
ЭЛЕКТРИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ И ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

А.П. Энглези, П.К. Хиженков*, М.В. Нецветов*, Ю.Д. Титов,
О.Н. Самоной, А.А. Слоквенко*

ВЛИЯНИЕ НИЗКО- И СВЕРХНИЗКОЧАСТОТНЫХ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ И ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ ТОКОВ НА ИОННЫЙ ОБМЕН ОТКРЫТОЙ ПРОНИКАЮЩЕЙ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ

*НИИ травматологии и ортопедии Донецкого государственного медицинского
университета, ул. Артема, 106, г. Донецк, 83048, Украина*

**Донецкий национальный университет, ул. Щорса, 46, г. Донецк, 83050, Украина*

Одной из основных особенностей черепно-мозговой травмы (ЧМТ), кроме отека и набухания головного мозга, являются вторичные изменения в очагах ушиба и их перифокальных и пограничных зонах. В основе этих изменений, получивших название «новых» [1], лежат процессы вторичного вазоспазма, который обусловлен повышением содержания тромбоксанов, простагландинов, кальция и других факторов. Генерализованный вазоспазм приводит к возникновению зон ишемии и некрозов в перифокальной зоне очагов. Данные обстоятельства влекут за собой рост очагов контузии головного мозга, что приводит к нарастанию объемного эффекта очага. Общеизвестно, что ионы кальция обладают токсическим действием на нейроны и глиальные клетки. Они являются основными активаторами процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в нервной клетке и способствуют синтезу эндоперекисей, простагландинов и тромбоксанов – мощных спазмогенных факторов для артериол и капилляров головного мозга. Сам кальций также обладает прямым спазмогенным действием при проникновении в цитоплазму гладкомышечных клеток кровеносных сосудов [1]. Кальций поступает в клетку через потенциалзависимые и глутаматзависимые кальциевые каналы. Первые открываются при возбуждении нейронов, вторые – при воздействии глутамата с MDA- и AMPA-рецепторами. Из внутриклеточных депо кальций высвобождается в результате активации метаболотропных рецепторов. Возникающий при ишемии энергетический дефицит приводит к блокированию кальциевой АТФ-азы и образованию большого количества внеклеточного глутамата. Происходит деполяризация клетки, в результате чего в последнюю поступает большое количество кальция [1, 2].

В работах [3–5] показано, что переменное магнитное поле (ПемП) с индукцией 6–12 мТл на частоте 50 Гц приводит к снижению степени выраженности отека или набухания головного мозга. Объяснить данный эффект можно с позиции работы [6], согласно которой комплексу Ca^{++} -внутриклеточный белок (кальмодулин) присущи так называемые вибронные колебания. ПемП, попадая в резонанс с этими колебаниями, вызывают разрыв этих комплексов.

Из ряда работ известно, что магнитные поля различной природы оказывают существенное влияние на проницаемость клеточных мембран для ионов, лекарственных препаратов и других веществ. Например, в [7, 8] показано, что спорадические колебания геомагнитного поля изменяют ритмичность ряда биологических процессов, связанных с циркадными, сезонными и годовыми ритмами. В частности отмечено, что посредством изменения проницаемости мембран геомагнитное поле может оказывать влияние на весь организм. Этот вывод подтверждается результатами работы [9], согласно которым экранирование биообъектов от магнитного поля Земли приводило к изменениям проницаемости мембран. В экранированной камере с остаточным магнитным полем индукцией не более 5 нТл на культурах клеток почки эмбриона человека выявлено четырехкратное увеличение чувствительности к сулеме: в контрольной культуре при концентрации двухлористой ртути в питательной среде 3 мкг/мл цитопатический эффект достигал 25%, а в экранированной (гипомагнитной) – 100%.

Среди публикаций, касающихся влияния постоянных магнитных полей (ПМП) на проницаемость биологических мембран, в первую очередь следует отметить работы [10, 11], в которых показано, что в сильных ПМП (20–30 кЭ) в 5–6 раз уменьшается скорость транспорта флуоресцирующей краски через мембраны почечных канальцев. В этих же работах исследовано влияние взаимной ориентации плоскости мембраны хориоидного сплетения из мозга кролика и вектора действующего магнитного поля. Оказалось, что при перпендикулярной ориентации скорость транспорта флуоресцина увеличивалась в 2 раза, а при параллельной ориентации эффект отсутствовал. Приведенные в [10, 11] данные находят косвенное подтверждение в работе [12], где отмечено уменьшение скорости распространения нервного импульса по сенсорным волокнам седалищного нерва в ПМП 30–45 мТл и временах экспозиции от 0,5 до 2 часов.

Влияние переменных электромагнитных полей на проницаемость мембран клеток исследовано как теоретически, так и экспериментально. В [13] на стандартной математической модели мембраны показано, что внешнее переменное электрическое поле может вызывать изменение проводимости ионных каналов, но только в том случае, если частота приложенного поля близка к некоторой собственной частоте, которая находится в пределах от 0,1 до 10^3 Гц. Оригинальный механизм влияния переменного магнитного поля (ПеМП) на ионную проницаемость клеточных мембран предложен в [14]. Показано, что при определенных соотношениях между частотой и амплитудой внешнего ПеМП может иметь место параметрическое увеличение амплитуды колебаний ионов и соответственно ионной проницаемости. В рамках теории возмущений определены границы областей параметрического увеличения ионной проницаемости на плоскости «амплитуда – частота» внешнего магнитного поля. В экспериментах [15] на крысах показано, что однократное воздействие на организм ПеМП (величина индукции 0,01 Тл, частота 50 Гц, время экспозиции 30 мин) снижает содержание сульфацила натрия в крови и увеличивает его в тканях почек и селезенке. Заметное влияние ПеМП оказывает на водно-солевой обмен у мышей [16]. Тест на выживаемость показал, что животные, находящиеся на солевом питьевом режиме в условиях действия ПеМП при частотах 50 Гц, живут до 26 дней с начала эксперимента (в контроле не более 21), а при частоте 8 Гц погибают к 6-му дню эксперимента. Под влиянием ПеМП (напряженность 60–80 Э, частота 8 Гц, экспозиция 0,5–7 час/сутки) резко падает устойчивость культур микобактерий туберкулеза к ряду антибиотиков, например, канамицину, этионамиду, флоримицину [17]. При таких же условиях воздействия поля изменяется ряд связанных со свойствами мембран показателей функциональной активности клеток крови человека и животных – статистически значимо возрастает концентрация малонового диальдегида, падает осмотическая резистентность эритроцитов и выход белка в инкубационную среду, угнетается фагоцитарная активность лейкоцитов [18]. Переменное магнитное поле напряженностью 60–80 Э и частотой 50 Гц усиливает проникновение внутрь набухающих семян ячменя и пшеницы хлорида бария и нитрата свинца [19], что отрицательно сказывается на качественных и количественных характеристиках проростков.

В ряде работ отмечается также немонотонная частотная зависимость влияния магнитных полей [20, 21] и электрических токов [22] на проницаемость мембран. Из приведенных примеров ясно, что переменные магнитные поля и электрические токи оказывают заметное влияние на ионную проницаемость клеточных мембран.

Исходя из вышесказанного, основной целью нашей работы явилось выяснение возможности использования переменных магнитных полей и электрических токов в качестве блокаторов ионов кальция в очагах повреждения головного мозга. Данное направление можно расценить как весьма актуальное и перспективное для экспериментальной и клинической нейротравматологии.

Объект и методы исследования

В эксперименте использовали белых лабораторных мышей ($N = 85$ штук) массой 45–50 г. Моделировали открытую проникающую черепно-мозговую травму. Под эфирным наркозом производили разрез мягких тканей теменной области. Специальным устройством, представляющим собой изогнутую иглу диаметром 2,5 мм, прокалывали теменную кость, твердую мозговую оболочку и поворотом иглы на 180° разрушали ткани теменной доли мозга. Клинически у мышей развивался контрлатеральный гемипарез, иногда отмечались судороги тонического характера. Через 5 суток животных выводили из эксперимента летальной дозой эфирного наркоза. Вскрывали полость черепа, извлекали головной мозг. На поверхности полушария в мягких мозговых оболочках отмечали отверстие от иглы, окруженное венчиком субарахноидального кровоизлияния. В веществе мозга отмечали очаг разможнения мозговой ткани до 2 мм. Пораженное полушарие подвергали гистологическому и спектроскопическому исследованию. Полученные препараты минерализовались и ионизировались с получением спектров эмиссии на спектрографе ИСП-30.

Контрольные животные были разделены на 4 группы. Контрольную группу I составляли не травмированные мыши ($N = 8$ шт.), содержащиеся на обычном пищевом рационе. Мышей ($N = 8$ шт.) контрольной группы II использовали для моделирования открытой проникающей черепно-мозговой травмы и содержали на обычном пищевом рационе. Мышей ($N = 14$ шт.) контрольной группы III использовали для моделирования открытой проникающей ЧМТ (аналогично вышеописанной), но рацион животных вместо воды содержал 10% раствор хлористого кальция. Контрольная группа IV состояла из 5-ти животных, на которых проверяли влияние на ионный гомеостаз вживленных в головной мозг стальных электродов. Питьевой режим – тот же, что и в контроле III.

Опытную группу «М» (воздействие магнитными полями) составляли мыши ($N = 25$ шт.) с открытой черепно-мозговой травмой, которых также содержали на кальциевом питьевом режиме. Мышей данной группы с первых по пятые сутки эксперимента экспонировали в ПеМП по 30 мин. ежедневно при частотах 1,5; 8; 16; 25 и 50 Гц, напряженность $H_A = 60$ Э. Данная группа была разделена на 5 подгрупп по 5 мышей в каждой в соответствии с применяемыми частотами ПеМП. 25 мышей составили опытную группу «Т» (воздействие электрическим током). Каждой из них в контузионный очаг травмы головного мозга вживляли электрод из стали диаметром 0,5 мм на глубину ~ 3 мм. Электрод фиксировали протакрилом. Животных делили на 5 подгрупп. Через мозг мышей пропускали электрический ток при $I = 10$ мА и $F = 1,5; 8; 16; 24$ и 50 Гц. Длительность экспозиции 30 мин; количество сеансов 5. Далее животных выводили из эксперимента, извлекали головной мозг и исследовали вышеуказанными методами.

Результаты и обсуждение

Сравнение данных по количественному содержанию ионов магния, кальция, натрия, калия (см. таблицу) показало, что ионы кальция накапливаются в очаге повреждения головного мозга в больших концентрациях при кальциевой нагрузке (контроль III). В данной группе животных отмечалось повышение содержания ионов магния и натрия по сравнению с контролем I и II. При этом имело место снижение содержания ионов калия в контрольной группе III. Наличие стального электрода в очаге травмы (контроль IV) несколько меняет соотношение концентраций ионов, которое, за исключением кальция, оказывается близким к нетравмированным животным.

Среднее содержание ионов в мозговой ткани у животных экспериментальных групп

Группа животных	Среднее содержание ионов в мозговой ткани (мг %)			
	Mg ± 0,5	Ca ± 0,5	Na ± 0,7	K ± 0,7
Контроль I	4,16	5,36	14,29	15,74
Контроль II	3,64	5,93	14,63	17,05
Контроль III	5,58	6,65	16,71	15,43
Контроль IV	4,05	5,90	14,00	14,60
Опыт «М»	5,89	4,26	15,00	14,00
Опыт «Т»	7,89	3,73	16,10	11,78

Данные изменения свидетельствуют о повышении мембранной проницаемости для ионов кальция в травмированных нервных клетках и активации процессов эксайтотоксичности в очаге повреждения мозга, что может быть связано с инактивацией кальциевой АТФ-азы, в результате тканевой гипоксии в очаге повреждения. Возрастание концентрации ионов магния следует рассматривать как компенсаторный ответ на повышение проницаемости клеточных мембран для ионов кальция. Как известно [3], магний является естественным блокатором кальциевых каналов. Изменение концентраций ионов натрия и калия в очаге повреждения связано, по всей видимости, с нарушением целостности мембран клеток.

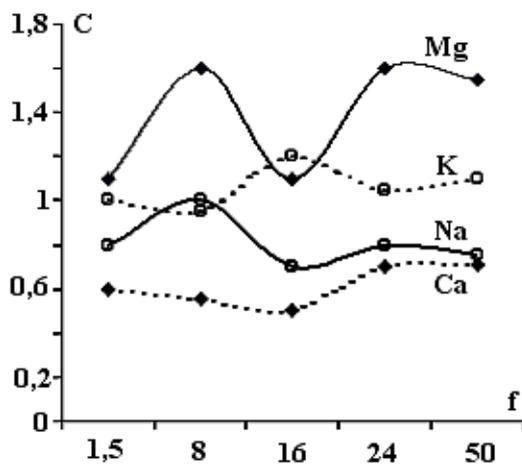
В опытных группах («М» и «Т») отмечено резкое снижение средних концентраций ионов кальция при одновременном увеличении ионов магния. Что касается натрия и калия, то в разных опытах они ведут себя по-разному (см. таблицу).

Для оценки степени накопления ионов в очагах ушиба головного мозга в зависимости от частоты действующего переменного магнитного поля и электрического тока нами использованы относительные единицы концентрации $C = C_{\text{опыт}}/C_{\text{контроль}}$. При этом если $C \sim 1$, эффект от воздействия физического фактора равен нулю; если $C < 1$, концентрация ионов ниже контрольной; если $C > 1$ – выше.

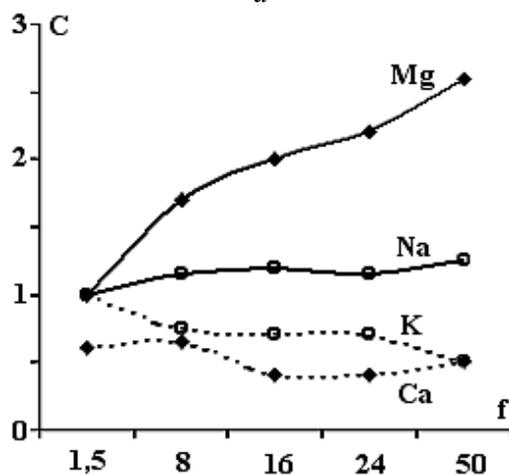
На рисунке, *a* приведены зависимости концентраций ионов в очаге травмы от частоты f переменного магнитного поля. Концентрация ионов кальция при всех использованных значениях f ниже контрольной ($C < 1$), причем максимум эффективности ПемП как кальцийблокирующего агента приходится на частоты 8 и 16 Гц. Концентрация ионов магния при действии H_A превышает контрольные значения и максимальна при $f = 8; 24$ и 50 Гц. Содержание ионов натрия в опытной группе в целом ниже, чем в контрольной, а ионов калия – выше.

Таким образом, результатом действия переменных низкочастотных магнитных полей является рост концентрации ионов магния и калия и снижение содержания ионов кальция и натрия в очагах экспериментальной травмы головного мозга.

Зависимость концентрации ионов в очаге травмы от частоты f переменного электрического тока I_A (рисунок, *б*), проходящего через головной мозг, несколько отличается от частотной зависимости для магнитного поля. В этом опыте при общем снижении концентрации кальция максимум эффективности I_A как блокатора этого иона приходится на частоты 16 и 24 Гц. Концентрация ионов магния при $f = 1,5$ Гц не изменяется, однако далее монотонно возрастает с увеличением частоты и достигает максимума при $f = 50$ Гц. Содержание ионов натрия в целом выше, чем в контроле, а ионов калия – ниже.



a



б

Зависимость изменения относительных концентраций C ионов в травмированной мозговой ткани у мышей от частоты f переменного магнитного поля (а) и электрического (б) тока.

Заключение

Приведенные экспериментальные результаты дают основания говорить о перспективности использования переменных магнитных полей и электрических токов в клинической нейротравматологии. Испытанные в лабораторных условиях физические методы блокирования кальция выгодно отличаются от известных, основанных на химических кальцийблокирующих препаратах как, например, нимодипина, нифедипина, верапамила и др. Использование химических антагонистов кальция в клинике сопряжено с рядом трудностей, часто абсолютно непреодолимых [23].

Для окончательного обоснования необходимости проведения клинических испытаний целесообразно продолжение исследований в данном направлении.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга. М., 2001.
2. Костюк П.Г. Кальций и клеточная возбудимость. М., 1986.
3. Кардаш А. М., Энглези А. П., Дроботько В. Ф. Влияние магнитного поля на уменьшение травматического отека и набухание головного мозга // Архив клинической и экспериментальной медицины. 1996. Т. 5. №1. С. 58–63.
4. Черний В. И., Кардаш А. М., Городник Г. А., Дроботько В. Ф. Диагностика и лечение отека и набухания головного мозга. Киев, 1997. С. 7–40.
5. Энглези А.П. Влияние переменного магнитного поля на травматический отек и набухание головного мозга. Автореф. ... дис. канд. мед. наук. Киев, 1997.
6. Леднев В.В. Биоэффекты слабых комбинированных постоянных и переменных магнитных полей // Биофизика. 1996. Т. 41. Вып. 1. С. 224–231.
6. Пирузян Л.А., Лазарев А.В., и др. Воздействие низкочастотного магнитного поля на натриевый ток миокардиальных клеток // Доклады АН СССР. 1984. Т. 274. № 4. С. 952–956.
7. Дубров А.П. Геомагнитное поле и жизнь. Л., 1974.
8. Дубров А.П. Геофизические факторы и динамика выделения органических веществ корнями растений // Проблемы космической биологии. Т. 18. М., 1973. С. 67–96.
9. Казначеев В.П., Михайлова Л.П. и др. Влияние ослабленного геомагнитного поля на чувствительность клеточной культуры к ядам (двухлористой ртути) // Проблемы космической биологии. Т. 65. Л., 1989. С. 196–199.
10. Бреслер С.Е. Электрические и магнитные свойства биологических мембран // Природа. 1977. № 3. С. 68–75.
11. Бреслер С.Е., Бреслер В.М. и др. Влияние сильных магнитных полей на активный транспорт в хориоидном сплетении // Доклады АН СССР. 1978. Т. 242. № 2. С. 465–468.
12. Жуков Б.Н., Волобуев А.Н. и др. Медико-биологическое обоснование применения постоянного магнитного поля // Медико-биологическое обоснование применения магнитных полей в практике здравоохранения. Л., 1988. С. 34–39.
13. Маркевич М.И., Сельков Е.Е. Математическая модель резонансного усиления внешних воздействий на мембрану // Биофизика. 1986. Т. 31. Вып. 4. С. 662–666.
14. Потапенко Т.П., Кучко А.Н., Хиженков П.К. К механизму влияния переменных магнитных полей на ионную проницаемость клеточных мембран // Вісник Донецького університету. 2000. Вип. 1. С. 66–71.
15. Дунаев В.В., Карпенко А.В. Проницаемость сульфацила натрия через мембранные структуры различной степени организации в условиях влияния на организм низкочастотного магнитного поля // Фармакология и токсикология. 1983. Т. 46. № 1. С. 62–65.
16. Хиженков П.К., Нецветов М.В., Соболев В.В., Соболев Д.В. Влияние переменного магнитного поля на течение гнойного раневого процесса и водно-солевой обмен у мышей // Электронная обработка материалов. 2001. № 4. С. 83–86.
17. Хиженков П.К., Норейко Б.В. и др. Жизнедеятельность организмов в инфранизкочастотных магнитных полях. 4. Микобактерии туберкулеза // Магнитная гидродинамика. 1995. Т. 31. №1. С. 93–96.
18. Хиженков П.К., Зинкович И.И., Нецветов М.В. Магнитоактивность клеток крови человека и животных // Электронная обработка материалов. 2001. № 1. С. 50–56.
19. Хиженков П.К., Александрова Н.В., Нецветов М.В. Проницаемость мембран клеток семян растений для ионов тяжелых металлов в условиях действия переменных магнитных полей // Доповіді національної академії наук України. 1999. № 8. С. 166–169.
20. Хиженков П.К., Нецветов М.В., Кисляк Т.П., Добрица Н.В. Изменение проницаемости клеток семян ячменя для отрицательных органических ионов в зависимости от частоты действующего переменного поля // Доповіді національної академії наук України. 2001. № 3. С. 179–180.
21. Хиженков П.К., Добрица Н.В., Нецветов М.В., Дрибан В.М. Влияние низко- и сверхнизкочастотных переменных магнитных полей на ионную проницаемость клеточных мембран // Доповіді національної академії наук України. 2001. № 4. С. 161–164.

22. Хиженков П.К., Кузик А.В., Нецветов М.В., Добрица Н.В., Дрибан В.М. Ионофоретическая активность низко- и сверхнизкочастотных электрических токов // Доповіді національної академії наук України. 2001. № 5. С. 165–167.

23. Черний В.И., Назаренко В.Г. и др. Нимодипин в лечении мозгового инсульта (методические рекомендации). Донецк, 2001.

Поступила 25.03.2002

Summary

The aim of this work is the blocking effect (for Ca^{++}) of an alternative magnetic fields (H_A) and electric current (I_A). In experiments on mouses utilising histological methods and the method of a spectrophotometry is shown, that the Ca^{++} at a calcium diet is stored in staggered hemisphere of mice. At application of H_A and (or) I_A of different frequency lowering accumulation of Ca and pinching of Mg. Optimal frequencies of magnetic fields are 8, 16, 24, 50 Hz of H_A and 16, 24, 50 Hz of I_A .

B.S. Philipp, O.V. Yaltysenko

HEMOGLOBINE OXYGENATION PROCESS IN AN EXTERNAL ELECTROMAGNETIC FIELD

*Institute of Applied Physics, Academy of Sciences of Moldova,
Academic str. 5, MD-2028, Kishinev, Republic of Moldova*

The influence of the external laser electromagnetic field on the hemoglobine molecule is for a great theoretical interest and seems to be important for the application [1–4]. It is known, that hemoglobine (hem) molecule in nonoxidized (*dh*) form has nonzero dipole moment, so called deoxy hem (*dh*). This dipole moment appears due to the pseudo Jahn-Teller' effect [5]. As distinguished from the oxy-form (*oh*) in the *dh*-form, the existence of the constant electronic dipole moment leads to an active interaction between *dh*-molecule with the external electromagnetic field.

The interaction of the electronic dipole moment of the *dh*-molecule with the electric component of the laser field provides new ways for the oxidation process in hemoglobine. At the absence of the electromagnetic field the hemoglobine oxidation process is described by the known Perutz' model [6] (the *dh*-form differs from the *oh*-form because the iron ion goes out from plane of the porphyrine's ring). It is important to remark that the vibration A_{2u} is connected with the motion iron ion and mix a_{1g} and a_{2u} electronic molecular orbitals of D_{4h} group symmetry (the energy gap is about 1 eV for *dh*-form, and 3 eV for *oh*-form).

For deoxy hemoglobine the pseudo Jahn-Teller' effect leads to the narrowing of upper adiabatic potential and softening the lower adiabatic potential, so that the harmonic approximation is broken and two minima on lower sheet of the adiabatic surface appears (see fig.1).

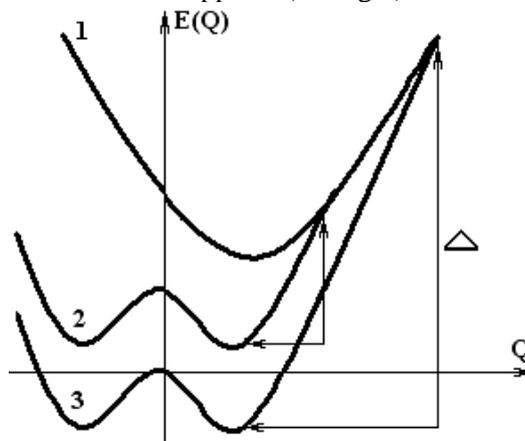


Fig. 1. Adiabatic potentials oxy- and deoxy-form hemoglobine (curve 1 and 3), 2 – foton satellite curve 3.