результаты, представляется возможным выделить ряд существенных черт в наблюдаемых явлениях взаимодействия ЭМП промышленной частоты с изучаемыми объектами. Для исходной напряженности 50 кВ/м, являющейся, как показывает данные литературы, верхним уровнем реально существующих в настоящее время параметров воздействия на человека в условиях производства, характерна разнонаправленность изменений в изучаемых клетках, выражающаяся, с одной стороны, в активации защитно-приспособительных механизмов и, с другой стороны, наличии конкурентивных эффектов, проявляющихся в отдаленные сроки. В усло-

виях целостного организма это проявляется, в конечном итоге, в нарушении биологически целесообразной деятельности клеток. Наблюдаемая дезинтеграция клеточных функций — активация генетического аппарата клеток при одновременном угнетении клеточной пролиферации и процесса биосинтеза коллагена (фибробластами — является, как указывает Г.Н.Крижановский (1972), показателем принадлежности наблюдаемых изменений к классу патологических процессов, именуемых расстройствами регуляции. Подтверждением этому служат результаты опытов с предварительным введением веществ, обладающих адаптогенными свойствами, обнаруживших достоверную эффективность. Полученные результаты являются предпосылкой для дальнейшей разработки мер по предупреждению повреждающего влияния электромагнитного поля промышленной частоты.

#### В ы в о д ы

1. Электромагнитное поле частотой 50 Гц напряженностью электрической составляющей 50 и 150 кВ/м оказывает непосредственное действие на культивируемые фибробласты, вызывая значимые, статистически достоверные изменения основных процессов жизнедеятельности клеток.

2. Электромагнитное поле промышленной частоты обладает кумулятивными эффектами и обуславливает развитие необратимых изменений в клетках, приводящих к их репродуктивной гибели с нарушением колониобразующих свойств. Отмеченные изменения наступают при длительности воздействия электромагнитного поля напряженностью 50 кВ/м 24 часа и более. Электромагнитное поле напряженностью 150 кВ/м вызывает развитие необратимых изменений в более короткие сроки.

3. Воздействие электромагнитного поля вызывает угнетение митотической активности культивируемых фибробластов и значитель-

ное возрастание уровня патологических митозов: хроматидных и хромосомных мостов, отставания хромосом в метакинезе, 3-х групповых метафаз и 3-х полных митозов. Обратимость ингибирования митотической активности, наблюдаемая под влиянием электромагнитного поля напряженностью 50 кВ/м, нарушается при действии электромагнитного поля напряженностью 150 кВ/м.

4. Признаки адаптационно-компенсаторных проявлений, характеризующиеся возрастанием интенсивности синтеза РНК и неколлагеновых белков, увеличением количества ядрышек, нарастанием числа ядер с диффузным хроматином, обнаружены при действии электромагнитного поля напряженностью 50 кВ/м. Облучение культуры электромагнитным полем напряженностью 150 кВ/м в ранние сроки, (до 5 часов) приводит к активации исследуемых функций клеток, сменяющейся впоследствии угнетением клеточных компенсаторно-приспособительных механизмов.

5. Обратимость изменений, наступающих в культивируемых фибробластах под влиянием электромагнитного поля промышленной частоты, связанных с развитием неспецифической реакции, регистрируемая по восстановлению гранулярного распределения нейтрального красного, после прекращения воздействия резко замедляется при 48-ми часовой экспозиции с ЭМП напряженностью 50 кВ/м и 12-ти часовой экспозиции с ЭМП напряженностью 150 кВ/м.

6. В большей степени влиянию электромагнитного поля подвержен процесс биосинтеза фибробластами специфического белка - коллагена. Снижение интенсивности биосинтеза коллагена, в отличие от неколлагеновых белков, наступает в ранние сроки исследования под влиянием электромагнитного поля напряженностью как 150 так и 50 кВ/м.

7. Изменения, связанные с угнетением специфической функции фибробластов - синтеза коллагена, наблюдаемые в культивируемых



клетках под влиянием электромагнитного поля промышленной частоты, присущи, также, фибробластам в составе целостного организма, что выражается в нарушении структурно-временных характеристики течения процесса асептического воспаления и свидетельствует о возможности непосредственного влияния электромагнитного поля на клетки в составе организма.

8. Предварительное введение адреналина, циклического 3',5'-аденозинмонофосфата и теофиллина предотвращает развитие патологических изменений в клетках, испытывающих воздействие электромагнитного поля промышленной частоты. Модифицирующее действие веществ обусловлено их влиянием на систему ЦАМФ, принимающую участие в клеточных адаптационных механизмах.

#### РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Полученные результаты могут быть использованы для дальнейшей разработки механизмов биологического действия электромагнитных полей низкочастотного диапазона (50 Гц), уточнения имеющихся нормативов, регламентирующих пребывание людей в зоне влияния электромагнитных полей. Выявление возможности и рассмотрение механизмов модификации влияния поля с помощью веществ, стимулирующих клеточные адаптационные механизмы, следует учитывать при разработке мер по предупреждению повреждающего влияния электромагнитных полей промышленной частоты на человека.

#### СВЕДЕНИЯ О ВНЕДРЕНИИ

В ходе выполнения диссертационной работы разработан новый способ культивирования клеток в микрочапках, опубликованный в печати и внедренный в практику научных исследований группы цитологии НИИ морфологии человека АМН СССР, кафедра гистологии и

эмбриологии Киевского и Запорожского медицинских институтов. Результаты проведенных исследований опубликованы в центральных научных журналах, Всесоюзном и Республиканском сборниках. Полученные данные о новых закономерностях реакции клетки на экстремальные воздействия используются при чтении лекций студентам Запорожского медицинского института.

СПИСОК НАУЧНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ  
ДИССЕРТАЦИИ

1. Влияние адреналина на синтез коллагена и неколлагеновых белков культивируемыми фибробластоподобными клетками эмбриона человека. - Тезисы сообщения на конференции "Актуальные проблемы развития человека и млекопитающих" 28-30.VI.79г. М., 1979 - депонированная работа.

2. Способ культивирования клеток в микрочашках. - Цитология, 1979, т.21, №11, с.1372-1373.

3. Влияние электромагнитного поля промышленной частоты на процессы биосинтеза белков эмбриональными фибробластами в культуре ткани. - Цитология, 1980, т.22, №4, с.487-493.

4. Динамика изменений синтеза РНК, коллагена и неколлагеновых белков культивируемыми фибробластами под влиянием электромагнитного поля, адреналина и ЦМФ. - В кн.: Физиология и патология соединительной ткани: Тезисы докладов V Всесоюзной конференции 14-18.X.80г. Новосибирск, 1980, т.1, с.44-45. (в соавт.).

5. О клеточной адаптации к воздействию электромагнитного поля высокой напряженности. - В кн.: Тезисы докладов I Украинского съезда анатомов, гистологов, эмбриологов, топографоанатомов 10-12.IX.80г. Винница, 1980, с.89.