

Российская академия наук  
Геронтологическое общество  
Северо-Западное отделение Российской академии  
медицинских наук  
НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова  
Петрозаводский государственный университет  
Институт биологии Карельского НЦ РАН  
Министерство здравоохранения и социального развития  
Республики Карелия

# **СВЕТОВОЙ РЕЖИМ, СТАРЕНИЕ И РАК**

Сборник научных трудов  
II Российского симпозиума с международным  
участием

Петрозаводск  
2013

# УСКОРЕННОЕ СТАРЕНИЕ ТКАНИ НАДПОЧЕЧНИКОВ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Денисенко С.А., Губина-Вакулик Г.И., Горбач Т.В.

*Харьковский национальный медицинский университет, Харьков,  
Украина*

*SV.A.Deni@rambler.ru*

В последние десятилетия кардинально изменились условия жизни человека. Наблюдается усиление электромагнитного фона во всех сферах жизнедеятельности человека. Это делает фактор электромагнитного излучения (ЭМИ) весьма значимым и требующим изучения его влияния на состояние здоровья населения.

Исследования последних лет расширили представление о механизмах действия ЭМИ (Григорьев и соавт., 2003; Luben, 1991). Основное значение в развитии нетепловых эффектов принадлежит сложным электрохимическим процессам, которые происходят на уровне клеточных и субклеточных структур вследствие резонансного поглощения энергии (квантово-биологический эффект): поляризация мембран, изменение их проницаемости, возникновение химических или структурных изменений в компонентах мембран, структурные изменения в энзимах или любой критической молекуле на любой стадии метаболического цикла, а также взаимодействие собственных зарядов электрически активных элементов клетки с действующим электромагнитным полем (Высоцкий и соавт., 2003; Замай и соавт., 2003; Шеин и соавт., 2003; Bauréus Koch et al, 2003, Saxena et al, 2003). Важное значение в развитии внутриклеточных процессов придается изменению состояния воды - переходу ее со связанного в свободное состояние. Детекция радиоволн клетками и органическими структурами клеток изменяет процессы возбуждения, проводимости и обмена этих клеточных структур (Исмаилов, 1987; Григоров и соавт., 2005). Не исключается возможность возникновения микротепловых эффектов, которые не

сопровожаются интегральным повышением температуры тела (Adey, 1993).

Несмотря на то, что указанные явления протекают на клеточном и субклеточном уровнях, эти эффекты нетеплового действия наиболее выразительно сказываются на уровне целостного организма. Показано, что при воздействии ЭМИ нарушаются циркадные ритмы в организме (Qin et al, 2012). Есть данные о канцерогенном риске при воздействии слабого ЭМИ (McCann et al, 1997). Важная роль надпочечников в обеспечении адаптационного гомеостаза при многократном кратковременном воздействии ЭМИ не изучена.

**Цель работы:** изучить состояние надпочечников крыс в отдаленный период после многократного кратковременного воздействия низкоинтенсивного электромагнитного излучения сантиметрового диапазона.

**Материалы и методы.** В данном исследовании использован экспериментальный материал – крысы самки популяции Вистар. Постановка эксперимента проведена согласно требованиям, предъявляемым к экспериментам на животных (Страсбург, 1985, Украина, 2001). Животные содержались в стандартных условиях на сбалансированном рационе вивария.

В эксперименте трехмесячные животные подвергались воздействию низкоинтенсивного ЭМИ сантиметрового диапазона (1-10см) в течение 2 месяцев ежедневно по 4 часа в специально оборудованном боксе. Использовали излучатель в виде рупора прямоугольной формы с площадью основания 875см (излучатель - высокочастотный генератор Г4-190-3/1, излучающая антенна типа П-6-23А). Излучение энергии, выражаемое в плотности потока мощности, в зоне где находились экспериментальные животные, составляло менее 3мВт/см<sup>2</sup>, т.е не выше уровня, дающего тепловой эффект (Пресман, 1967).

Крысы-самки дали потомство. Метаболические, функциональные и морфологические изменения внутренних органов у потомков в возрасте 3х месяцев были исследованы ранее (Денисенко, 2007), и главным выводом явилась констатация факта замедления формирования и снижения эффективности

адаптационного поведения в сочетании с чрезмерной активации стресс-систем.

Через 3 месяца после окончания воздействия, т.е. в возрасте 8 месяцев, крысы-самки были выведены из эксперимента путем декапитации (количество особей в основной и контрольной группах (интактные животные) - 10 и 6). Исследованию подвергнуты кровь животных и надпочечники. В сыворотке крови определяли концентрацию кортикостерона иммуноферментным методом с помощью наборов реактивов фирмы Алкор-Био (С-Птб, РФ). Концентрацию адреналина и норадреналина в сыворотке крови определяли спектрофлуориметрическим микрометодом после разделения на колонках с катионообменной смолой (Dowex 50Wx4, 200-400 mesh натриевая форма) (Colin Atack For Magnusson, 1978). Для морфологического исследования надпочечники обрабатывались по обычной методике: фиксация в 10% растворе формалине, спиртовая проводка, заливка в парафин и изготовление срезов, взятых из «экваториальной» части железы. Использовались окраски срезов гематоксилином-эозином и галлоцианином по Эйнарсону (суммарные нуклеиновые кислоты). Полученные микропрепараты изучали с помощью микроскопа «Аxiostar-plus» (Zeiss, ФРГ) с последующей морфометрией на компьютерных изображениях микропрепаратов с помощью программы «ВидеоТест» (С-Птб, РФ). В частности, в зонах коры надпочечника определяли количество эндокриноцитов, расположенных на площади микропрепарата  $500\text{мкм}^2$ , а в мозговом веществе – на площади  $1200\text{мкм}^2$ . Кроме того измерена площадь ядер эндокриноцитов во всех зонах коры и в мозговом веществе надпочечника.

Статистический анализ проведен методом вариационной статистики со сравнением средних результатов путем определения критерия Стьюдента.

**Результаты и обсуждение.** Известно, что необходимость приспособления к изменяющимся условиям внешней и внутренней среды и поддержания гомеостаза требует определенного напряжения регуляторных механизмов. Ключевую роль в осуществлении адаптационных изменений играет надпочечник с

его гормонами, синтезируемыми нейроэндокриноцитами мозгового вещества (адреналин и норадреналин) и спонгиоцитами пучковой зоны коры (кортикостероиды).

В крови у животных основной группы выявлен сниженный уровень адреналина и норадреналина: уровень адреналина в контрольной группе -  $0,80 \pm 0,05$  нМоль/л, в основной группе -  $0,58 \pm 0,07$  нМоль/л,  $p \leq 0,01$ ; уровень норадреналина в контрольной группе -  $4,78 \pm 0,15$  нМоль/л, в основной группе -  $3,79 \pm 0,21$  нМоль/л,  $p \leq 0,05$ , т.е. обнаружено снижение функции мозгового вещества. Уровень кортикостерона в сыворотке крови самок основной группы оказался таким же, как и в контрольной группе (основная группа -  $669,1 \pm 7,1$  нМоль/л, контрольная группа -  $650,6 \pm 5,8$  нМоль/л). Такой результат исследования функции надпочечников оказалось трудно трактовать. Однако изучение гистоструктуры надпочечников, дополненное морфометрией, позволило выяснить суть произошедших изменений.

Макроскопически оказалось, что у всех животных надпочечники имеют округло-треугольную форму. На микропрепарате также у всех животных отмечается четко выраженное деление коры на зоны, а также четкая граница между корой и мозговым веществом. В основной группе во всех случаях, в отличие от контрольных случаев, мозговое вещество занимает не центральное положение, а несколько смещенное, т.е. ширина коры местами очень узкая, местами широкая. Кроме того, у четырех животных из десяти наблюдали наличие аденомы коры, исходящей из пучковой зоны.

В мозговом веществе надпочечников животных основной группы выявлена довольно разнообразная картина. У части животных по сравнению с контрольными животными наблюдается увеличение количества нейроэндокриноцитов на фиксированной площади мозгового вещества при уменьшении размеров их ядер, и были животные, у которых наблюдается рыхлое расположение нейроэндокриноцитов и уменьшение их количества на фиксированной площади мозгового вещества при увеличении размеров ядер (таблица). Такое разнообразие изменений мозгового вещества может быть проявлением происходящей вначале

адаптационной гиперплазии нейроэндокринокитов при развитии хронического стресса в ответ на многократное воздействие ЭМИ.

Таблица.

Морфометрические показатели надпочечников

	Количество эндокринокитов на фиксированной площади (экз.)		Площадь ядра эндокринокитов (мкм <sup>2</sup> )	
	Контрольная группа	Основная группа	Контрольная группа	Основная группа
Клубочковая зона	9,8±0,3	6,2±0,3*	15,0±0,3	14,6±0,4
Пучковая зона	4,5±0,1	1 в-т 3,4±0,2* 2 в-т 5,1±0,2*	15,8±0,2	1 в-т 17,9±0,3* 2 в-т 18,0±0,6*
Сетчатая зона	6,9±0,2	6,4±0,4	14,3±0,3	16,9±0,3*
Мозговое вещество	10,0±0,3	1 в-т 11,6±0,6* 2 в-т 7,1±0,3*	19,8±0,6	14,7±0,7* 21,8±0,6*

Примечание: \* - достоверность различия в сравнении с контрольным значением,  $p < 0,05$

Известно, что зрелые нейроэндокринокиты мозгового вещества надпочечников не делятся, но у молодых животных увеличение количества нейроэндокринокитов может происходить путем миграции незрелых симпатогоний снаружи надпочечника к его центру, т.е. в мозговое вещество. Длительное повышенное функционирование нейроэндокринокитов мозгового вещества сопровождается «форсированным» апоптозом (Новиков, 1996) в связи с быстрым «изнашиванием» структур клеток. Именно поэтому у большей части животных мозговое вещество выглядит рыхлым, с малым количеством нейроэндокринокитов. Однако с компенсаторной целью эти клетки, очевидно, становятся полиплоидными, и размер их ядер увеличивается.

Именно такой компенсаторный процесс был описан нами ранее в эксперименте с изучением реакции нейроцитов гиппокампа и коры больших полушарий на парентеральное введение анестетиков (Губина-Вакулик с соавт., 2011). На фоне уменьшения количества нейронов в связи с токсическим повреждением наблюдали полиплоидизм оставшихся нейронов.

Таким образом, морфологическое исследование показало, что выявленное уменьшение концентрации катехоламинов в сыворотке крови является результатом не торможения их синтеза и продукции, а истощенности возможностей из-за высоких требований в более ранние периоды жизни, очевидно, при воздействии ЭМИ.

Пучковая зона коры надпочечников, продуцирующая кортикостерон, у животных основной группы оказалась уже, чем в контрольной группе, и у части животных имеет более рыхлый вид. Представлена клетками (спонгиоцитами), имеющими ядро овальной формы. Хроматин размещен в виде глыбок, что характерно для клеток, синтезирующих стероиды. На внутренней поверхности ядерной мембраны часто встречается картина конденсации хроматина в виде плотного кольца – это феномен маргинации хроматина, свойственный начинающемуся апоптозу. Встречаются фрагментированные ядра и отдельные апоптотические тельца, т.е. у животных основной группы происходит усиленный апоптоз спонгиоцитов. Отмечаются участки цитолиза, когда несколько рядом расположенных спонгиоцитов гибнут. При подсчете количества спонгиоцитов, расположенных на фиксированной площади микропрепарата, как и в мозговом веществе, обнаружено разнообразие: от проявления гиперплазии до картины атрофии в связи с интенсивной убылью спонгиоцитов путем апоптоза. Кариометрия при этом выявила достоверно большие размеры ядер спонгиоцитов во всех случаях основной группы (таблица).

Т.е. морфологическое исследование позволяет объяснить функционирование пучковой зоны надпочечников животных основной группы не как нормальное (наличие уровня кортикостеронемии на уровне нормальных цифр), а как

декомпенсированное, развившееся после периода увеличения продукции гормона в связи с высокими требованиями при многократном воздействии ЭМИ.

Клубочковая зона коры надпочечников животных основной группы значительно уже, чем в контрольной группе животных, малоклеточна, цитоплазма вакуолизирована. Морфометрически выявлено уменьшение количества ядер клеток на условно взятой площади и недостоверное уменьшение размеров ядер эндокриноцитов (таблица), однако признаков апоптоза нет, ядра часто гиперхромные, что свидетельствует о малой морфофункциональной активности клетки. Т.е. гистологическая картина клубочковой зоны животных основной группы указывает на ее пониженную морфофункциональную активность вследствие торможения. Факт понижения продукции альдостерона при развитии стрессового ответа общеизвестен (Гаркави, 1998), т.е. надпочечники животных, которые испытывали продолжительное, многократное воздействие низкоинтенсивного ЭМИ, имеют и такой признак стресса как ингибирование клубочковой зоны. По мнению Гаркави Л.Х. и соавт. (1998), снижение морфофункционального уровня клубочковой зоны коры надпочечников свидетельствует о переходе организма на более низкие уровни реактивности

Сетчатая зона коры надпочечников также узкая, представлена разнородной клеточной популяцией: и в контрольной и в основной группах наряду с активно работающими клетками со светлым ядром и глыбчатым хроматином, наблюдаются эндокриноциты, имеющие темное гетерохромное ядро. Обнаруживается тенденция уменьшения количества эндокриноцитов на фиксированной площади сетчатой зоны у животных основной группы с одновременным увеличением площади ядра. Можно трактовать эти особенности как морфологическое проявление торможения функционирования сетчатой зоны коры у животных основной группы.

**Заключение.** В данном эксперименте взрослые крысы-самки подвергались многократному кратковременному воздействию ЭМИ сантиметрового диапазона. После окончания периода

воздействия прошел трехмесячный период, когда условия существования животных были аналогичны таковым у животных контрольной группы. В надпочечнике крыс основной группы обнаружены изменения, которые можно назвать наступающей атрофизацией, преждевременным старением тех участков, которые принимают участие в организации адаптационного процесса организма к изменяющимся условиям жизни. Анализ каждого случая в отдельности позволил увидеть, что у животных, очевидно, вначале имела место гиперплазия и гиперфункция пучковой зоны коры, увеличение морфофункциональной активности мозгового вещества, ингибирование клубочковой и сетчатой зон. Затем у большей части животных в связи с форсированным апоптозом спонгиоцитов пучковой зоны и нейроэндокриноцитов мозгового вещества развивается состояние декомпенсации.

Если судить по уровню катехоламинов и кортикостерона в сыворотке крови, декомпенсация мозгового вещества надпочечников наступает раньше, чем декомпенсация пучковой зоны коры.

Уменьшение морфофункциональных возможностей надпочечников особи обуславливает общее снижение способности особи к адаптации. Можно предположить, что современный человек, окружив себя многочисленными источниками электромагнитного излучения, постепенно, незаметно для себя, ускоряет «приход» различных заболеваний, которые можно считать дезадаптационными (Дильман, 1987).

#### Литература

1. Возможные механизмы нетеплового воздействия неионизирующих излучений на стабильность биологических объектов / В. И. Высоцкий, А. А. Корнилова, А. А. Пинчук [и др.] // Биомед. технологии и радиоэлектроника. – 2003. – № 10. – С. 50-56.
2. Гаркави Л.Х. Антистрессорные реакции и активационная терапия / Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Кузьменко Т.С./ М.: «ИМЕДИС», 1998, 565с.

3. Григорьев Ю.Г. Биоэффекты хронического воздействия электромагнитных полей радиочастотного диапазона малых интенсивностей (стратегия нормирования) / Григорьев Ю.Г., Шафиркин А.В., Васин А.Л. // Рад. биол., Радиоэкология. – 2003. - Т.43, №5. - С.501-511.
4. Губина-Вакулик Г.И., Фесенко У.А., Мясоедов В.В. Пloidность ядер кортикальных нейронов после действия общих анестетиков./ Боль, обезболивание и интенсивная терапия.- 2011,2д, с.48-49.
5. Денисенко С.А. Морфофункциональное состояние систем гипофиз-надпочечники и гипофиз половые железы у крыс, пренатально перенесших воздействие электромагнитного излучения сантиметрового диапазона / С.А.Денисенко, Г.И. Губина-Вакулик // Пробл.эндокрин.патол. – 2007 - №4. – С. 84-89.
6. Дильман В.М. Четыре модели медицины. – Л: Медицина, 1987.- 288с.
7. Замай Т. Н. Особенности функционирования клеточной мембраны в условиях воздействия электромагнитного поля / Т. Н. Замай, Е. В. Маркова, Н. М. Титова // Вестн. Красноярского гос. ун-та. Естеств. науки. - 2003. - № 5. - С. 151-159.
8. Исмаилов Э. Ш. Биофизическое действие СВЧ излучений. – М.: Энергоатомиздат, 1987. – 143 с.
9. Медицинские аспекты проблемы биоэнергоинформационных влияний на организм человека / Ю. В. Григоров, М. А. Пустовойт, Ю. П. Гниденко [и др.] // Международный мед. журнал (Харьков). – 2005. - Т. 11, № 3. - С. 115-119.
- 10.Пресман А.С. Электромагнитные поля и живая природа. – М.: Наука, 1968. – 287 с.
- 11.Программированная клеточная гибель. Под ред. В. С. Новикова.— СПб, 1996.
- 12.Шеин А. Г. Подходы к решению вопроса о воздействии электромагнитного излучения нетепловой интенсивности сантиметрового диапазона длин волн на биологические объекты / А. Г. Шеин, Р. Н. Никулин // Вопр. физ. метрологии. - 2003. - Вып. 5. - С. 66-74.

13. A hypothetical mathematical construct explaining the mechanism of biological amplification in an experimental model utilizing picoTesla (PT) electromagnetic fields / A. Saxena, J. Jacobson, W. Yamanashi et al // *Med Hypotheses*. 2003 Jun;60(6), P 821-39.
14. *Adey W. R.* Biological effects of electromagnetic fields / W. R. Adey // *J. Cell Biochem.* – 1993. – Vol. 51, № 4. – P. 410-416.
15. Colin Atack For Magnusson. A procedure for the isolation of Noradrenalin, Dopamine, 5-Hydroxytryptamine and Histamine from the Same Tissue Sample using a single Column of Strongly acidic cation exchange Resin // *Acta pharmacol. et toxicol.* – 1978. – 42. - P. 35-57
16. Effects of 1800-MHz radiofrequency fields on circadian rhythm of plasma melatonin and testosterone in male rats / F. Qin, J. Zhang, H. Cao et al // *J Toxicol Environ Health A*. 2012;75(18), P 1120-8.
17. Interaction between weak low frequency magnetic fields and cell membranes / CL Bauréus Koch, M. Sommarin, BR Persson et al // *Bioelectromagnetics*. 2003 Sep;24(6), P 395-402.
18. *Luben R. A.* Effect of low-energy electromagnetic fields on membrane signal transduction processes in biological systems / R. A. Luben // *Division of biomedical sciences.* – 1991. – V. 61, № 1. – P. 15-28.
19. *McCann J.* Testing electromagnetic fields for potential carcinogenic activity: a critical review of animal models / J. McCann , R. Kavet , CN. Rafferty // *Environ Health Perspect*. 1997 Feb;105 Suppl 1, P 81-103.