**Обухан Катерина Іванівна. Обгрунтування цитологічних критеріїв для гігієнічної оцінки ультрависокочастотних електромагнітних випромінювань: Дис... д-ра біол. наук: 14.02.01 / Інститут гігієни та медичної екології ім. О.М.Марзеєва АМН України. - К., 2002. - 306арк. - Бібліогр.: арк. 276-304.**

|  |  |
| --- | --- |
| |  | | --- | | **Обухан К.І.** Обгрунтування цитологічних критеріїв для гігієнічної оцінки ультрависокочастотних електромагнітних випромінювань. – Рукопис.  Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 14. 02.01 - гігієна. – Інститут гігієни та медичної екології ім. О.М.Марзеєва АМН України. - Київ, 2001.  Дисертація присвячена проблемі визначення ступеня небезпечної дії елект-ромагнітних полів ультрависокої частоти (ЕМП УВЧ; 2375, 2450, 3000 MГц). В роботі розвинуто новий науково-методичний підхід до гігієнічної оцінки УВЧ-випромінювань на основі розмежування адаптаційних реакцій та пошкодження на клітинному рівні. Дослідження виконані на білих щурах. На моделі клітин сис-теми крові встановлено, що вплив ЕМП на процеси диференціації, репродукції та дозрівання клітин залежить від віку тварин, часу, інтенсивності опромінення, наявності чинників іншої природи тощо. Виявлено найчутливіші до ЕМП УВЧ типи клітин (мегакаріоцити, клітини імунної системи), а також вплив опромінення на мітотичний цикл, проліферацію та ультраструктуру різних типів клітин; визначені пороги адаптаційних реакцій і пошкодження клітин. Отримані дані поглиблюють розуміння закономірностей та механізму біологічної дії ЕМП низького рівня і можуть бути використані для діагностики ранніх структурно-функціональних змін в організмі в різних умовах опромінення. | |
| |  | | --- | | 1. Електромагнітні поля УВЧ-діапазону є потенційно небезпечним для лю-дини чинником, ступінь шкідливості якого остаточно не зясована. У дисертації наведене теоретичне узагальнення і нове вирішення проблеми критеріїв гігі-єнічної оцінки випромінювань на основі експериментального визначення пока-зників цитологічних порушень в організмі (із позицій концепції адаптації) та закономірностей і механізму їх біологічної дії на клітинному й субклітиному рівнях. Модельними тест-системами для розвязання цих завдань використані клітини системи крові, що має практичне значення для ранньої діагностики та профілактики можливих захворювань у різних умовах опромінення.  2. Установлено, що показниками шкідливого впливу ДМХ теплового рівня на щурів різного віку є кількісні зміни в популяціях клітин імунної системи, які виникають вже після одноразової дії і найбільш виражені у старих та молодих тварин. У молодому віці активізується також функція репродукції гемопоетичних клітин. В умовах дії ДМХ інтенсивністю 0,05 мВт/см2 (10 днів) у молодих щурів збільшується, порівняно із статевозрілими, кількість бластних клітин та лімфо-цитів у кістковому мозку, що свідчить про стимуляцію процесів регенерації.  3. В умовах одноразової дії ДМХ на статевозрілих щурів виявлено 3 типи цитологічних змін, які залежать від рівня та часу опромінення і характеризують чіткі закономірності мобілізації термінових захисних реакцій організму або вини-кнення пошкоджень: 1) реактивності з активізацією перерозподілу лейкоцитів; 2) компенсаторних процесів у кістковому мозку 3) пошкодження: цитопенії, поси-лення деструкції клітин. Найтісніший зв'язок з рівнем опромінення мають індекс дозрівання нейтрофілів, мiтотичний індекс, індекс деструкції.  4. Встановлено закономірне зниження кореляційного зв'язку з інтенсивністю чинника після експозиції 1 і 2 місяці для реакцій клітинних елементів крові та вмісту гемоглобіну. Виявлені зв'язки для більшості інших показників також є нижчими, ніж при одноразовому опроміненні і відображують наявність стимуля-ції адаптивних процесів в умовах тривалої дії ДМХ. Однак паралельно підвищу-ється зв'язок з рівнем опромінення для інволютивних змін мегакаріоцитів, проліферативної активності та деструкції клітин, які є ознаками пошкодження.  5. Основними закономірностями біологічної дії ДМХ упродовж 1-2 місяців визначено посилення поліморфізму клітин та зрушення процесів їх диференціації і репродукції. Реакції спершу мають неспецифічний характер: при інтенсивності 0,01-0,05 мВт/ см2 співвідношення клітин не виходять за межі фізіологічної но-рми, при ГПЕ 0,5 мВт/см2 виникає стимуляція регенерації гранулоцитів, еритро-цитів і мегакаріоцитів у кістковому мозку та селезінці. УВЧ-випромінення ГПЕ 1-10 мВт/см2 призводять до цитопенічних реакцій і посилення деструкції клітин.  6. У динаміці тривалої дії ДМХ значні зміни виникають у мегакаріоцитах, що відображує наявність порушень в системі гемостазу вже при інтенсивності 0,5 мВт/см2, та клітинах імунної системи. Ознаками впливу чинника на іму-нобіологічну реактивність є: підвищення поліморфності, міграції й перерозподілу лейкоцитів, активізація регенерації їх попередників, збільшення вмісту антиті-лоутворюючих клітин і базофілів у кістковому мозку та селезінці, зміни співві-дношень Т- і В-лімфоцитів. При ГПЕ 0,5 мВт/см2 порушується метаболізм кислої та лужної фосфатаз лейкоцитів. Більш стійкими до опромінення є еритроїдні клітини. Активізація еритропоезу у статевозрілих щурів настає при інтенсивності 0,5 мВт/см2, але кількість еритроцитів крові знижується при ГПЕ 10 мВт/см 2.  7. На моделі експериментальної ниркової гіпертонії встановлені більш вира-жені порушення у ослабленому організмі під впливом ЕМП інтенсивністю 0,015-0,05 мВт/см2 навіть за умов ступеневої адаптації. Цитологічними показниками небезпечності чинника у цьому випадку визначені імуноморфологічні реакції та компенсаторні і деструктивні зміни в різних популяціях клітин кісткового мозку.  8. Особливостями поєднаної дії ЕМП УВЧ (0,05 мВт/см2) і гіпоксії є: підви-щення мітотичного індексу й розвиток замаскованих компенсаторних процесів у популяції еритроїдних клітин. ДМХ (10 мВт/см2) в поєднанні з рентгенівським опроміненням посилюють регенерацію еритроцитів і лейкоцитів. Установлено по-зитивний ефект екзогенного клонування мієлокаріоцитів (від щурів, експонованих ДМХ) рентген-опроміненим реципієнтам, а також попередньої (до дії іонізуючої радіації) експозиції в ДМХ, що на кілька діб продовжує життя летально опромі-нених щурів. Виявлений модифікаційний вплив пояснено значним посиленням репаративно-регенераційної здатності кровотворних клітин після дії ЕМП УВЧ цього рівня, що свідчить опосередковано про їх потенційну небезпеку.  9. ДМХ (понад 0,5 мВт/см2) впливають на мітотичний цикл і генетичний апарат бластних клітин. Ранньою ознакою небезпечності чинника є порушення формування мітотичного апарату та поділу клітин. Далі виникає стимуляція син-тезу ДНК і протеїнів й проліферації клітин. Після 1-2 місяців опромінення (БР, ІПР, 0,5 мВт/см2та вище) збільшується кількість клітин із хромосомними абера-ціями, зокрема з мостами в ана- і телофазі. Наслідком впливу ДМХ на генетичний апарат є явища поліплоїдизації, багатоядерності, анеуплоїдії.  10. Виявлені цитологічні зміни характеризують механізм біологічної дії ДМХ. Рання неспецифічна реакція - перерозподіл лейкоцитів пов`язана з регуля-торним впливом нейроендокринної системи, рухомість лімфоцитів збільшується. Вплив ДМХ низького рівня на репродукцію клітин, синтез ДНК і протеїнів зумов-лений змінами мітотичного циклу, які призводять до пригнічення або стимуляції процесів біосинтезу, хромосомних аберацій, зрушень проліферативної активності. У генезі пошкоджень клітин основне значення мають альтерація мітохондрій, лі-зосом, мембранних структур, лізис зернистості нейтрофілів, клазматоз, утворення мієлінових фігур. Порушення ультраструктури (10 мВт/см2) посилюється в усіх типах гемопоетичних клітин.  11. Розроблено спосіб розмежування адаптивних реакцій і пошкодження у системі крові під впливом ДМХ за допомогою співставлення інтенсивності про-цесів перерозподілу лейкоцитів, оновлення клітин і деструкції. В динаміці опро-мінення диференційовано 3 фази морфофункціональних змін на клітинно-популя-ційному рівні: мобілізації адаптивних зрушень, розвитку резистентності, висна-ження. При інтенсивностях 0,01-0,05 мВт/см2виявляються реакції у межах фізіо-логічної норми й фізіологічної адаптації. Для 3-ї фази є характерними: цито-пенічні зміни, підвищення деструкції клітин і патології мітозу (1-10 мВт/см 2).  12. На основі математичного визначення та ранжування радіочутливості по-казників системи крові встановлені кількісні цитологічні критерії для розмежу-вання реакцій адаптації і пошкодження при дії ДМХ, які є підгрунтям для їх при-скореної біолого-гігієнічної оцінки:  - в умовах одноразового опромінення критерієм адаптаційних зрушень визначено зміни чисельності лейкоцитів і вміст мієлокаріоцитів в 1 мкл., а крите-рієм шкідливого впливу - підвищення інволютивних форм мегакаріоцитів;  - при дії ДМХ 1 місяць у безперервному режимі показником адаптивних реакцій є кількісні зміни нейтрофільних гранулоцитів крові, а критеріями негативного впливу на кістковий мозок - порушення процесів диференціації мегакаріоцитів та імунобіологічної реактивності;  - за дії ДМХ (ІПР) 2 місяці критерієм оцінки впливу на кров встановлені кількісні та якісні зміни нейтрофілів, середніх і великих лімфоцитів, найчут-ливішим показником впливу на кістковий мозок - посилення інволюції мегакаріо-цитів;  - основний критерій пошкодження при дії ДМХ - підвищення деструк-тивних змін клітин. Вірогідні порогові рівні, за яких індекс деструкції збільшу-ється складають, відповідно для одного, 30-ти та 60-ти днів опромінення: 3,34 мВт/см2; 2,9 мВт/см2; 0,30 мВт/см2, що відображує можливість акумуляції неспри-ятливих ефектів після 2 місяців опромінення в імпульсно-переривчастому режимі;  - згідно з величиною усередненого рангу мегакаріоцити займають перші міс-ця по радіочутливості в усіх умовах опромінення. Чисельність лімфоїдних клітин відповідає 1-5 рангам радіочутливості при дії ДМХ у безперервному режимі.  - критерієм для визначення порогів шкідливості УВЧ-випромінювань слід вважати замасковані компенсаторні процеси у кровотворній тканині, які ви-никають в агравованих умовах, а також у молодих тварин при ГПЕ 0,05 мВт/см 2;  - критерієм небезпечності ДМХ для умов тривалої дії та екстремальних си-туацій є вплив на процеси репродукції бластних клітин та диференціації мегака-ріоцитів, а також на генетичний апарат, процеси імуногенезу, посилення деструкції клітин, цитопенії (0,5 мВт/см2 та вище).  13. Статистична оцінка дії ДМХ на систему крові у градуйованій та альтер-нативній формі в основному співпадає з даними цитоморфологічних досліджень: мінімальні й середні ефективні інтенсивності при опроміненні щурів 1 місяць ста-новлять 0,01-0,03 мВт/см2 (БР), а при експозиції 2 місяці - 0,002-0,05 мВт/см2(ІПР). Ці рівні активізують реакції фізіологічної адаптації клітин. Критеріями компенсаторних реакцій є підвищення чисельності бластних та молодих клітин (0,03-0,1 мВт/см2), а критерієм активізації регенерації - посилення їх репродукції (0,2; 0,48 мВт/см2, БР і 1,05; 2 мВт/см2, ІПР).  14. На основі кількісної оцінки залежності цитологічних змін від умов опро-мінення та визначення вірогідних мінімальних і середніх ефективних рівнів для кожного показника встановлено, що вплив імпульсно-переривчастих випроміню-вань на поліплоїдні й імунокомпетентні клітини більш виражений, ніж дія в без-перервному режимі, що потрібно враховувати при гігієнічному нормуванні.  **Практичні рекомендації**  Здобуті результати дозволили визначити місце цитологічних критеріїв у системі гігієнічного нормування радіохвиль. В схему біолого-гігієнічного лабора-торного експерименту запропоновано внести розділ цитологічних досліджень їх впливу, який включає:  1) визначення морфофункціональних змін мегакаріоцитів;  2) доповнення прийнятих раніше методів досліджень реакцій імунної сис-теми на основі виявлення кількості антитілоутворюючих клітин у кістковому моз-ку та селезінці (плазмоцитів) і макрофагів;  3) експрес-тестування процесів пошкодження у кровотворній, лімфатичній та інших тканинах за величиною індексу деструкції клітин;  4) оцінку регенераційних зрушень клітинних елементів крові;  5) дослідження динаміки кількісних змін бластних клітин кісткового мозку у молодих тварин;  6) оцінку цитогенетичних змін на популяціях бластних та лімфоїдних клітин з урахуванням ана-, телофазного і метафазного методів;  7) виявлення впливу ЕМП на репродукцію бластних і молодих клітин за ознаками мітотичного індексу, числа амітозів, явищ поліплоїдизації і анеуплоїдії;  8) розмежування адаптаційних, компенсаторних і патологічних реакцій в по-пуляціях клітин кісткового мозку на основі запропонованих критеріїв з ураху-ванням ранжування мінімальних та середніх ефективних рівнів опромінення;  9) дослідження реакцій гепатоцитів з використанням ядерцевого тесту;  10) тестування багатоядерності у сперматогенному епітелії (на відбитках);  11) еспериментальними моделями для визначення цитофізіологічних меха-нізмів дії УВЧ-випромінювань рекомендовані поліплоїдні клітини кісткового мо-зку, яєчка, печінки, а також лімфоцити, нейтрофільні гранулоцити, еритроцити;  12) критеріями оцінки небезпечності ДМХ запропоновані: порушення процесів диференціації та репродукції клітин, імуноморфологічні реакції, індекс деструкції; маркерами для клініко-лабораторної діагностики рекомендовані: стру-ктурні зміни мегакаріоцитів і нейтрофілів, співвідношення лейкоцитів різного типу, регенеративні зрушення в клітинних популяціях. | |