

WPLYW MAGNETOSTYMULACYJNEGO WOLNOZMIENNEGO POLA NA KREW *IN VITRO*

Dorota Duda¹, Aleksander Sieroń²

¹Katedra i Zakład Biofizyki Lekarskiej Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach,
ul. Medyków 18, 40-752 Katowice

²Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych i Medycyny Fizykalnej, Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach,
ul. Batorego 15, 41-902 Bytom

Streszczenie

Zbadano wpływ słabego wolnozmiennego pola magnetycznego stosowanego w magnetostymulacji na aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) w krwinkach czerwonych oraz na aktywność ceruloplazminy w surowicy krwi. Doświadczenie przeprowadzono na próbkach pełnej krwi ludzkiej i surowicy krwi pochodzącej od 12 zdrowych mężczyzn. Pełną krew i surowicę krwi, pochodzącą od tej samej osoby, rozdzielono na trzy próbki: jedną eksponowano na pole o indukcji maksymalnej 270 μT , drugą na 100 μT , trzecia nie była eksponowana (próba kontrolna). W próbkach krwinek czerwonych otrzymano zmniejszoną aktywność dysmutazy ponadtlenkowej po ekspozycji krwi pełnej na pole magnetostymulacyjne w porównaniu z kontrolą ($p < 0,05$). Otrzymana zmiana aktywności SOD może być wyjaśniona wpływem pola magnetycznego na stany spinowe wolnych rodników. W próbkach eksponowanych na pole magnetyczne zaobserwowano wzrost aktywności ceruloplazminy w surowicy krwi ($p < 0,05$), w porównaniu z wynikami grupy kontrolnej. Podwyższoną aktywność ceruloplazminy w surowicy krwi można tłumaczyć oddziaływaniem na nieskompensowane spiny magnetyczne paramagnetycznych jonów miedzi wchodzących w skład enzymu. Aktywności enzymów w próbkach poddanych działaniu pola o dwu różnych wartościach: 270 μT oraz 100 μT nie różniły się istotnie między sobą.

Abstract

Influence of magnetostimulation low frequency field on blood *in vitro*

The influence of the weak frequency magnetic field used in magnetostimulation on the activity of the superoxide dismutase (SOD) in the red cells of blood and the activity of the ceruloplasmin of the serum blood have been studied. The experiments were made on the samples of the full human blood and blood serum obtained from 12 healthy males – blood donors. The full blood and blood serums from the same donor were divided into three samples. One sample was exposed to the magnetic field with peak value 270 μT , second sample was exposed to the field of 100 μT . The third sample was not exposed and was used as a control. In samples of the red blood cells a statistically significant ($p < 0.05$) reduction of the superoxide dismutase (SOD) activity was observed after the exposure to the magnetic field compared with the control sample. The lowered superoxide dismutase (SOD) activity may indicate the reduction of the creation of the free radicals under the influence of magnetic field. Increased ceruloplasmine activity in the blood serum was observed ($p < 0.05$) compared with the results for the control group. The magnetic field acting on the uncompensated magnetic spins of the copper ion included in the enzyme may trigger a reaction with the participation of ceruloplasmine.

Słowa kluczowe: magnetostymulacja, dysmutaza ponadtlenkowa (SOD), ceruloplazmina, krew

Key words: magnetostimulation, superoxide dismutase (SOD), ceruloplasmin, blood

Wpłynęło: 02.08.2003

1. Wstęp

Wyniki licznych eksperymentów i obserwacji klinicznych dały podstawy do coraz szerszego stosowania pól

magnetycznych w medycynie. Pozytywne rezultaty magnetoterapii, prezentowane w wielu publikacjach, uzyskuje się stosując wolnozmiennne pola magnetyczne

[1–5]. Dotychczasowe wyniki badań nie pozwalają jeszcze na pełne wyjaśnienie mechanizmów niektórych efektów działania pola magnetycznego. Wśród różnorodnych oddziaływań na układy biologiczne ważny jest wpływ pola magnetycznego na aktywność enzymów komórkowych, które są markerami sygnałów błonowych. Przeprowadzono liczne doświadczenia *in vivo* i *in vitro* nad wpływem pól magnetycznych na krew i enzymy [6–9].

Obserwowane skutki biologiczne są bardzo różnorodne. mogą być silniejsze dla słabych pól i na odwrót, niektóre zaś są proporcjonalne do indukcji lub od jej wartości nie zależą. Pojawiają się również doniesienia zarówno o stabilizującym działaniu pola magnetycznego na powstawanie wolnych rodników, jak i podające w wątpliwość wpływ pola. Podatność ustrojów żywych na pole magnetyczne jest różna [10, 11].

Z punktu widzenia możliwości oddziaływania pola magnetycznego z układami biologicznymi interesujące wydają się cząsteczki paramagnetyczne, którymi są wolne rodniki oraz enzymy zawierające jony metali.

Celem badania było uzyskanie odpowiedzi na pytanie, czy słabe wolnozmiennne pole magnetyczne stosowane w magnetostymulacji może zmieniać aktywność dysmutazy ponadtlenkowej i ceruloplazminy, molekuł o właściwościach paramagnetycznych.

2. Material i metody

Badania dotyczyły aktywności dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) w krwinkach czerwonych i aktywności ceruloplazminy w surowicy krwi. Doświadczenie przeprowadzono na próbkach pełnej krwi ludzkiej i surowicy krwi pochodzącej od 12 zdrowych mężczyzn. Krew i surowica krwi pochodziła z Regionalnego Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Katowicach.

Próbki pełnej krwi przeznaczone do pomiaru aktywności dysmutazy ponadtlenkowej pobrano z użyciem antykoagulantu EDTA. Do oznaczenia aktywności ceruloplazminy w surowicy pobrano krew żylną na skrzep, którą odwirowano. Stężenie hemoglobiny oznaczono metodą rutynową. Pełną krew i surowicę krwi, pochodzącą od tej samej osoby, rozdzielono na trzy próbki: jedna została poddana działaniu pola magnetycznego 270 μT , druga – 100 μT . Trzecia próbka nie była eksponowana i stanowiła kontrolę.

Źródłem słabego wolnozmiennnego pola magnetycznego były wykonane specjalnie do tych badań dwie

cewki, podłączone do sterownika aparatu „Viofor JPS” stosowanego w magnetostymulacji [1]. Wewnątrz każdej cewki, o wysokości 0,10 m i średnicy 0,20 m, w obszarze ekspozycji wytworzono słabe wolnozmiennne pole magnetyczne o wartościach szczytowych indukcji 270 mT oraz 100 mT i rozkładzie symetrycznym względem osi cewki i płaszczyzny prostopadłej do niej. Próbki eksponowano jednokrotnie w czasie 10 minut stosując program P2 i aplikację M1 aparatu „Viofor JPS”. Podczas ekspozycji i pomiarów temperatura pomieszczenia wynosiła $23 \pm 0,5^\circ\text{C}$.

Do oznaczenia aktywności dysmutazy ponadtlenkowej użyto zestaw odczynników RANDSOD firmy Randox. Otrzymanie frakcji krwinek czerwonych i hemolizatu, a następnie pomiar aktywności SOD przeprowadzono według procedury dla krwinek ludzkich, podanej przez producenta odczynników.

Oznaczenie aktywności ceruloplazminy w surowicy krwi oparte jest na reakcji, w której p-fenydenodiamina (PPD) utleniona zostaje przez ceruloplazminę przekształcając substrat w wolny rodnik, który reaguje z nadmiarem utlenionej PPD. Produkt tej reakcji o zabarwieniu fioletowym (zasada Bandrowskiego) jest podstawą kolorymetrycznego oznaczenia aktywności ceruloplazminy [12, 13].

Absorbancję prób mierzono za pomocą spektrofotometru „Marcel s330PRO” firmy Marcel w temperaturze 37°C przy długości fali 505 nm dla oznaczenia SOD, oraz 546 nm dla oznaczenia ceruloplazminy.

Analizę statystyczną wyników przeprowadzono testem t-Studenta dla grup powiązanych [14].

3. Wyniki

Średnie stężenie hemoglobiny w badanych próbkach wynosiło $0,151 \pm 0,006$ mg/ml. Średnią aktywność dysmutazy ponadtlenkowej w próbkach eksponowanych na stymulacyjne pole magnetyczne o indukcji szczytowej 270 μT i 100 μT oraz w próbkach nie eksponowanych przedstawiono w tab. 1. Aktywność obliczono w $U/g_{[Hb]}$.

W 10 próbkach krwinek czerwonych otrzymano statystycznie istotnie ($p < 0,05$) zmniejszoną aktywność enzymu SOD po ekspozycji krwi pełnej na pole magnetostymulacyjne w porównaniu z próbkami nie eksponowanymi. W dwu przypadkach aktywność SOD była inna w porównaniu z kontrolą.

Tab. 1. Aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) w 1 g hemoglobiny krwi ekspozowanej na wolnozmiennie pole magnetyczne o indukcji 270 μ T, 100 μ T oraz krwi nie ekspozowanej

Indukcja magnetyczna	270 μ T	100 μ T	kontrola
Aktywność enzymu [U/gHb]	1289	1288	1317
Odchylenie standardowe [U/gHb]	61	55	59
Poziom istotności	p < 0,05	p < 0,02	–

Tab. 2. Aktywność ceruloplazminy w U/ml surowicy krwi ekspozowanej na wolnozmiennie pole magnetyczne o indukcji 270 μ T, 100 μ T oraz surowicy krwi nie ekspozowanej.

Indukcja magnetyczna	270 μ T	100 μ T	kontrola
Aktywność enzymu [U/100ml]	0,920	0,895	0,827
Odchylenie standardowe [U/100ml]	0,150	0,127	0,111
Poziom istotności	p < 0,02	p < 0,001	–

Aktywności ceruloplazminy (Cp w U/ml) oznaczonej w surowicy ekspozowanej na wolnozmiennie pole stymulacyjne o indukcji szczytowej 270 μ T i 100 μ T oraz nie ekspozowanej ujęto w tabeli 2. W próbie ekspozowanej na pole magnetyczne obserwuje się wzrost aktywności ceruloplazminy w surowicy krwi w obu próbach ekspozowanych, ze statystyczną znamiennością p < 0,05, w porównaniu z wynikami grupy kontrolnej. Aktywności enzymu SOD oraz ceruloplazminy w próbkach poddanych działaniu pola magnetycznego dla zastosowanych dwu wartości indukcji magnetycznej 270 μ T i 100 μ T nie różniły się istotnie między sobą.

4. Dyskusja

Uzyskane wyniki wskazują, że w próbkach poddanych wpływowi słabego wolnozmiennego pola stosowanego w magnetostymulacji otrzymano inne aktywności badanych enzymów w porównaniu z próbkami niepoddanymi na ekspozycję pola. Uzyskane wyniki wskazują, że zastosowane pole magnetostymulacyjne może wpływać na aktywność badanych enzymów.

SOD jest enzymem, którego aktywność zależy od stopnia dyfuzji wolnych rodników. Obniżona aktywność dysmutazy ponadtlenkowej może świadczyć o zmniejszonym wytwarzaniu wolnych rodników w krwinkach ekspozowanych na pole magnetyczne. Podobne zmiany uzyskano po ekspozycji szczurów na pole magnetostymulacyjne. Otrzymane zmiany aktywności badanych enzymów tłumaczone są możliwym wpływem pola magnetycznego na stany spinowe wolnych rodników [15]. U szczurów po magnetostymulacji w krwinkach czerwonych zaobserwowano zmniejszenie

powstawania reaktywnych form tlenu, co korelowało z obniżoną aktywnością SOD [16].

W naszych badaniach w 2 przypadkach na 12 otrzymano aktywność SOD większą niż w próbkach pochodzących od pozostałych osób. Te dwa wyniki mogą świadczyć o różnej podatności organizmów na wpływ czynników zewnętrznych, a z obserwacji klinicznych wynika, że istnieje osobnicza zmienność wrażliwości pacjentów na magnetostymulację [2, 17].

W badaniach *in vitro* przeprowadzonych na fibroblastach ekspozowanych na zmienne (50 Hz) pole magnetyczne o indukcji 0, 02 T w czasie 2, 4, 8, 16, 32 i 64 minut otrzymano 47% spadek aktywności SOD tylko po ekspozycji od 2 do 16 minut [11]. W innych badaniach, w wątrobie i nerkach szczurów, ekspozowanych na takie samo zmienne pole magnetyczne, uzyskano podwyższenie aktywności dysmutazy ponadtlenkowej [8]. Istnieje jednak potrzeba rozróżniania oddziaływania pola magnetycznego na reakcje enzymatyczne *in vitro* i *in vivo*. Zjawiska są złożone i poszczególne reakcje enzymatyczne powinny być rozpatrywane indywidualnie.

Ceruloplazmina jest miedzioproteidem, który pełni ważną funkcję w procesie enzymatycznego utleniania F^{2+} do F^{3+} [18, 19]. Otrzymanie podwyższonej aktywności ceruloplazminy w surowicy krwi ekspozowanej na zmienne pole magnetyczne można tłumaczyć oddziaływaniem na nieskompensowane spiny magnetyczne paramagnetycznych jonów miedzi wchodzących w skład enzymu.

Obecnie wielu badaczy uważa, że interakcja słabego wolnozmiennego pola magnetycznego z układami bio-

logicznymi polega na aktywizacji enzymów wewnątrzkomórkowych, a słabe pole elektromagnetyczne moduluje właściwości chemiczne powierzchni komórki i umożliwia łączność między komórkami przez barierę membranową komórki. W badaniach *in vivo* zaobserwowano zaburzenie gospodarki elektrolitowej po ekspozycji zwierząt na pole magnetyczne. Efekt ten może być wywołany wpływem pola magnetycznego na aktywność enzymów błon biologicznych [20].

Od około 30 lat pojawiające się doniesienia potwierdzają hipotezę o nietermicznym oddziaływaniu pola niejonizującego. W magnetostymulacji stosuje się słabe pola magnetyczne. Badania wykazują, że mimo nikłego działania termicznego, pole elektromagnetyczne może wywierać istotny wpływ na funkcje organizmów.

Na podstawie rezultatów badań doświadczalnych i epidemiologicznych, sugeruje się, że chodzi o działania pola magnetycznego o charakterze „okienkowym”. Efekty biologiczne, tzw. okna efektów, pojawiają się tylko przy specyficznych kombinacjach częstotliwości i indukcji magnetycznej pola, w wielu przypadkach polaryzacji tego pola względem ziemskiego oraz czasu działania [21].

Otrzymane wyniki potwierdzają hipotezę o wpływie zmiennych pól magnetycznych na procesy w układach żywych z udziałem molekuł o właściwościach paramagnetycznych: wolnych rodników oraz metaloenzymów.

5. Wnioski

Zmienne pole magnetostymulacyjne o indukcji szczytowej 270 μT i 100 μT wpływa na zmniejszenie aktywności dysmutazy ponadtlenkowej w krwinkach czerwonych i zwiększenie aktywność ceruloplazminy w surowicy krwi.

Podziękowanie

Badania przeprowadzono w Katedrze Biofizyki Lekarskiej Śl.A.M. – temat statutowy: NN-4-172/00. Oznaczenie aktywności dysmutazy ponadtlenkowej i aktywności ceruloplazminy wykonano w Zakładzie Biochemii Doświadczalnej i Klinicznej Śl.A.M. przy współpracy dr Rozalii Grabowskiej-Bochenek.

Literatura

1. A. Sieroń, G. Cieślak, A. Kawczyk-Krupka, T.

Biniszkiwicz, A. Bilka-Urban, M. Adamek: *Zastosowanie pól magnetycznych w medycynie*. Wyd.II, a-medica press, Bielsko-Biała 2002.

2. A. Sieroń, K. Sieroń-Stołtny, T. Biniszkiwicz, A. Stanek, T. Stołtny, K. Biniszkiwicz: *Analiza skuteczności terapeutycznej magnetostymulacji systemem VIOFOR JPS w wybranych jednostkach chorobowych*. Acta Bio-Opt. Inf. Med., 7 (2001) 1–8.
3. A. Bryl, J. Paluszak: *Neuralgia nerwu trójdzielnego: leczenie za pomocą pola magnetycznego o niskiej indukcji. Opis przypadku*. Acta Bio-Opt. Inf. Med., 7 (2001) 15–16.
4. A. Miecznik, J. Czernicki, J. Krukowska: *Wpływ pola magnetycznego o różnej charakterystyce fizycznej na ciśnienie tętnicze krwi u chorych z zespołami bólowymi kręgosłupa i współistniejącą chorobą nadciśnieniową*. Acta Bio-Opt. Inf. Med., 7 (2001) 9–13.
5. A. Sieroń, M. Glinka: *Wpływ pól magnetycznych o zakresach terapeutycznych na proces gojenia się skóry i tkanek miękkich*. Chir. Pol., 4 (2002) 153–158.
6. G. Cieślak, A. Sieroń, B. Turczyński, M. Adamek, F. Jaskólski: *The influence of extremely low-frequency variable magnetic fields on rheologic and dielectric properties of blood and the water-electrolyte balance in experimental animals*. Bioelectrochemistry and Bioenergetics, 35 (1994) 29–32.
7. A. Bilka-Urban, M. Kubacka, A. Sieroń, A. Wiczowski, G. Cieślak, E. Birkner, B. Maciaszek-Łój: *Changes in enzymes activity in the blood and hepatic tissue homogenats of ovariectomised female rats after exposure to an ELF magnetic field*. P.J. Med. Phys. Engin., 7 (2001) 59–66.
8. B. Kula, A. Sobczak, R. Kuśka: *Effects of static and ELF magnetic fields on free-radical processes in rat liver and kidney*. Electro- and Magnetobiology, 19(1) (2000) 99–105.
9. J. Paluszak, P. Sosnowski, K. Mikrut: *Wpływ zmiennego pola magnetycznego na aktywność enzymów antyoksydacyjnych we krwi szczura*. Acta Bio-Opt. Inf. Med., 5 (1-2) (2001) 1–5.
10. M. Kubacka, G. Cieślak, A. Bilka-Urban, A. Mostowy, A. Sieroń: *Wpływ długotrwałej ekspozycji na wolnozmiennym polu magnetycznym na czynność tyrotropową przysadki mózgowej u samców szczu-*

- rów. Acta Bio-Opt. Inf. Med., 8 (2002) 161–167.
11. B. Kula, M. Dróżdż: *A study on magnetic field effects on fibroblast cultures. Part 2. The evaluation of the effects of static and extremely low frequency (ELF) magnetic fields on free-radical processes in fibroblast cultures.* Bioelectrochemistry Bioenergetics, 39 (1996) 27–30.
 12. *Ćwiczenia z biochemii.* L. Kłyszajko-Stefanowicz (red.), PWN, Warszawa 1999.
 13. *Diagnostyka laboratoryjna z elementami biochemii klinicznej.* A. Dembińska-Kieć i J.W. Naskalski (red.), Volumed, Wrocław 1998.
 14. J.A. Moczko, G.H. Bręborowicz, R. Tadeusiewicz: *Statystyka w badaniach medycznych.* Springer PWN, Warszawa 1998.
 15. M. Zmyślony, J. M. Jajte: *Udział wolnych rodników w mechanizmie biologicznego działania słabych stałych i sieciowych pól magnetycznych.* Med. Pr., 2 (1998) 177–186.
 16. P. Sosnowski, K. Mikrut, J. Paluszak, H. Krauss, J. Koźlik, F. Jaroszyk: *Aktywność enzymów antyoksydacyjnych we krwi szczurów poddanych długotrwałemu działaniu pola magnetycznego.* Baln. Pol. 41(1–2) (1999) 18–24.
 17. A. Sieroń, K. Sieroń-Stołtny, B. Mrugała-Przybyła: *Aktualne spojrzenie na stosowanie pól magnetycznych w medycynie.* Acta Bio-Opt. Inf. Med., 7 (2001) 147–148.
 18. S. Pawelski, S. Maj: *Normy i kliniczna interpretacja badań diagnostycznych w medycynie wewnętrznej.* PZWL, Warszawa 1987.
 19. R.K. Murray, D.K. Ganner, P.A. Mayes, V.W Rodwell: *Biochemia Harpera.* Wydawnictwo Lekarskie PWN, Warszawa 1995.
 20. A. Sieroń A., G. Cieślak, M. Kamiński, M. Teister, A. Laitl-Kobierska, P. Konieczny: *Odziaływanie zmiennego pola magnetycznego na aktywność wybranych enzymów błonowych i mitochondrialnych w hepatocytach szczurów.* Baln. Pol. 39(3–4) (1997) 124–130.
 21. W.R. Adey: *Biological effects of electromagnetic fields.* J. Cell Biochem., 51 (1993) 410–416.

