

Віктор Костенко

Таміла Чамор

Ольга Цимбалюк

Тамара Давидовська

Модуляція скорочувальної активності гладеньких м'язів кишечника щурів в умовах дії низькоінтенсивного електромагнітного випромінювання

Тензометричним методом в ізометричному режимі на ізольованих гладеньком'язових смужках *saesum* щурів показано, що їхня спонтанна скорочувальна активність характеризується розподілом амплітуд скорочення за частотами. Встановлено, що електромагнітне випромінювання (спектральна щільність потужності шуму 10^{-12} Вт/см²Гц, частотний діапазон від 30 ГГц до 400 ГГц) модулює розподіл зміщень в групах амплітудного діапазону спонтанних скорочень м'язових препаратів, трансформує відношення фазного компонента до тонічного гіперкалієвої контрактури. Електромагнітне випромінювання у комбінації з плоским фрактальним фільтром зменшує амплітуду спонтанних скорочень та інгібує фазний компонент K^+ -контрактури. Зазначений ефект є зворотним.

Ключові слова: електромагнітне випромінювання, гладенькі м'язи, скорочення, частотно-амплітудний аналіз.

Постановка наукової проблеми та її значення. Важливим чинником функціонування органів травної системи є здатність гладеньких м'язів, які формують стінки порожнини травного тракту, генерувати електричні імпульси, що індукують ритмічні скорочення, зумовлюючи перистальтичні рухи. Така ж скорочувальна активність підтримується і за умов ізолювання фрагментів м'язової стінки та забезпечується пейсмеркерами – інтерстиціальними клітинами Кахаля (ІКК) – специфічними клітинами, які експресують тирозинкіназу c-kit [14; 17]. ІКК генерують повільні хвилі деполяризації, таким чином задаючи частоту спонтанних скорочень [6]. Також ІКК формують розгалужену систему зв'язків між нервовими терміналами та скорочувальними клітинами і цим забезпечують узгоджену реакцію значних ділянок гладеньком'язової стінки кишечника [14]. Однією з причин патологічних станів шлунково-кишкового тракту (парези кишечника, гастропарези, гастроентеропатія, хвороба Крона тощо) є порушення ритмічної активності ІКК, тому надзвичайно актуальний пошук засобів її модуляції та відновлення [8; 9; 11].

Останнім часом значну увагу дослідників привертають електромагнітні випромінювання, які є невіддільною частиною впливу навколишнього середовища на організм [16]. Нині накопичено значний обсяг експериментальних досліджень дії низькоінтенсивних (<1 мВт/см²) електромагнітних випромінювань на живі системи різного рівня організації [1–5]. Зокрема, показано, що під впливом низькоінтенсивного випромінювання змінюється проникність клітинних мембран та їх функціональні властивості, що приводить до збільшення активності транспортування речовин через мембрану і посилення основних біоенергетичних процесів [7]. Серед виявлених закономірностей впливу низькоінтенсивних електромагнітних випромінювань (ЕМВ) можна відзначити вплив на перебіг біохімічних реакцій внутрішньоклітинного метаболізму, ензиматичну активність, нейрогуморальну регуляцію вегетативної нервової системи. У зв'язку з цим виникає питання щодо можливості нефармакологічної модуляції низькоінтенсивними ЕМВ спонтанної ритмічної активності та викликаних деполяризацією скорочень гладеньких м'язів кишечника.

Матеріали і методи. Експерименти проводили на ізольованих гладеньких м'язах *saesum* щурів. Усі маніпуляції з тваринами відбувалися згідно з Міжнародною конвенцією роботи з тваринами та Законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження». Кільцеві смужки *saesum* (середній розмір – 1×10 мм), очищені від слизової оболонки, розміщували у робочій камері об'ємом 2 мл з проточним розчином Кребса (швидкість протікання – 5 мл/хв), термостатованій при 37 °С. Мультиклітинному препарату надавали пасивний натяг (10 мН) і залишали на 1 год (до появи спонтанних скорочень постійної амплітуди і частоти). Реєстрацію скорочень гладеньком'язових смужок (ГМС) проводили в ізометричному режимі за допомогою електромеханічного перетворювача. Електричні сигнали з перетворювача подавали на реєструючу систему установки.

У дослідах використовували нормальний розчин Кребса (НРК) з різною концентрацією складників (ммоль/л): NaCl – 120,4; KCl – 5,9; NaHCO₃ – 15,5; NaH₂PO₄ – 1,2; MgCl₂ – 1,2; CaCl₂ – 2,5; глюкоза – 11,2; рН 7,4. Гіперкалієвий розчин, який містив іони K⁺ у концентрації 40 ммоль/л, готували через заміну у вихідному розчині Кребса необхідної частини іонів Na⁺ на еквімолярну кількість іонів K⁺.

Джерелом електромагнітного випромінювання був пристрій «ІХТ-Поріг».

Експериментальні дані обробляли методами варіаційної статистики із використанням програми Origin 7.0. Для визначення вірогідних відмінностей між середніми величинами вибірок використовували парний t-критерій Стьюдента. У всіх випадках достовірними вважали результати за умови, що значення ймовірності p менше 5 % ($p < 0,05$).

Виклад основного матеріалу й обґрунтування отриманих результатів дослідження. Амплітудно-частотні залежності спонтанних скорочень ізольованих гладеньком'язових смужок (ГМС) *saesut* щурів досліджували під час дії електромагнітного випромінювання зі спектром, що має характер флікер-шуму (степеневий шум), при спектральній щільності потужності шуму (СЦПШ) 10^{-12} (Вт/см²Гц) та частотним діапазоном від 30 ГГц до 400 ГГц. Час експозиції при опосередкованій дії електромагнітного поля (ЕМП) через фізіологічний розчин становив 15 хвилин. Перед початком експериментів проводили контрольні вимірювання амплітудно-частотної залежності спонтанних скорочень гладеньком'язових смужок. Для виконання аналізу спонтанної скорочувальної активності м'язових препаратів формували групи скорочень, кількість яких у кожній становила 50. З'ясовано, що величина амплітуди скорочень у групах змінювалася від 3 до 7 мН (для стандартних м'язових препаратів, що їх використовували у дослідах). У зазначеному інтервалі величин спостерігали їх розподіл за частотами з двома вірогідними максимумами – $32 \pm 2,6$ % та $22 \pm 1,3$ % ($n = 6$), які відповідали амплітудам скорочень ГМС – 5 та 6 мН відповідно (рис. 1). Аналогічний амплітудно-частотний розподіл було одержано в контрольних вимірюваннях спонтанної скорочувальної активності м'язових препаратів упродовж 1,5–2 годин. Одержані в контролі результати експериментальних досліджень добре узгоджуються з даними літературних джерел [12; 18], згідно з якими спонтанні скорочення кільцевих гладеньких м'язів в товстому кишечнику щурів бувають двох типів: низькоамплітудні з відносно високою частотою та високоамплітудні з меншою частотою.

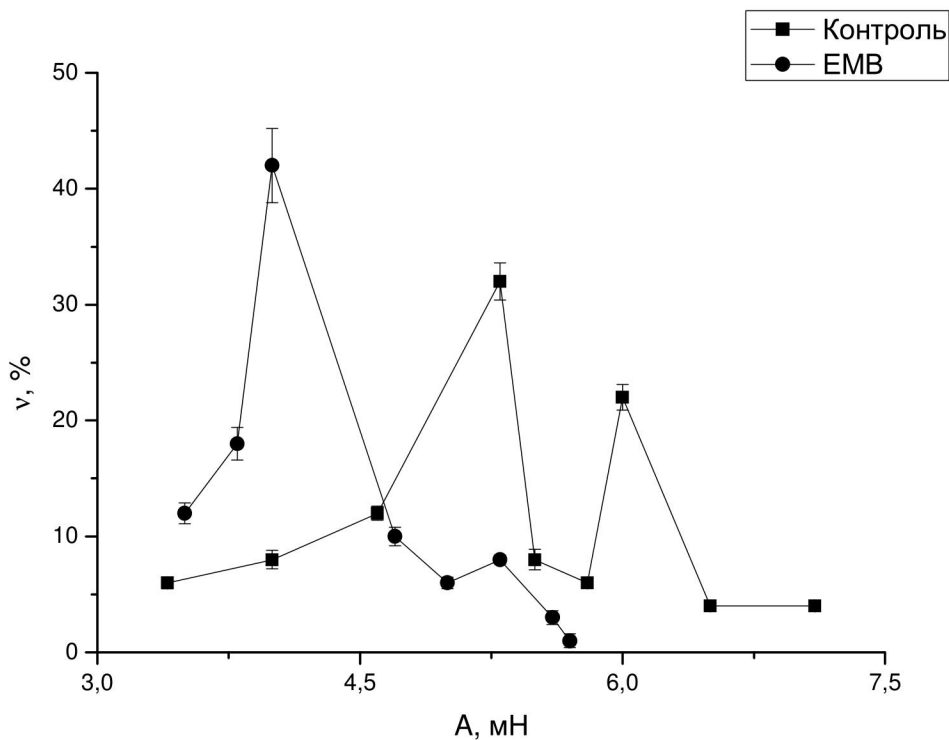


Рис. 1. Частотно (v)-амплітудна (A) залежність спонтанної скорочувальної активності кільцевих гладеньких м'язів *saesut* у контролі та під час дії електромагнітного випромінювання (ЕМВ), ($n = 6$)

Після контрольних вимірювань препарат залишався в проточному розчині Кребса. На фіксованій відстані від препарату (2 см) розташовували джерело електромагнітного випромінювання з характеристиками, вказаними вище. Результати проведених досліджень показали, що експозиція електромагнітного випромінювання упродовж 15 хв супроводжувалася змінами амплітудно-частотних характеристик гладеньком'язових смужок *saesum*. Порівняно з контролем мало місце зміщення в групах амплітудного діапазону спонтанних скорочень м'язових препаратів в межах від 3 до 6 мН. У цьому інтервалі, як і у контролі, відбувався розподіл амплітуд скорочень, але не за двома максимумами, як у контролі, а за одним, що був зміщений у бік менших амплітуд та перевищував максимальні значення частот у контролі. Частотний максимум спостерігався при амплітуді скорочення ГМС 4 мН і складав $42,5 \pm 3\%$ ($n = 6$). Слід зауважити, що зміни в амплітудно-частотних характеристиках, що виникали на 15 хв дії електромагнітного випромінювання, залишалися стабільними і на 40–50 хв його експозиції (рис. 1). Далі, не змінюючи фіксоване положення джерела ЕМВ зазначених вище характеристик, між опромінювачем і препаратом розташовували площинний фрактальний фільтр. Час експозиції становив 15 хв. Розрахунки частоти генерації спонтанних скорочень гладеньких м'язів показали, що на вказаний момент часу проведення вимірювань спостерігається зсув меж, у яких відбувається розподіл амплітуд в бік низькоамплітудних коливань з двома, майже рівноцінними, частотними максимумами: з амплітудою 3 мН – $25 \pm 1,8\%$, $n = 6$ та 4,6 мН – $20 \pm 1,3\%$, $n = 6$ (рис. 2). Наступна 15-хвилинна експозиція ЕМВ показала рівномірність розподілу амплітуд скорочень по частотам з майже відсутніми чітко вираженими частотними максимумами. Амплітудний інтервал, в межах якого відбувалися коливання, становив 2–5 мН (рис. 3).

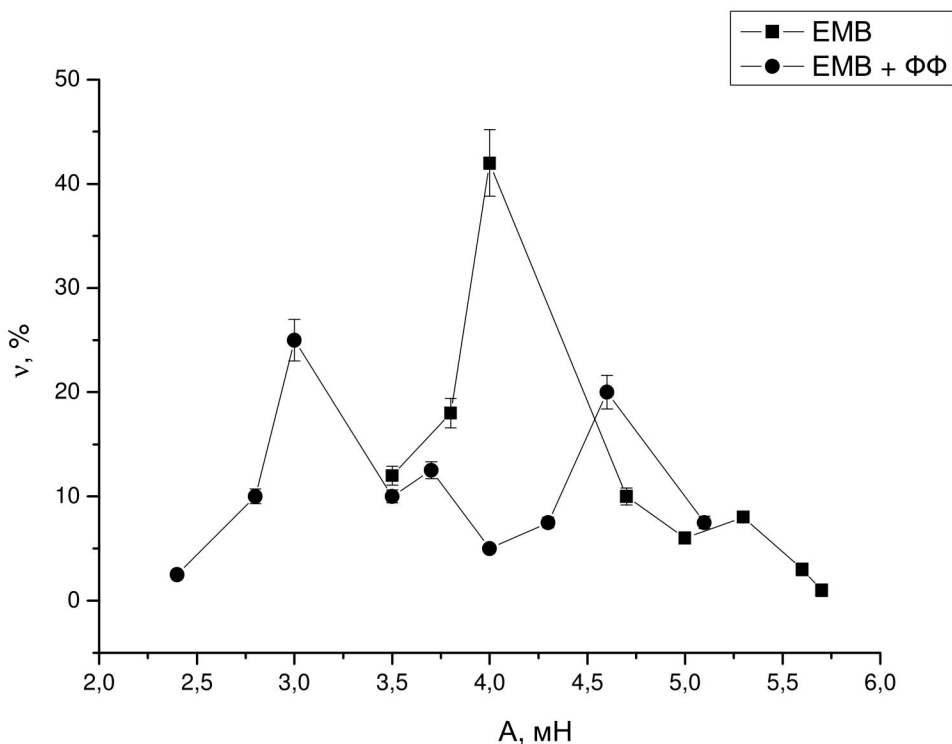


Рис. 2. Частотно (ν)-амплітудна (A) залежність спонтанної скорочувальної активності кільцевих гладеньких м'язів *saesum* під час дії електромагнітного випромінювання (ЕМВ) та у випадку дії ЕМВ у комбінації з площинним фрактальним фільтром (ФФ), ($n = 6$)

Подальшим кроком було дослідження впливу електромагнітного випромінювання на викликані гіперкалієвим розчином Кребса скорочення гладеньких м'язів *saesum*. У контролі гіперкалієвий (40 ммоль/л) розчин Кребса викликав скорочення гладеньком'язових смужок, фазний компонент якого становив $25,5 \pm 1,6$ мН, а тонічний – $5,2 \pm 0,3$ мН, $n = 6$ (рис. 4а). Відмивання м'язових препаратів нормальним розчином Кребса приводило до відновлення базального рівня м'язового тону. Результати тестування препаратів гіперкалієвим розчином Кребса зазначеної вище концентрації з інтервалом 20–30 хв впродовж 1,5 год були стабільними. Встановлено, що під час дії електромагнітного випромінювання (час експозиції 15 хв), порівняно з контролем (співвідношення фазного компонента гіперкалієвого скорочення до тонічного (k) становило $5 \pm 0,5$, $n = 6$), відбувалось

незначне збільшення амплітуди фазного та тонічного компонентів скорочення; величина k становила $3,9 \pm 0,3$, $n = 6$ (рис. 4б). Співвідношення фазного компонента скорочення до тонічного досягало одиниці на 15 хвилину ЕМВ за наявності площинного фрактального фільтра (ФФ). Відновлення гіперкалієвої контрактури відбувалося на наступну 15 хв ЕМВ: фазний компонент скорочення ГМС становив 20 ± 1 мН, $n = 6$, а тонічний – $8 \pm 0,6$ мН, $n = 6$; $k = 2,5 \pm 0,1$.

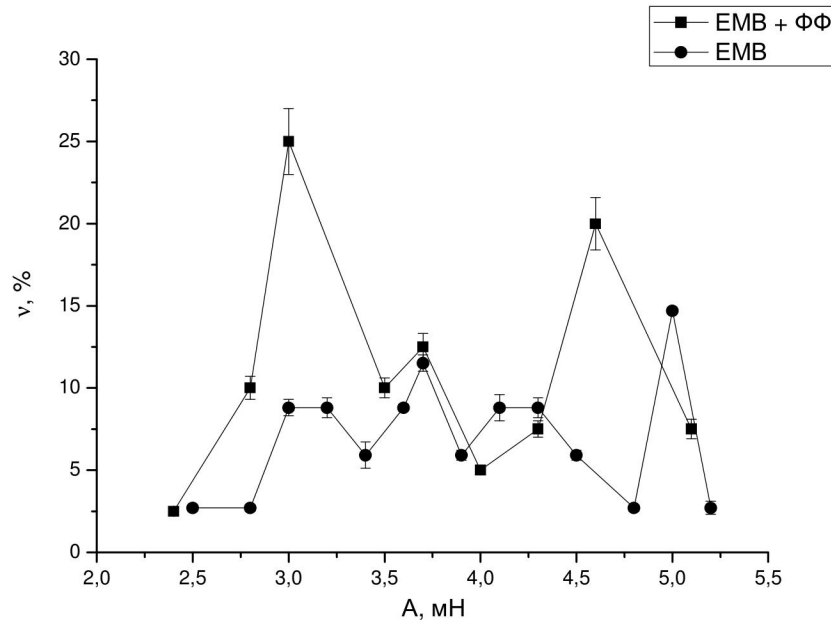


Рис. 3. Частотно (ν)-амплітудна (A) залежність спонтанної скорочувальної активності кільцевих гладеньких м'язів *saesum* під час дії електромагнітного випромінювання (ЕМВ) у комбінації з площинним фрактальним фільтром (ФФ) та під час дії ЕМВ, ($n = 6$)

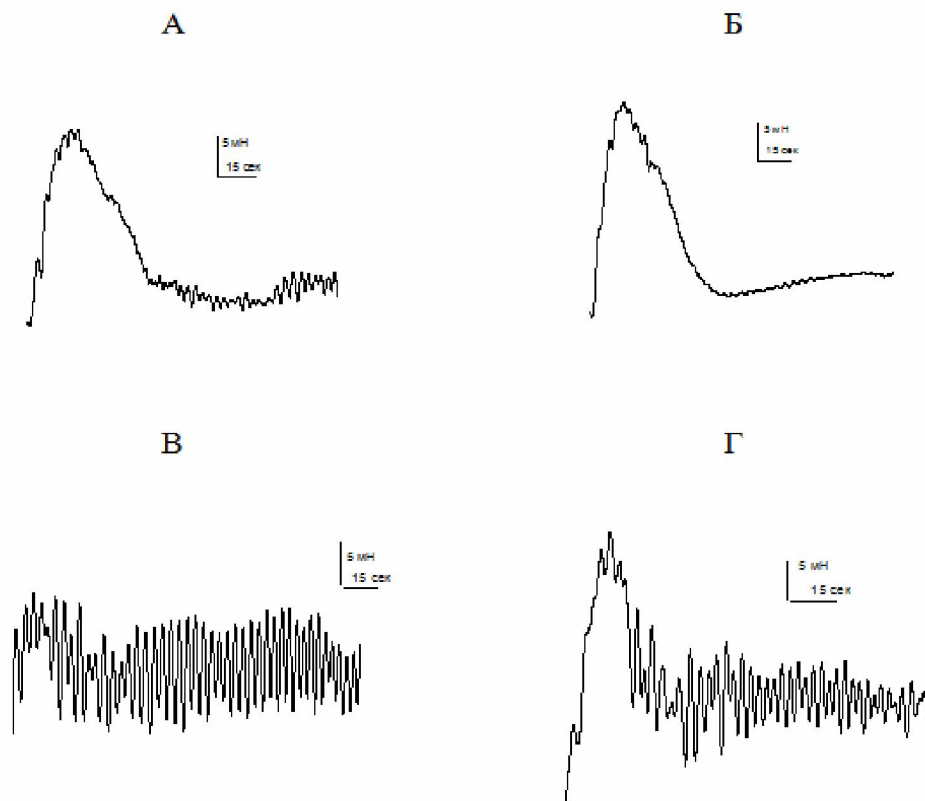


Рис. 4. Викликані гіперкалієвим розчином Кребса (40 ммоль/л) скорочення кільцевих гладеньких м'язів *saesum*: А – контроль; Б – під час дії електромагнітного випромінювання (ЕМВ); В – ЕМВ в комплексі з площинним фрактальним фільтром (ФФ); Г – ЕМВ, ($n = 6$)

Висновки. Аналіз одержаних результатів свідчить, що ЕМВ зазначених вище параметрів здатне ефективно модулювати амплітуду й частоту спонтанних скорочень, а також частоту появи скорочень певної величини. Враховуючи дані [12; 13; 18] про те, що ключовими механізмами регуляції спонтанної скорочувальної активності гладеньких м'язів товстого кишечника щурів є зміни пейсмейкерної активності інтерстиціальних клітин та процеси іонного транспорту ГМК, можна припустити, що саме їх модуляція фізичним фактором є причиною встановлених в експериментах змін амплітудно-частотних характеристик скорочень *saesum*. Дійсно, згідно з даними літературних джерел [13], зміна амплітуди спонтанних скорочень свідчить про модифікацію ефективності функціонування гладеньком'язових клітин, тоді як зміна їхньої частоти безпосередньо пов'язана з модифікацією клітин Кахаля, що і спостерігалось у дослідах.

З літературних даних [15] відомо, що гіперкалієва контрактура гладеньких м'язів є зручною моделлю для дослідження проникності плазматичної мембрани до Ca^{2+} , що надходить до гладеньком'язових клітин через потенціалкеровані Ca^{2+} -канали L-типу. В наших дослідах за певних умов відбувалось пригнічення фазного компонента скорочень, викликаних гіперкалієвим розчином Кребса. Проте фазний компонент залишався без змін, що, враховуючи дані літературних джерел [10], вказує на нечутливість до дії ЕМВ мембрани нервових закінчень інтрамуральної нервової системи кишечника.

Джерела та література

1. Влияние низкоинтенсивного электромагнитного излучения на активность процессов перекисного окисления и антиоксидантной активности крови *in vitro* / Р. В. Мазуренко, С. Н. Махно, П. П. Горбик [и др.] // Биомедицинская радиоэлектроника. – 2009. – № 2. – С. 11–15.
2. Емец Б. Г. Низкоинтенсивные электромагнитные микроволны и биообъекты: эффекты действия и биофизические механизмы / Б. Г. Емец // Вісн. Харк. ун-ту. Біофізичний вісник. – 1998. – № 442, вип. 2. – С. 118–130.
3. Закономерности влияния низкоинтенсивного электромагнитного излучения на биологические системы / О. М. Гаркуша, Р. В. Мазуренко, С. Н. Махно, П. П. Горбик // Поверхность. – 2010. – Вип. 2 (17). – С. 340–354.
4. Кожокару А. Ф. Механизмы прямого и опосредственного действия через воду низкоинтенсивного радиочастотного ЭМИ на мембранные системы и биологические объекты / А. Ф. Кожокару, Н. Л. Кожокару, Ж. И. Буровецкая // Биомедицинские технологии и радиоэлектроника. – 2006. – № 8. – С. 58–68.
5. Колбун М. Д. Спосіб хвильової терапії : патент на винахід № 21284. UA / М. Д. Колбун, В. І. Костенко // Бюлетень. – 1998. – № 1. – 27 лют. – С. 1–10.
6. Are interstitial cells of Cajal involved in mechanical stress-induced gene expression and impairment of smooth muscle contractility in bowel obstruction? / C. C. Wu, Y. M. Lin, J. Gao [et al.] // PLoS One. 2013. – 8 (9). – e76222. doi: 10.1371/journal.pone.0076222. eCollection 2013.
7. Cell type-dependent induction of DNA damage by 1800 MHz radiofrequency electromagnetic fields does not result in significant cellular dysfunctions / S. Xu, G. Chen, C. Chen [et al.] // PLoS One. – 2013. – 8 (1). – e54906. – doi: 10.1371/journal.pone.0054906.
8. Disruption of interstitial cells of Cajal networks after massive small bowel resection / J. Chen, L. Du, Y. T. Xiao, W. Cai // World J. Gastroenterol. – 2013. – 19 (22). – P. 3415–3422. doi: 10.3748/wjg.v19.i22.3415.
9. Expression and significance of neuroligins in myenteric cells of Cajal in Hirschsprung's disease / J. Wang, Y. Mou, Q. Zhang [et al.] // PLoS One. – 2013. – 8 (6). – e67205. doi:10.1371/journal.pone.0067205. Print 2013.
10. Kurijama H. Physiological features of visceral smooth muscle cells, with special reference to receptors and ion channel / H. Kurijama, K. Kitamura, T. Itoh // Physiol. Rev. – 1998. – 78 (3). – P. 811–920.
11. Lin Y. M. Mechanical stress is a pro-inflammatory stimulus in the gut: *in vitro*, *in vivo* and *ex vivo* evidence / Y. M. Lin, F. Li, X. Z. Shi // PLoS One. – 2014. – 9 (9). – e106242. doi: 10.1371/journal.pone.0106242. eCollection 2014.
12. Modulation of the activity of two pacemakers by transmural nerve stimulation in circular smooth muscle preparations isolated from the rat proximal colon / T. Kato, E. Nakamura, K. Imaeda, H. Suzuki // J. Smooth Muscle Res. – 2009. – Vol. 45, N 6. – P. 249–268.
13. Pluja L. Neural modulation of the cyclic electrical and mechanical activity in the rat colonic circular muscle: putative role of ATP and NO / L. Pluja, E. Fernandez, M. Jimenez // Br. J. Pharmacol. – 1999. – Vol. 126. – P. 883–892.
14. Responses to enteric motor neurons in the gastric fundus of mice with reduced intramuscular interstitial cells of Cajal / K. M. Sanders, A. K. Salter, G. W. Hennig [et al.] // J. Neurogastroenterol. Motil. – 2014. – 20 (2). – P. 171–184.

15. Shuba M. F. The transport mechanisms by which contraction activated extracellular Ca^{2+} ions enter smooth muscle cells / M. F. Shuba // 28th Int. Congress of Physiol. «Smooth muscle» Sci. – Budapest, Hungary, 1982. – P. 88–93.
16. Speit G. Genotoxic effects of exposure to radiofrequency electromagnetic fields (RF-EMF) in HL-60 cells are not reproducible / G. Speit, R. Gminski, R. Tauber // Mutat. Res. – 2013. – 755 (2). – P. 163–166. doi: 10.1016/j.mrgentox.2013.06.014.
17. The significance of interstitial cells in neurogastroenterology / P. J. Blair, P. L. Rhee, K. M. Sanders, S. M. Ward // J. Neurogastroenterol. Motil. – 2014. – 20 (3). – P. 294–317.
18. Two independent networks of interstitial cells of Cajal work cooperatively with the enteric nervous system to create colonic motor patterns / J. D. Huizinga, S. Martz, V. Gill [et al.] // Frontiers of Neuroscience. – 2011. – Vol. 5. – P. 1–14.

Костенко Виктор, Чамор Тамила, Цимбалюк Ольга, Давидовская Тамара. Модуляция сократительной активности гладких мышц кишечника крыс в условиях действия низкоинтенсивного электромагнитного излучения. Тензометрическим методом в изометрическом режиме на изолированных гладкомышечных полосках *caecum* крыс показано, что их спонтанная сократительная активность характеризуется распределением амплитуд сокращения по частотам. Установлено, что электромагнитное излучение (спектральная плотность мощности шума 10^{-12} Вт/см²Гц, частотный диапазон от 30 ГГц до 400 ГГц) модулирует распределение смещений в группах амплитудного диапазона спонтанных сокращений мышечных препаратов, трансформирует отношение фазного компонента к тоническому гиперкалиевой контрактуры. Электромагнитное излучение в сочетании с плоским фрактальным фильтром уменьшает амплитуду спонтанных сокращений и ингибирует фазный компонент K^{+} -контрактуры. Указанный эффект является обратным.

Ключевые слова: электромагнитное излучение, гладкие мышцы, сокращения, частотно-амплитудный анализ.

Kostenko Viktor, Chamor Tamila, Tsymbalyuk Olga, Davydovska Tamara. Modulation of the Contractile Activity of Rat Intestinal Smooth Muscles under the Action of Low-intensity Electromagnetic Radiation. On isolated smooth muscle strips rat *caecum* with tensometrical method in the isometric mode was shown that their spontaneous contractile activity is characterized by the distribution of the amplitudes of the frequency contractions. It is found that the electromagnetic radiation (power spectral density of noise 10^{-12} W/sm²Hz, frequency range from 30 GHz to 400 GHz) modulates the distribution of displacement amplitude range in groups of spontaneous contractions of muscle preparations, and the phasic/tonic components ratio of high-potassium contracture transforms to the tonic component. Electromagnetic radiation, combined with fractal plane filter reduces the amplitude of spontaneous contractions and inhibits the phase component of K^{+} -contraction. This effect is reversed.

Key words: electromagnetic radiation, smooth muscle, contraction, the frequency-amplitude analysis.

Стаття надійшла до редколегії
23.04.2014 р.