

УДК 577.3

## ВЛИЯНИЕ МАГНИТНОГО ПОЛЯ КРАЙНЕ НИЗКОЙ ЧАСТОТЫ НА ВЫЗВАННУЮ $K^+$ -ДЕПОЛЯРИЗАЦИЕЙ И АЦЕТИЛХОЛИНОМ СОКРАТИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ИНТЕСТИНАЛЬНЫХ ГЛАДКИХ МЫШЦ

Цимбалюк О.В., Мартынюк В.С.

Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина  
e-mail: otsymbal@bigmir.net; mavis@science-center.net

Поступила в редакцию 28.04.2011

В работе было исследовано влияние импульсного магнитного поля крайне низкой частоты (8 Гц, 25 мкТл) на сократительную активность кольцевых гладких мышц *caecum* крысы. Было показано, что под действием магнитного поля угнетаются сокращения, вызванные аппликацией медиатора ацетилхолина и в большей степени индуцированные  $K^+$ -деполяризацией плазматической мембраны. Установлено, что при действии магнитного поля наблюдаются достоверное увеличение времени достижения максимальной силы  $K^+$ -индуцированных сокращений, а также уменьшение скорости расслабления препаратов. В работе обсуждаются возможные механизмы действия магнитного поля на гладкие мышцы кишечника. В частности, вероятным эффекторным звеном, на которое действует магнитное поле, могут быть потенциалуправляемые  $Ca^{2+}$ -каналы плазматической мембраны.

**Ключевые слова:** магнитное поле крайне низкой частоты, гладкие мышцы, вызванные сокращения, кинетические параметры сокращения

### ВВЕДЕНИЕ

Технический прогресс сопровождается все более увеличивающимися неспецифическими влияниями физико-химических факторов на организм человека. Одним из таких факторов являются магнитные поля, которые генерируются разнообразными источниками (высоковольтные линии электропередачи, бытовые приборы и др.). В настоящее время изучение биологических эффектов магнитных и электромагнитных полей является одной из наиболее проблемных областей биологии и медицины, которая привлекает пристальное внимание физиков, биологов, медиков и экологов. В настоящее время надежно установлена биологическая активность электромагнитных полей диапазона крайне низких частот. Наиболее большой массив данных накоплен относительно влияния на организм человека и животных магнитных полей промышленных частот 50-60 Гц. Предложены разные гипотезы, объясняющие действие магнитных полей на живые объекты на уровне клеток и тканей [1, 2]. Одним из возможных первичных механизмов действия данного фактора может быть связан с модуляцией активности систем меж- и внутриклеточной регуляции. В частности, одним из проявлений такого действия могут быть феномены усиления или ослабления биологической активности разных веществ природного и синтетического происхождения [3, 4].

Доказано, что слабые магнитные поля могут изменять функциональную активность клеток возбудимых тканей. Показана способность слабых

магнитных полей крайне низкой частоты (постоянных и переменных) взаимодействовать с  $Ca^{2+}$ -каналами плазматической мембраны [5]. Аналогично, величина снижения возбудимости нейронов *Helix aspersa*, которое наблюдалось при действии 50 Гц магнитного поля, зависела от интенсивности, типа действия и длительности поля, а его эффект авторы объясняли ингибированием потенциал-управляемых  $Ca^{2+}$ -каналов [6]. Однако, в миоцитах наблюдалось увеличение внутриклеточной концентрации ионов кальция, которое сопровождалось ингибированием пролиферации и дифференциации в первичной культуре клеток скелетных мышц [7]. Влиянием на кальциевый сигнал объясняют действие слабых магнитных полей на клетки иммунной системы [8]. Кроме влияния на ионный (кальциевый) гомеостаз и активность протеинкиназы С, для слабых магнитных полей была показана способность увеличивать в клетках *Sepaea nemoralis* продукцию NO и, таким образом, вызывать снижение ноцицептивного эффекта опиоидов [9].

Вместе с тем, изменение мембранного потенциала в клетках возбудимых тканей (и, как результат – изменение магнитного поля) позволяет использовать в медицинских исследованиях кроме метода электромиографии также метод магнитомиографии. В частности, этот метод используют для анализа спонтанной активности гладких мышц матки [10].

Таким образом, изучение особенностей влияния слабых магнитных полей крайне низкой частоты на биологические объекты, особенно на возбудимые ткани, продолжает оставаться актуальной проблемой

современной биофизики. В связи с этим, в данной работе изучали действие магнитного поля на сокращения гладкомышечных полосок слепой кишки крысы, вызванные  $K^+$ -деполяризацией плазматической мембраны и медиатором холинорецепторов ацетилхолином.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В настоящем исследовании в изометрическом режиме регистрировали сократительную активность кольцевых гладких мышц слепой кишки (*caecum*) крысы. В опытах использовали нелинейных белых крыс-самцов популяции вивария Киевского национального университета имени Тараса Шевченко (средний вес животных составлял 220-250 г). Кольцевые полоски *caecum* (средний размер 1,5 x 10 мм), очищенные от слизистой оболочки, помещали в рабочую камеру объемом 2 мл с проточным раствором Кребса (скорость протекания 4 мл/мин), термостатированную при 37 °С. Полоски находились при постоянном натяжении (10 мН); время вработывания препарата (до появления спонтанных и вызванных сократительных ответов с постоянными параметрами) – около 1 часа. Регистрацию сигналов производили с помощью электрического потенциометра НЗ39.

В экспериментах использовали раствор Кребса (мМ): 120,4 NaCl; 5,9 KCl; 15,5 NaHCO<sub>3</sub>; 1,2 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 1,2 MgCl<sub>2</sub>; 2,5 CaCl<sub>2</sub>; 11,5 глюкоза; рН раствора составлял 7,4. Вызванные сокращения индуцировали аппликацией ацетилхолина (АХ, 10 мкМ) в растворе Кребса, а также гиперкалиевого раствора (с концентрацией  $K^+$  80 мМ), который готовили путем замещения в растворе Кребса части ионов  $Na^+$  на эквивалентное количество ионов  $K^+$ .

Генерирование переменного магнитного поля крайне низкой частоты (частота 8 Гц, индукция 25 мкТл) производили с помощью генератора Г6-28.

В каждом случае исследования после регистрации контрольных сокращений, вызванных  $K^+$ -деполяризацией и АХ, препарат (после восстановления спонтанных сокращений постоянной амплитуды и частоты) подвергали предварительному действию магнитного поля (15 мин), и дальше на его фоне регистрировали вызванные  $K^+$ -деполяризацией и АХ сокращения. В части экспериментов исследования продолжали, индуцируя сокращения после отключения генератора магнитного поля.

Сократительные ответы гладкомышечных полосок анализировали с помощью метода кинетического анализа Ф.Бурдыги и С.Костерина [11]. В его основе лежит линеаризация отдельно фаз сокращения (участок сократительного ответа от начала генерирования напряжения до его максимума) и расслабления (начиная от максимума напряжения препарата и дальше тоническая составляющая сократительного ответа) в координатах  $\{ \ln[(f_m - f)/f]; \ln t \}$ , где  $f$  – текущее значение силы сокращения,  $t$  – время и  $f_m$  – величина максимальной силы. Время, в

которое наблюдается  $f_m$ , принимается за начальную точку отсчета фазы расслабления. Из линеаризованной кривой рассчитывают показатели  $n$  (коэффициент крутизны графика) и  $\tau$  (характеристическое время, при котором значение силы сократительного ответа составляет  $f_m/2$ ). Эти показатели использовали для расчета независимых от  $f_m$  показателей – нормированных максимальных скоростей ( $V_n$ ) фаз сокращения ( $V_{nc}$ ) и расслабления ( $V_{nr}$ ):

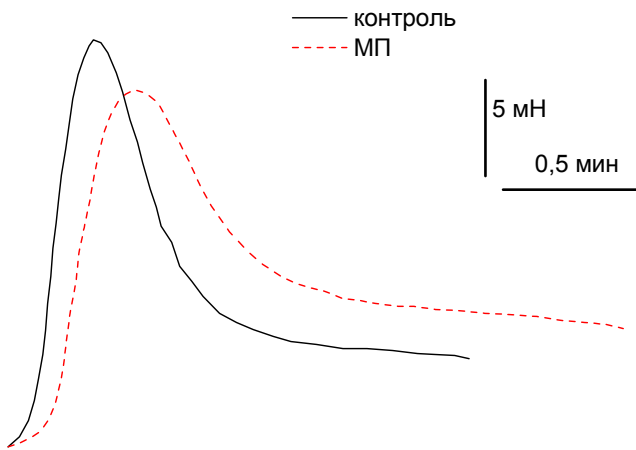
$$V_n = \left| -\left(1/f_m\right)(df/dt) = \frac{(n-1)^{\frac{n-1}{n}} \cdot (n+1)^{\frac{n+1}{n}}}{4n\tau} \right|.$$

Статистический анализ производили общепринятыми методами вариационной статистики. С помощью метода Шапиро-Уилка была подтверждена нормальность закона распределения генеральных совокупностей, к которым принадлежали данные. Для сравнения показателей максимальной силы сокращения ( $f_m$ ) и времени ее достижения ( $t_m$ ), а также нормированных максимальных скоростей фаз сокращения и расслабления ( $V_{nc}$  и  $V_{nr}$ ), использовали парный t-критерий Стьюдента. Во всех случаях достоверными считали результаты при  $P < 0,05$ . Результаты экспериментов представлены как среднее  $\pm$  стандартная ошибка среднего.

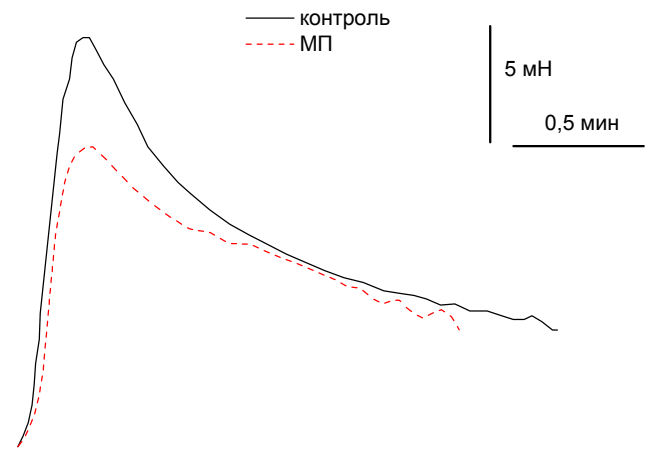
## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В работе изучали влияние магнитного поля на эффективность сокращений препаратов, активированных деполяризацией плазматической мембраны гладкомышечных клеток (так называемое электромеханическое сопряжение). Было установлено, что во всех случаях ( $n = 13$ ) действие МП сопровождается угнетением  $K^+$ -индуцированных сокращений (в среднем на 23%,  $P < 0,001$ ), а их максимальное значение силы  $f_m$  с ( $12,9 \pm 1,7$ ) мН в контроле снижалась до ( $9,9 \pm 1,5$ ) мН на фоне МП. В части случаев наблюдалось замедление развития сократительных ответов, таким образом, что  $f_m$  достигалось достоверно позднее, чем в контроле (рис. 1). Таким образом, МП вызывало достоверное увеличение показателя  $t_m$  (с ( $0,36 \pm 0,04$ ) мин. в контроле до ( $0,41 \pm 0,05$ ) мин. на фоне МП соответственно,  $P < 0,05$ ), которое, однако не отразилось на  $V_{nc}$ . Помимо изменения амплитудных характеристик, имело место относительное замедление расслабления препаратов:  $V_{nr}$  уменьшалась на 32,5% ( $P < 0,01$ ) (рис. 3).

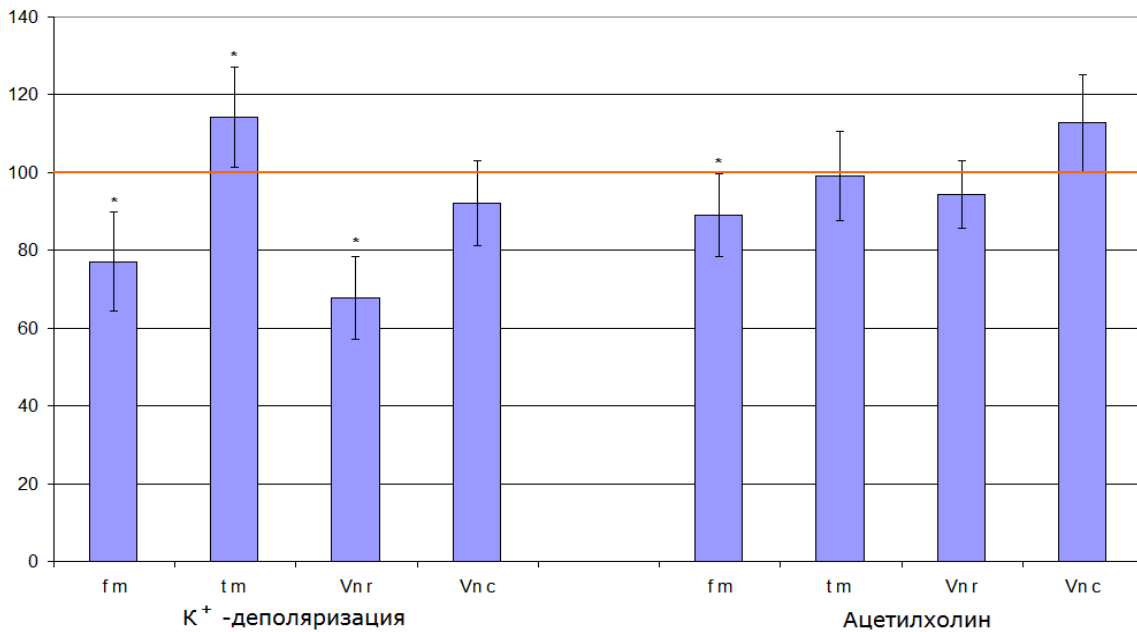
Последующее повторение экспериментов на этих же гладкомышечных препаратах при выключении МП и его повторном действии выявило расхождение эффектов: в 4 препаратах  $f_m$  восстановилось до контрольного значения, в 5 препаратах - имело тенденции к восстановлению или осталось на уровне эффекта МП, и еще 4 препаратах наблюдалось дальнейшее снижение силы сокращения. Повторное действие МП вызывало достоверное снижение  $f_m$ .



**Рис. 1.** Изменение  $K^+$ -вызванного (80 мМ) сокращения гладкомышечных полосок *saecum* крысы под действием магнитного поля.



**Рис. 2.** Изменение ацетилхолин-вызванного (10μМ) сокращения гладкомышечных полосок *saecum* крысы под действием магнитного поля.



**Рис. 3.** Влияние магнитного поля на механокинетические параметры сокращений гладкомышечных полосок *saecum* крысы.

*Примечание:* Данные представлены в процентах относительно контрольных значений, принятых за 100%.

\* - достоверные отличия параметров ( $P < 0,05$ , парный критерий Стьюдента).

*Обозначения:*  $f_m$  – величина максимальной силы сокращения;  $t_m$  – время максимального сокращения;  $V_n$  - нормированная максимальная скорость;  $V_{nc}$  - нормированная максимальная фаза сокращения;  $V_{nr}$  - нормированная максимальная фаза расслабления.

Известно, что возрастание внутриклеточной концентрации ионов кальция в случае индукции сокращения  $K^+$ -деполяризацией обеспечивается входом  $Ca^{2+}$  через потенциал-управляемые  $Ca^{2+}$ -каналы плазматической мембраны, а также их освобождением из внутриклеточных депо (через рианодин-чувствительные рецепторы-каналы саркоплазматического ретикулума) [12]. Кроме этого деполяризация мембраны с помощью KCl вызывает сенситизацию сократительного аппарата к ионам  $Ca^{2+}$  через активацию киназы RhoA [13]. Исследования последних лет показали, что в  $K^+$ -индуцированное сокращение может обеспечивать дополнительный

вклад также инозитол-1,4,5-трифосфат (ИТФ) активируя выход кальция через ИТФ-чувствительные рецепторы-каналы саркоплазматического ретикулума [14]. Таким образом, основываясь на данных литературы, наиболее вероятной мишенью действия магнитного поля в случае модификации  $K^+$ -индуцированных сокращений могут быть потенциал-управляемые  $Ca^{2+}$ -каналы L-типа, хотя также необходима дополнительная проверка действия этого фактора, в частности, на механизмы освобождения ионов кальция из саркоплазматического ретикулума и связанные с ними процессы активации  $Ca^{2+}$ -активируемых  $K^+$ -каналов. Поскольку в процессе

проведения экспериментов не было использовано антагонистов рецепторов к нейромедиаторам (освобождение которых из интрамуральных нейронов вызывается деполяризацией), нельзя исключить влияния магнитного поля на эти механизмы.

Главным возбуждающим нейромедиатором интестинальных гладких мышц есть ацетилхолин. Известно, что на мембране гладкомышечных клеток присутствуют мускариновые рецепторы двух подтипов (M2 и M3) [15]. Вызванное ацетилхолином сокращение двухкомпонентно: на начальном этапе действия медиатора развивается быстрый сократительный ответ (фазное сокращение, опосредованное активацией сопряженных с G<sub>q/11</sub>-белками M3-холинорецепторов), который переходит в длительное тоническое сокращение (опосредованное M2-холинорецепторами, сопряженными с G<sub>o/i</sub>-белками) [16].

Сокращения, индуцированные ацетилхолином, оказались менее чувствительными к действию МП. При действии данного фактора существенное снижение  $f_m$  (на 15% и более) было зарегистрировано на половине гладкомышечных препаратов (6 из 13) (рис. 2). Тем не менее, статистический анализ всего массива данных позволил выявить достоверное уменьшение  $f_m$  на 11% ( $P = 0,036$ ,  $n = 11$ ) относительно контрольных значений. Остальные механокинетические показатели ацетилхолин-индуцированных сокращений ( $t_m$ ,  $V_{nc}$  и  $V_{nr}$ ) оставались на уровне контрольных значений (рис. 3). Как видно, под действием магнитного поля изменение ацетилхолиновых сокращений было значительно слабее по сравнению с ответами на К<sup>+</sup>-деполяризацию, а также при этом не менялось соотношение величин фазного и тонического компонентов. Можно высказать предположение, что уменьшение магнитным полем вызванных ацетилхолином сокращений препаратов *caecum* связано с ингибированием потенциал-зависимого входа ионов Ca<sup>2+</sup> в гладкомышечные клетки. Наиболее вероятной мишенью, которую модифицирует магнитное поле в гладких мышцах кишечника, могут быть потенциал-управляемые Ca<sup>2+</sup>-каналы плазматической мембраны L-типа, хотя нельзя также исключить чувствительность к МП Ca<sup>2+</sup>-зависимых K<sup>+</sup>-каналов

## ВЫВОДЫ

Таким образом, импульсное магнитное поле частотой 8 Гц 25 индукцией мкТл угнетает вызванные сокращения гладких мышц кишечника, изменяя при этом характер протекания сократительных ответов, индуцированных деполяризацией (в частности, тонической составляющей). Наиболее вероятной мишенью, которую модифицирует магнитное поле в интестинальных гладких мышцах, могут быть потенциал-управляемые Ca<sup>2+</sup>-каналы плазматической мембраны.

## Литература

1. Rosen A. Mechanism of Action of Moderate-Intensity Static Magnetic Fields on Biological Systems // Cell Biochem. Biophys. – 2003. – V. 39. – P. 163-173.
2. Бунгу В.Н., Савин А.В. Физические проблемы действия слабых магнитных полей на биологические системы // Успехи физических наук. – 2003. – Т. 173, №3. – С. 265-300.
3. Мартынюк В.С., Абу Хада Р.Х., Ибрагимова Н.Д. Реакция тучных клеток на действие хромогликата натрия и переменного магнитного поля в условиях *in vitro* // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И.Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2001. – Т.14 (53), № 3 – С. 117-120.
4. Harland D.J., Liburdy R.P. Environmental Magnetic Fields Inhibit the Antiproliferative Action of Tamoxifen and Melatonin in a Human Breast Cancer Cell Line // Bioelectromagnetics. – 1997. – Vol. 18. – P. 555-562.
5. Bauréus K., Sommarin M., Persson B.R., Salford L.G., Eberhardt J.L. Interaction between weak low frequency magnetic fields and cell membranes // Bioelectromagnetics. – 2003. – V. 24 (6). – P. 395-402.
6. Moghadam M.K., Firoozabadi M., Janahmadi M. Effects of weak environmental magnetic fields on the spontaneous bioelectrical activity of snail neurons // J. Membr. Biol. – 2011. – V. 240 (2). – P. 63-71.
7. Елдашев И.С., Щеголев Б.Ф., Сурма С.В., Белостоцкая Г.Б. Эффект низкоинтенсивных магнитных полей на развитие мышечных клеток в первичной культуре новорожденной крысы // Биофизика. – 2010. – Т.55 (5). – С. 868-874.
8. Walleczek J. Electromagnetic field effects on cells of the immune system: the role of calcium signaling // FASEB J. – 1992. – V. 6(13). – P. 3177-3185.
9. Kavaliers M., Wiebe J.P., Ossenkopp K.P. Brief exposure of mice to 60 Hz magnetic fields reduces the analgesic effects of the neuroactive steroid, 3alpha-hydroxy-4-pregnen-20-one // Neurosci Lett. – 1998. – V. 4:257 (3). – P. 155-158.
10. Ramon C., Preissl H., Murphy P., Wilson J., Lowery C., Eswaran H. Synchronization analysis of the uterine magnetic activity during contractions // BioMedical Engineering OnLine 2005, 4:55 (<http://www.biomedical-engineering-online.com/content/4/1/55>)
11. Burdyga Th.V., Kosterin S.A. Kinetic analysis of smooth muscle relaxation // Gen. Physiol. Biophys. 1991. №10. P. 589-598.
12. Hishinuma S., Saito M. Differential roles of ryanodine- and thapsigargin-sensitive intracellular Ca<sup>2+</sup> stores in excitation-contraction coupling in smooth muscle of guinea-pig taenia caeci // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. – 2006. – V. 33 (12). – P. 1138-1143.
13. Ratz P., Berg K., Urban N., Miner A. Regulation of smooth muscle calcium sensitivity: KCl as a calciumsensitizing stimulus // Am. J. Physiol.: Cell Physiol. – 2005. – V. 288. – P. C769-C783.
14. Timo Kirschstein T., Rehberg M., Bajorat R., Tokay T., Porath K., Kohling R. High K<sup>+</sup>-induced contraction requires depolarization-induced Ca<sup>2+</sup> release from internal stores in rat gut smooth muscle // Acta Pharmacologica Sinica. – 2009. – V. 30. – P. 1123-1131.
15. Uchiyama T., Chess-Williams Muscarinic receptor subtypes of the bladder and gastrointestinal tract // J. Smooth Muscle Res. – 2004. – V.40 (6). – P. 237-247.
16. Wrzos H., Tandon T., Ouyang A. Mechanisms mediating cholinergic antral circular smooth muscle contraction in rats // World J. Gastroenterol. – 2004. – V. –10 (22). – P. 3292-3298.

---

**ВПЛИВ МАГНІТНОГО ПОЛЯ НАДНИЗЬКОЇ ЧАСТОТИ НА ВИКЛИКАНУ  $K^+$ -ДЕПОЛЯРИЗАЦІЮ І АЦЕТИЛХОЛІНОМ СКОРОЧУВАЛЬНУ АКТИВНІСТЬ ІНТЕСТИНАЛЬНИХ ГЛАДЕНЬКИХ М'ЯЗІВ****Цимбалюк О.В., Мартинюк В.С.**

У роботі було досліджено вплив імпульсного магнітного поля наднизької частотою 8 Гц 25 мкТл на скорочувальну активність кільцевих гладеньких м'язів *caecum* щура. Було показано, що під дією магнітного поля пригнічуються скорочення, викликані аплікацією медіатора ацетилхоліну і в більшій мірі індуковані  $K^+$ -деполяризацією плазматичної мембрани. Встановлено, що при впливі магнітного поля спостерігаються достовірне збільшення часу досягнення максимальної сили  $K^+$ -індукованих скорочень, а також зменшення швидкості розслаблення препаратів. В роботі обговорюються можливі механізми дії магнітного поля на гладенькі м'язи кишечника. Зокрема, ймовірною ефекторною ланкою, на яку діє магнітне поле, можуть бути потенціалкервані  $Ca^{2+}$ -канали плазматичної мембрани.

**Ключові слова:** магнітне поле наднизької частоти, гладенькі м'язи, викликані скорочення, кінетичні параметри скорочення.

**INFLUENCE OF EXTREMELY LOW FREQUENCY MAGNETIC FIELD ON THE CAUSED BY  $K^+$ -DEPOLARIZATION AND BY ACETYLCHOLINE CONTRACTION ACTIVITY OF THE INTESTINAL SMOOTH MUSCLES****Tsybalyuk O.V., Martyniuk V.S.**

The influence of extremely low frequency magnetic fields 8 Hz 25  $\mu$ T to the contractile activity of circular smooth muscles of rat caecum was investigated. It was shown that magnetic field suppressed the contractions caused by the application of the mediator acetylcholine and also  $K^+$ -induced depolarization of plasmatic membranes. Magnetic field increases the time of reaching the maximum force of  $K^+$ -induced contractions and also decreases velocity of the relaxations. The possible mechanisms of the action of magnetic field on intestinal smooth muscles are discussed. In particularly, the probable effector component, that sensitive to magnetic field, can be the voltage-gated  $Ca^{2+}$ -channels of plasmatic membrane.

**Key words:** extremely low frequency magnetic field, smooth muscles, evoked contractions, kinetic parameters of contractions.

---