

M. Melnyk, PhD stud., V. Martynuk, DPhil, O. Artemenko, PhD
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv

EXPOSURE OF ELECTROMAGNETIC FIELD WITH FREQUENCIES OF 8 AND 50 HZ ON DYNAMIK OF THE INTRACELLULAR CALCIUM CONCENTRATION IN SMOOTH MUSCLE CELLS

The intracellular free calcium concentration in gastric smooth muscle cells of rats has been researched. It has been demonstrated that intracellular calcium concentration in cell suspension increases with time in control as well as under electromagnetic exposure, but under electromagnetic exposure these changes are more essential. At the same time exposure of electromagnetic field with frequency of 50 Hz and induction of 25 μ T results in more essential changes in comparison with exposure of electromagnetic field with frequency of 8 Hz.

Key words: calcium ions, electromagnetic field, intracellular calcium.

УДК: 577.3

Д. Ноздренко, канд. біол. наук
КНУ імені Тараса Шевченка, Київ

ЗАХИСНИЙ ЕФЕКТ ФУЛЛЕРЕНУ C_{60} НА РОЗВИТОК ПРОЦЕСІВ ВТОМИ В MUSCLE SOLEUS ЩУРА ПІСЛЯ ШТУЧНОЇ ІШЕМІЗАЦІЇ

Проведено дослідження впливу C_{60} FAS при дозі 1мг/кг на ішемічно пошкоджений м'яз т. soleus щура. Досліди проводили після 5 денної часткової ішемізації. Скорочення м'яза реєстрували при внутрішньовенному та внутрішньом'язовому введенні препарату. Показано виражений захисний ефект фуллерена на скоротливу функцію м'яза. Використання фуллерена C_{60} зменшувало розвиток процесів втоми на 20-35% при внутрішньовенному введенні і 15% при внутрішньом'язовому введенні препарату.

Ключові слова: м'яз, ішемія, динаміка скорочення, силова відповідь, фуллерен C_{60} .

Вступ. Посттравматичне ішемічне ушкодження м'яза відбувається внаслідок місцевого гіпертензивного ішемічного синдрому [1]. Ішемічні травми скелетних м'язів після гострої артеріальної оклюзії у багатьох випадках є причиною важких патологій і смерті [2]. Також ішемічні травми скелетних м'язів, є одним з головних факторів розвитку патологій і після хірургічних процедур [3]. Швидке виявлення рівня ішемічної травми має вирішальне значення для подальшої терапії, проте нині немає точних діагностичних тестів, доступних для досягнення цієї мети [4]. Процеси ішемізації знижують силу скорочення м'яза до 40% після 1-ої години ішемії і до 90% після 2-ої год. Відновлення силової продуктивності м'яза спостерігали тільки після 2-го тижня після ішемії [5]. Патологічні процеси після ішемізації тривають в м'язі декілька днів з прогресуючою динамікою. Процеси регенерації починаються і недостатня вивченість їх роботи в умовах ішемічного ушкодження нерідко не дозволяють пояснити багато чисельні дані експериментальних досліджень. Фіксований нами в ході експерименту розвиток процесів втоми в ішемізованому м'язі дає можливість встановити важливі співвідношення між реальними макроскопічними параметрами стану ішемізованого м'язу та рівнем еферентної активності, що поступає до нього.

В роботі [6] показано що внутрішньовенне введення C_{60} (FC4S) за 15 хвилин до оклюзії в дозах 10 і 100 мг/кг, значно знижує рівень фокальної церебральної ішемії, при цьому не змінюючи рН і газовий склад крові, частоту серцевих скорочень та артеріальний тиск, і таким чином розчин фуллеренів може використовуватись як нейропротекторний агент при ішемічних ушкодженнях тканин. Літературні дані наводять безліч доказів того, що вільні радикали, а саме супероксид і гідроксид радикал є основним патогенним чинником в процесі ішемічних ушкоджень тканин. Вони спричиняють ініціацію перекисного окиснення ліпідів, пряме інгібування мітохондріальних ферментів дихального ланцюга, інактивацію гліцеральдегід-3-фосфат-дегідро-

генази, інгібують АТФ-азну активність, інактивують мембранні натрієві канали і т.д [7].

В роботах пов'язаних з пошуком препаратів які здатні впливати на патологічні процеси після процесів ішемізації показано, що аскорбінова кислота є визнаним антиоксидантом і може мати позитивний ефект для зменшення ушкоджень отриманих в результаті ішемії [8]. Також передбачається, що фуллерени можна розглядати як потужний поглинач вільних радикалів утворення яких відбувається при ішемічній травмі тонкої кишки [9]. Показано що фуллерени також можуть зменшувати ішемічні ушкодження легенів [10]. Усе це дало нам основу для дослідження впливу C_{60} FAS на динаміку протікання процесів втоми на фоні розвитку ішемічних патологій які виникають в м'язі упродовж 5 днів після ішемізації.

Методи та матеріали. Експерименти проводили на щурах-самцях лінії Wistar віком 3 місяці вагою 170 ± 5 г. C_{60} FAS у дозі 1 мг/кг вводили двома способами: внутрішньовенне і внутрішньом'язово за 1 год до початку експерименту. Анестезію тварин здійснювали внутрішньочеревним введенням нембуталу (40 мг/кг). Для ішемізації м'язів лігатурами перетягували гілку стегнової артерії тварини, яка забезпечує кровопостачання досліджуваного м'язу. Підготовка експерименту також включала канюлювання (a. carotis communis sinistra) для введення фармпрепаратів і вимірювання тиску, трахеотомію і ламінектомію на рівні поперекового відділу спинного мозку. Камбаловидний м'яз щура (muscle soleus) звільняли від оточуючих тканин. У дистальній частині уперек перерізували його сухожильну частину. Для модульованої стимуляції еферентів у сегментах L7-S1 перерізували вентральні корінці в місцях їхнього виходу зі спинного мозку.

Зміну сили скорочення м'язу реєстрували за допомогою надчутливих тензометричних датчиків, які працюють на основі вимірювання зміни опору масиву одностінних вуглецевих нанотрубок (SWCNTs) за їх деформації. SWCNTs були розташовані у задній частині мікропіпетки, а до передньої її частини приєднували сухожилок досліджуваного м'язу. Для формування стимулюючих електричних сигналів використовували програмовані генератори сигналів спеціальної форми.

Силу скорочення м'язу вимірювали на 5 добу після його ішемізації. Дослідження динамічних властивостей м'язового скорочення проводили за умов активації м'я-

зу з використанням методу модульованої стимуляції еферентів. П'ять філаментів перерізаних вентральних корінців закріплювали на стимулюючих електродах і за допомогою спеціального пристрою здійснювали циклічний розподіл послідовності електричних стимулюючих сигналів по філаментах. Розподілена стимуляція дозволила одержати монотонне та однорідне скорочення м'язу на невисоких частотах стимуляції окремих філаментів. Стимуляцію еферентів у сегментах L7-S1 здійснювали електричними імпульсами тривалістю 2 мс, сформованими за допомогою генератора імпульсів, керованим АЦП через платинові електроди. Характеристики стимулюючого сигналу задавали програмно і передавали з комплексу АЦП-ЦАП на генератор. Контроль зовнішнього навантаження на м'яз здійснювали за допомогою системи механостимуляторів.

Одержані експериментальні криві відображають зміну сили скорочення у відсотках від контрольних зна-

чень непошкодженого м'язу, які приймали за 100%. Статистичну обробку результатів вимірювання проводили методами варіаційної статистики за допомогою програмного забезпечення Origin 8.0.

Результати та їх обговорення. Важливим параметром м'язової динаміки при вивченні патогенезу ішемічного ушкодження м'язової тканини є кінетика розвитку м'язової втоми, яка викликається безрелаксацийними пулами стимуляції. В нормальних умовах скорочення, пов'язані зі втомою, здійснюють зміни в динаміці скоротливого процесу muscle soleus які проявляються тільки після 5-6 годинної стимуляції. В умовах ішемізації (рис. 1) вже після 30-40 хвилин безрелаксацийної стимуляції muscle soleus не здатний відповідати генерацією сили на стимуляційний сигнал. Лінійне зниження сили до продуктивності ішемізованого м'язу проявлялось протягом всього часу експерименту.

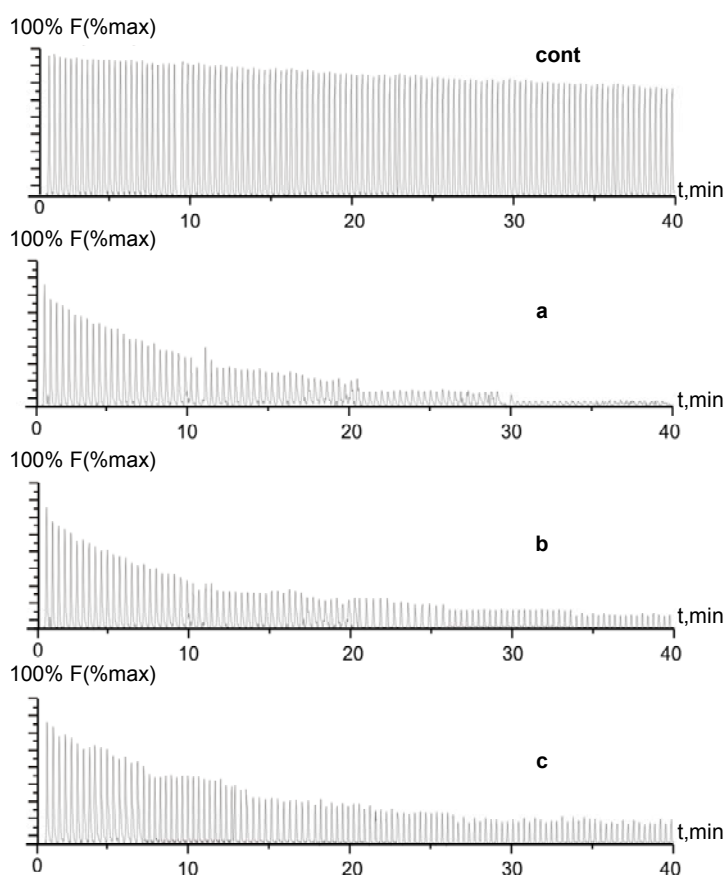


Рис. 1. Криві генерації сили ішемізованого muscle soleus (5 доба після ішемізації): а) без впливу; б) внутрішньом'язове введення C_{60} 1мг/кг; в) введення C_{60} втрутливо (доза 1 мг/кг)

Введення фуллерена C_{60} виявило захисний ефект на розвиток м'язової втоми на рівні 15% при внутрішньом'язовому і 20-23% при внутрішньовенному введенні (рис. 2). Слід відмінити що при введенні препарату muscle soleus продовжував генерувати сили відповіді на пули стимуляції на рівні 20-25% від контролю при внутрішньовенному і 10-15% при внутрішньом'язовому введенні упродовж 2 годин, не знижуючи досягнутого рівня сили відповіді. При внутрішньовенному введенні C_{60} на 25-30 хвилині дослідження зниження сили до продуктивності muscle soleus зупинялась і трималась на досягнутому рівні, упродовж 2 годин безрелаксацийної стимуляції.

Ці ефекти можуть бути пов'язані з тим, що, 2 годинна ішемія камбаловидного м'язу істотно знижує концентрацію АТФ, одночасно з значним збільшенням рівня лактату. При 3 годинній ішемії виснаження запасів АТФ складає близько 95%, а глікоген вичерпаний на 88% [11]. Ці результати підтверджують гіпотезу, що велика кількість високоенергетичних фосфатів витрачається пошкодженою м'язовою клітиною на підтримку гомеостазу, в результаті порушення обміну речовин і призводить тим самим до великого рівня втомлюваності м'язу. Тому захисна дія C_{60} FAS на процеси втоми ішемічного пошкодженого м'язу швидше за все пов'язана з його антиоксидантними властивостями.

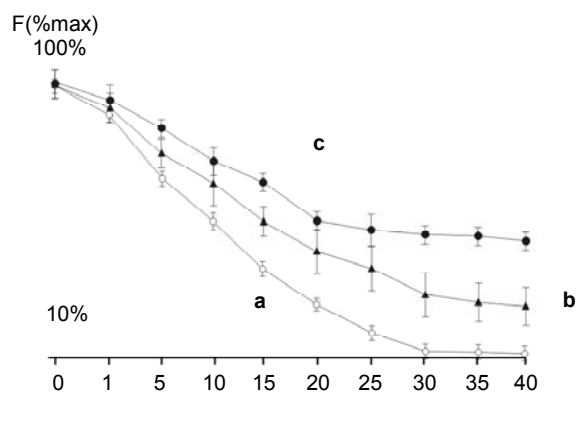


Рис. 2. Зміна сили ішемізованого м'язу (muscle soleus) при втомі, викликаний стимуляційними пулами без релаксації (5 доба після ішемізації): (a) – ішемія без впливу препарату (контроль); (b) – внутрішньом'язове введення C₆₀FAS (1 мг/кг); (c) внутрішньовенне введення C₆₀FAS – (1 мг/кг)

Таким чином розвиток медичних нанотехнологій із застосуванням C₆₀FAS, з урахуванням їх виражених антиоксидантних властивостей, і відсутність даних про гострі і хронічні інтоксикації ними – усе це відкриває нові можливості для лікування і профілактики ішемічних патологій. Одержані результати значно поглиблюють та розширюють уявлення про біофізичні механізми функціонування скелетних м'язів при дії наночастинок. Встановлена в експериментах протекторна дія C₆₀ фулеренів на динамічні параметри скорочення ішемічно пошкодженої поперечно-посмугованої м'язової тканини може скласти основу для розробки рекомендацій щодо лікування зазначеної патології скелетної мускулатури.

Список використаних джерел

1. Murdock M, Murdoch MM. Compartment syndrome: a review of the literature. Clin Podiatr Med Surg. 2012 Apr;29(2):301-10.
2. Effects of ascorbic Acid, alpha-tocopherol and allopurinol on ischemia-reperfusion injury in rabbit skeletal muscle: an experimental study. Erkut B, Özyazıcıoğlu A, Karapolat BS, Koçoğulları CU, Keles S, Ateş A, Gundogdu C, Kocak H. Drug Target Insights. 2007;2:249-58. 2007 Nov 2.
3. The role of mast cells and fibre type in ischaemia reperfusion injury of murine skeletal muscles. Bortolotto SK, Morrison WA, Messina A. J Inflamm (Lond). 2004 Sep 27;1(1):2.

4. Muscle fiber viability, a novel method for the fast detection of ischemic muscle injury in rats. Turóczy Z, Arányi P, Lukáts Á, Garbaisz D, Lotz G, Harsányi L, Szijártó A. PLoS One. 2014 Jan 13;9(1).

5. The functional and morphological damage of ischemic reperfused skeletal muscle. Rácz IB, Illyés G, Sarkadi L, Hamar J. Eur Surg Res. 1997;29(4):254-63.

6. Neuroprotective effect of hexasulfobutylated C60 on rats subjected to focal cerebral ischemia. Huang SS, Tsai SK, Chih CL, Chiang LY, Hsieh HM, Teng CM, Tsai MC. Free Radic Biol Med. 2001 Mar 15;30(6):643-9.

7. Antioxidant therapy: a new pharmacological approach in shock, inflammation, and ischemia/reperfusion injury. Cuzzocrea S, Riley DP, Caputi AP, Salvemini D. Pharmacol Rev 2001; 53:135-159.

8. Effects of ascorbic Acid, alpha-tocopherol and allopurinol on ischemia-reperfusion injury in rabbit skeletal muscle: an experimental study. Erkut B, Özyazıcıoğlu A, Karapolat BS, Koçoğulları CU, Keles S, Ateş A, Gundogdu C, Kocak H. Drug Target Insights. 2007;2:249-58. 2007 Nov 2.

9. Free radical scavenging activity of fullerene on the ischemia-reperfusion intestine in dogs. Lai HS, Chen WJ, Chiang LY. World J Surg. 2000 Apr;24(4):450-4.

10. Fullerene derivative attenuates ischemia-reperfusion-induced lung injury. Lai YL, Murugan P, Hwang KC. Life Sci. 2003 Jan 31;72(11):1271-8.

11. Metabolic and contractile responses of fast and slow twitch rat skeletal muscles to ischemia and reperfusion. Carvalho AJ, McKee NH, Green HJ. Plast Reconstr Surg. 1997 Jan;99(1):163-71.

Надійшла до редколегії 03.07.14

Д. Ноздренко, канд. біол. наук
КНУ імені Тараса Шевченка, Київ

ЗАЩИТНЫЙ ЭФФЕКТ ФУЛЛЕРЕНА C₆₀ НА РАЗВИТИЕ ПРОЦЕССОВ УСТАЛОСТИ В MUSCLE SOLEUS КРЫСЫ ПОСЛЕ ИСКУССТВЕННОЙ ИШЕМИЗАЦИИ

Проведено исследование влияния C₆₀FAS при дозе 1мг/кг на ишемически поврежденную мышцу m. soleus крысы. Опыты проводили после 5 дневной частичной ишемизации. Сокращения мышцы регистрировали при внутривенном и внутримышечном введении препарата. Показан выраженный защитный эффект фуллерена на сократительную функцию мышцы. Использование фуллерена C₆₀ уменьшало развитие процессов усталости на 20-35% при внутривенном введении и 15% при внутримышечном введении препарата.

Ключевые слова: мышца, ишемия, динамика сокращения, силовой ответ, фуллерен C₆₀.

D. Nozdrenko, PhD
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv

PROTECTIVE EFFECT OF FULLERENES C₆₀ ON MUSCLE SOLEUS DEVELOPMENT PROCESS AFTER ARTIFICIAL ISCHEMIA

The effect of C₆₀FAS (dose 1mg/kg) on ischemized soleus muscle of rat was investigated. Experiments were carried out after 5 day partial ischemia. Muscle contraction was recorded in different animals after intravenous and intramuscular administration of the drug. Results demonstrate evident protective effect of fullerene on function of ischemized muscle. C₆₀ helped to preserve muscle endurance at the level 15% and 20-23% higher refer to control after intravenous and intramuscular infusion accordingly.

Keywords: muscle, ischemia, contraction dynamics, power answer, fullerenes C₆₀.