

© О.А. Шугуров, І.К. Смоляренко, О.О. Шугуров

УДК 777.391; 611.8.612; 375.8

О.А. Шугуров, І.К. Смоляренко, О.О. Шугуров

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ У ПРОМІЖНИХ НЕЙРОНАХ СПИННОГО МОЗКУ ПІСЛЯ НВЧ-ОПРОМІНЕННЯ

Дніпропетровський національний університет ім. Олеса Гончара (м. Дніпропетровськ)

Дана робота є фрагментом наукової теми «Дослідження нервової регуляції при дії на мозок електромагнітних хвиль сантиметрового діапазону» за номером держ.реєстрації 0103U000554.

Вступ. На сьогоднішній день помітно зріс інтерес до реакції нервової системи на впливи НВЧ хвиль [4,7]. Це пов'язано із значним підвищенням рівня застосування електромагнітних хвиль різної довжини хвилі як у промисловості, так і в побуті. В ряді робіт був розглянутий вплив НВЧ хвиль з потужністю більше ніж 10 мВт/см² (теплова потужність), але тепловий вплив перебиває специфічні ефекти НВЧ, які притаманні нетепловим дозам, що не дають додаткового нагрівання тканин [3,8]. Тому специфічну дію НВЧ треба оцінювати при малих потужностях її енергії.

НВЧ-опромінення спроможне впливати на прояви роботи нервової системи. Так, гістологічні дослідження головного мозку показали зміни у аксондендритних синапсів при НВЧ ($v = 2,3$ ГГц, ППЕ = 500 мкВ/см²) [7]. Тому вірогідно, що такі поля здатні впливати і на елементи соматичних нейронів. В попередніх роботах ми вивчали дію НВЧ на великі (мотонейрони) та середні за розміром нейрони у внутрішніх зонах сірої речовини СМ [6]. Але вплив на проміжні нейрони IV – V шарів СМ, які відповідають за первинну регуляцію на аферентному вході, досліджений не був.

Тому **метою роботи** стало вивчення питання впливу НВЧ-хвиль нетеплової потужності на морфометричні параметри нейронів дорсального рогу, які відповідають за первинне опрацювання аферентної інформації у СМ.

Об'єкт і методи дослідження. Досліди проведено на 32 кішках масою від 3 – 4 кг. Попередньо під барбітуратним наркозом (гексенал, 35 – 40 мг/кг маси тварини) проводили операційну підготовку тварин з метою оголення СМ на рівні L6 – S1-сегментів. Далі проводили локальне НВЧ-опромінення спинного мозку генератором Г4-56 ($\lambda=3$ см, ГПП від 1 до 3 мВт/см²) при експозиції 10, 20 та 30 хв.

В різних дослідженнях до (контроль) або після закінчення опромінення через одну, дві та три години хірургічним методом вилучали мозку з хребта. Ділянки (1 – 2 сегменти мозку копереково-крижового потовщення) контрольних та опромінених тварин фіксували у рідині Карнуа, заливали у парафін, після чого робили гістологічні зрізи за допомогою заморожуючого мікротому МЗ-2 з шагом 5 мкм. Фарбування зразків проводилося гематоксилін-еозином за допомогою методу Ніссля. Зрізки вивчали під світловим мікроскопом, максимальне значення візуального підсилення зображення складало 3000

(на мікроскопі "Jena-Med" – 1000, за рахунок оптичного зуму цифрового апарата Canon-A75 – 3 рази). Зображення передавали на ЕОМ, далі для обробки морфометричних параметрів нейронів використовували спеціальні програмні засоби [5, 11].

Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Результати досліджень та їх обговорення.

Отримані препарати вивчалися під оптичним мікроскопом та з використанням спеціально розроблених програм обробки морфологічних даних, алгоритм яких достатньо відомий [11]. Оскільки попередня обробка аферентної інформації йде на рівні IV – V шарів сірої речовини, у цих зонах ми вибирали крупні нейрони для морфометричної оцінки (рис.).

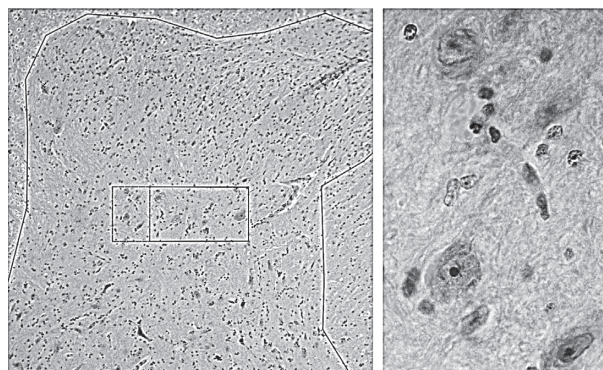


Рис. Дорсальний ріг СМ, у якому у шарах IV – V за Рекседом (прямокутна зона) вибрали нейрони для подальшого морфометричного (а) дослідження (підсилення 20), та типові інтернейрони цих шарів (б) (з області, відзначеною переривчастою лінією на а, підсилення 1000).

При морфометричній оцінці вибирали лише великі проміжні нейрони, розміри тіл яких були близько 15 – 25 мкм. Встановлюючи каліброчні мітки та екстраполюючи соматичні нейрони та ядра клітин 3-х мірним еліпсоїдом вимірювали їх велику та малу осі. Далі, на основі одержаних даних обчислювали об'єм та площу мембрани соматичної та ядерної, об'єм цитоплазми, ядерно-цитоплазматичне відношення, та інші параметри. Результати таких розрахунків найважливіших просторових характеристик крупних інтернейронів зони IV – V приведено у таблиці.

Параметри інтернейронів IV – V шарів дорсального рогу СМ в нормі та після низькоінтенсивного НВЧ-опромінення (30 хв)

Показник	Норма (n ₁ = 217)	Час після опромінення, год				t-критерій (1 год після впливу)
		1 (n ₂ =207)	2 (n ₃ = 254)	4 (n ₄ = 176)	6 (n ₅ = 188)	
Об'єм соми (V _c), мкм ³	5241±199	5415±203	5388±187	5311±216	5269±202	P<0,05
Площа поверхні ядра (S _я), мкм ²	789±32	803±33	798±35	781±29	771±31	P<0,05
Відношення об'єму ядра до об'єму цитоплазми (V _я /V _ц)	0,279±0,08	0,229±0,009	0,231±0,01	0,256±0,012	0,271±0,011	P<0,05
Коефіцієнт стиску ядра	0,66±0,009	0,675±0,009	0,671±0,008	0,653±0,01	0,669±0,011	P<0,05
Об'єм цитоплазми / площа поверхні ядра (V _ц /S _я), мкм	3,33±0,16	3,52±0,14	3,48±0,16	3,41±0,10	3,31±0,11	P<0,05

Слід зазначити, що такі параметри, як конфігурація соми й ексцентриситет ядра великих та середніх нейронів, не перетерпіли статистично значимих змін після НВЧ-опромінення. Однак встановлено, що чим триваліше НВЧ-опромінення мозку, тим більша зміна у формі розподілення розмірів ядер нейронів. Відповідно, опромінення у 30 хв давало масимальний ефект змін відносно експозиції у 10 та 20 хв.

Треба відзначити, що вказані морфометричні параметри змінювались найбільш помітно в період перших 1 – 2 годин після закінчення опромінення. Далі такі зміни поступово зменшувалися, з часом (через 5 – 6 год) вони зовсім зникали.

Відомо, НВЧ-хвилі мають два типи дії: неспецифічну (теплову, за рахунок нагрівання тіла при > 10 мВт/см²), та специфічну (нетеплову) [3,8]. Остання не приводить до коагуляції білків, але спроможна за рахунок резонансних властивостей впливати на складні біохімічні реакції [1], і як слідство – на складні фізіологічні процеси.

Поглинання та зміна фазової швидкості НВЧ-хвилі у середовищі характеризуються показниками поглинання s та заломлення n , які, в свою чергу, залежать від діелектричної проникності ϵ та провідності середовища σ , а також від довжини самої хвилі λ . Тому, при однакових умовах опромінення та розмірах нейронів більший потік енергії припадає на нейрони, які розташовані ближче до оголеної дорсальної поверхні СМ.

В наших дослідженнях показано, що для великих інтернейронів дорсального рогу СМ зміни морфологічних параметрів більш помітні, ніж для аналогічних нейронів, які розташовані в більш глибоких шарах [6]. Відповідно, зміни значень об'єму нейронів IV – V шарів дорсального рогу та ряду відношень параметрів соми до їх ядра у середньому на 5 – 7% більше, ніж для аналогічних нейронів середніх зон СМ [6].

Отриманні на інтернейронах результати свідчать про можливість пригнічення нуклеарного

метаболізму, та зміну процесів переносу речовин через мембрани як самих нейронів, так і мембрани ядра у них, що підтверджується іншими даними [9]. Оскільки, вірогідно, механізми розвитку НВЧ-ефектів у нейронів в цілому схожі, можна вважати, що для більшості нейронів параметри клітин змінюються в однаковому напрямку, та в першу чергу залежать від тривалості опромінення та потоку енергії (ПЕ) НВЧ-поля, що підтверджується нашими даними (рис.).

Зменшення рівня ядерно-цитоплазматичного відношення може свідчити або на користь погіршення механізмів виведення залишкових об'ємів цитоплазми та розчинених електролітів, або зменшення об'єму ядра. З іншого боку, як свідчать морфометричні дослідження на мотонейронах СМ після опромінення ядро стає більш округлим [6]. Тобто, для будь яких нейронів підвищення відношення об'єму цитоплазми до площі мембрани ядра свідчить, що відносно більшим є процес розбухання клітини у цілому до більш стабільних у морфо-функціональному плані процесів у ядрі, включаючи рівень його стиску (табл.).

Зменшення розмірів ядер при невеликих змінах об'єму цитоплазми може призводити до порушень роботи нейронів, оскільки при НВЧ зростає об'єм цитоплазми, що приходиться на одиницю ядерної поверхні, а це є зміною нормального клітинного метаболізму. Не виключено, що НВЧ-опромінення в ряді випадків можна розглядати в якості фактору, здатного послабляти обмінні процеси в нейронах з пригніченим метаболізмом.

На користь суттєвої дії мікрохвиль на організм людини та тварин, говорять дані, отримані біофізичними та біохімічними методами. Наприклад, показано, що мембрана живої клітини може грати одну з основних ролей у процесах впливу НВЧ-випромінювання низької інтенсивності на біологічні об'єкти [2]. Приведено підхід, що дає можливість

оцінити діапазон резонансних частот на мембранну систему, яку розглядали як тонку сферу, наповнену речовиною. На основі моделі електродифузії рівняння потоку іонів через мембрану з урахуванням току, який активується НВЧ-полем низкою інтенсивності показана можливість оцінки впливу опромінення на процеси іонного транспорту речовин через біологічні мембрани. Зовнішнє поле змінює можливість дисоціації білкових-іонних комплексів у клітині [4]. Зрозуміло, що вказані зміни біохімічного фону можуть відбиватися у вигляді змін у ядерно-цитоплазматичних та мітохондріальних відношеннях у клітині до та після НВЧ-опромінення, що підтверджується нашими морфометричними та більш ранніми електрофізіологічними даними [6, 10].

Таким чином, можна зробити наступні **висновки**:

1. Навіть нетеплове НВЧ-опромінення спроможне оказувати вплив на функціональний стан ЦНС через зміну рівня біохімічних реакцій у сомі нервових клітин. Зростання терміну опромінення веде

до підвищення ефектів впливу на морфологічні субодиниці;

2. Після впливу НВЧ-хвиль найбільш помітним морфологічним ефектом є розбухання сомі інтернейронів. Відповідно у нейроні йде зменшення ядерно-цитоплазматичного відношення, що, вірогідно, приводить до відносного зменшення ефективності ферментного синтезу;

3. Ефекти опромінення мозку хвилями довжиною 3 см на дорсально-мозкові нейрони мають плинний характер з максимумом ефекта на 1 – 2 год після опромінення. У подальшому зміни стабілізуються і вже через 5 – 6 год параметри нейронів повертаються до первісного стану.

Перспективи подальших досліджень. Получені у роботі дані дають змогу почати проведення аналізу змін морфометричних параметрів мілких (>5 мкм) нейронів СМ та клітин головного мозку під дією НВЧ-хвиль різного діапазону та потужності.

Список літератури

1. Биофизические аспекты воздействия электромагнитных полей. Учеб. пособие / Д.А. Усанов, А.В. Скрипаль, А.Д. Усанов, А.П. Рытик // Саратов: СГУ, 2008. – 136 с.
2. Грецова Н.В. Модель воздействия электромагнитного излучения низкой интенсивности на биологический триггер с учетом пассивного транспорта веществ через мембрану клетки / Н.В. Грецова, А.Г. Шеин // Биомед. технологии и радиоэлектроника. – 2006. – №4. – С.4–14.
3. Критерий нетеплового воздействия электромагнитного излучения на ассоциированные жидкости и биологические объекты / А.Ф. Королев, С.С. Кротов, Н.Н. Сысоев, П.В. Лебедев-Степанов // Биомедицинские технологии и радиоэлектроника. – 2002. – №3. С.47–56.
4. Пономарёв В.О. Многочастичная модель механизма первичного поглощения слабых электромагнитных полей биологическими объектами / В.О. Пономарёв, А.В. Карнаухов // Биомедицинские технологии и радиоэлектроника. – 2003. – №3. – С.39–44.
5. Смоляренко І.К. Програмне опрацювання гістологічних даних зрізів нервової тканини / І.К. Смоляренко, О.А. Шугуров, О.О. Шугуров // Вісн. Дніпр. ун-та. сер. "Біологія. Екологія". – 2006. – вип 14, т.2. – С. 190–194.
6. Смоляренко І.К. Структурные изменения нейронов спинного мозга после низкоинтенсивного сверхвысокочастотного облучения / И.К. Смоляренко, О.О. Шугуров // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2009. – т.49, №3. – С.261–384.
7. Суворов Н.Б. Нейроэффекты длительного действия микроволн: системное, нейрональное и электронномикроскопическое исследования / Н.Б. Суворов, Н.Б. Медведева, Н.Н. Василевский // Радиобиология. – 1987. – т.27, №5. – С. 674–679.
8. Шеин А.Г. Выбор критериев по степени воздействия электромагнитного излучения на биологические объекты // А.Г. Шеин, Р.Н. Никулин // Биомедицинская радиоэлектроника. – 2001. – №4. – С.19–23.
9. 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 // Физическая метрология. Вест. Поволжск. отдел. Метролог. Акад. Рос. – 2003. – Вып.5. – С.66–74.
10. Шугуров О.О. Влияние сверхвысокочастотных электромагнитных волн на интегративную деятельность спинного мозга / О.О. Шугуров, О.А. Шугуров, Е.А. Макий // Биомедицинские технологии и радиоэлектроника. – 2002. – №2. – С.53–59.
11. Bannatyne B. A confocal and electron microscopic examination of the terminals of midlumbar premotor interneurons in the feline spinal cord / B. Bannatyne, J. Riddell, D. Maxwell, D. Scott // J. Physiol. (Gr. Brit.) – 1998. – v. 509. – 171P.

УДК 777.391; 611.8.612; 375.8

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ У ПРОМІЖНИХ НЕЙРОНАХ СПИННОГО МОЗКУ ПІСЛЯ НВЧ-ОПРОМІНЕННЯ ШУГУРОВ О.А., СМОЛЯРЕНКО І.К., ШУГУРОВ О.О.

Резюме. На 32 кішках проводили локальне опромінення оголеного на рівні L4– L7 сегментів спинного мозку (СМ) хвилями надвисокої частоти (НВЧ) ($\lambda = 3$ см, потік енергії ≈ 3 мВт/см², час експозиції – 10, 20 та 30 хв). Зразки мозку фарбували гематоксилін-еозинном, фотографували на світловому мікроскопі та аналізували нейрони дорсального рогу (шари IV – V) з використанням ПЕОМ. З'ясовано, що після опромінення у таких нейронів в першу чергу змінюється ядерно-цитоплазматичне відношення та відношення об'єма цитоплазми до площі поверхні ядра. З'ясовано, що ефекти опромінення для нейронів, що знаходяться ближче до поверхні мозку більші, ніж для тих, що знаходяться у глибинних шарах. Вказані зміни мають часовий характер і максимальні в початковий період (1 – 2 год) після опромінення. Зроблено висновок, що НВЧ-хвилі нетеплової інтенсивності здатні змінювати ефективність роботи нейронів на аферентному вході СМ.

Ключові слова: нейрони, НВЧ-опромінення, структурні зміни, морфометричні параметри.

УДК 777.391; 611.8.612; 375.8

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ПРОМЕЖУТОЧНЫХ НЕЙРОНАХ СПИННОГО МОЗГА ПОСЛЕ СВЧ-ОБЛУЧЕНИЯ

Шугуров О.А., Смоляренко И.К., Шугуров О.О.

Резюме. На 32 кошках проводили локальное облучение обнаженного на уровне L4 – L7 сегментов спинного мозга (СМ) волнами сверхвысокой частоты (СВЧ) ($\lambda = 3$ см, поток энергии = 3 мВт/см², время экспозиции – 10, 20 и 30 мин). Образцы мозга окрашивали гематоксилином-эозином, фотографировали на световом микроскопе и анализировали нейроны дорсального рога (слои IV – V) с использованием ЭВМ. Выяснено, что после облучения у таких нейронов в первую очередь изменяются ядерно-цитоплазматические отношения и отношение объема цитоплазмы к площади поверхности ядра. Выяснено, что эффекты облучения для нейронов, находящихся ближе к поверхности мозга, больше, чем для расположенных в глубине мозга. Указанные изменения имеют временной характер с максимумом в начальный период (1 – 2 часа) после облучения. Сделан вывод, что СВЧ-волны нетепловой интенсивности способны изменять эффективность работы нейронов на афферентных входах СМ.

Ключевые слова: нейроны, СВЧ-облучение, структурные изменения, морфометрические параметры.

UDC 777.391; 611.8.612; 375.8

Morphological Changes Of Spinal Cord Interneurons After SHF-Irradiation

Shugurov O.A., Smoljarenko S.K., Shugurov O.O.

Summary. On 32 cats the local irradiating of a spinal cord (SC) in segments L4 – L7 was carried out. We applied the ultrahigh-frequency waves (UHF) ($\lambda = 3$ sm, energy flow = 3 mWt/sm², time of an exposition – 10, 20 and 30 minutes). Samples of a brain imbued by a hematoxylin – eosin, was photographed on a light microscope. The neurones of a dorsal horn (layers IV – V) were analyzed on the computer. We have found out, that after an irradiating at such neurones the nucleocytoplasmic attitudes and attitude of volume citoplasma to a nuclear surface of is significantly changed. The effects an irradiating on neurones which are taking place near to a surface of a brain are more, than for neurons posed in depth of a brain. The specified changes have time character with a maximum in the initial season (1 - 2 hours) after an irradiating. We consider, that the UHF-wave of not thermal intensity are capable to variate an overall performance of neurones on afferent inputs.

Key word: neurons, UHF-wave, structural changes, morphometric parameters.

Стаття надійшла 29.07.2011 р.