

AGNIESZKA RUSAK^{A-D}, ZBIGNIEW RYBAK^{A,D-F}

Czy magnetostymulacja może mieć wpływ na gojenie ran? Badania *in vitro*

Does Magnetic Stimulation Affect Wound Healing? *In vitro* Studies

Zakład Chirurgii Eksperymentalnej i Badania Biomateriałów, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Wrocław, Polska

A – koncepcja i projekt badania; B – gromadzenie i/lub zestawianie danych; C – analiza i interpretacja danych; D – napisanie artykułu; E – krytyczne zrecenzowanie artykułu; F – zatwierdzenie ostatecznej wersji artykułu; G – inne

Streszczenie

Wprowadzenie. Zmienne pole magnetyczne o niskiej częstotliwości (200–300 Hz) jest jedną z metod fizykalnych stosowanych w łagodzeniu bólu, regeneracji tkanek kostnych i miękkich. W literaturze medycznej można znaleźć opisy przypadków, które wykazują korzystne działanie magnetostymulacji w gojeniu ran. Brakuje jednak badań, które mogłyby wyjaśnić mechanizm działania magnetostymulacji w tym obszarze. Dane literaturowe wykazują, że pole magnetyczne ma wpływ na hodowlę *in vitro*. Reakcja komórek zależy od linii komórkowej, parametrów pola, czasu ekspozycji.

Cel pracy. W przeprowadzonych badaniach sprawdzono, czy zmienne pole magnetyczne o częstotliwości 180–195 Hz wpływa na żywotność komórek Balb 3T3.

Materiał i metody. Badania zostały wykonane na linii komórkowej mysich fibroblastów Balb 3T3, które poddawano wpływowi zmiennego pola magnetycznego. Do generowania pola wykorzystano aparat do magnetostymulacji Viofor JPS[®] System Classic (Med & Life). Komórki wysiano na płytki 96-dolkowe. Po 24 godzinach hodowlę poddawano magnetostymulacji. Do badań włączono 6 prób oraz 2 kontrole. Wybrano dwa generowane przez aparat programy: M1P2 i M2P2 oraz dwie intensywności 6 oraz 12. Próby 1, 2, 5 i 6 poddawano jednokrotnej magnetostymulacji przez kolejne dwa dni, próby 3 i 4 dwukrotnie co 1 godzinę, 3 razy dziennie. Eksperyment trwał 2 dni i był powtarzany 3–5 razy.

Wyniki. Oceny dokonano na podstawie kolorymetrycznego testu MTT. Test wykazał wpływ pola magnetycznego emitowanego przez aparat na żywotność komórek Balb 3T3. Trzy z sześciu wybranych programów powodowały zwiększenie żywotności komórek w stosunku do kontroli (którą przyjęto za 100%): 139%, 128%, 108%, w jednej próbie żywotność była mniejsza (92%) niż w grupie kontrolnej. Wyniki w tych grupach były istotne statystycznie ($p < 0,05$, test *t*-Student).

Wnioski. Zaobserwowano wpływ pola wytwarzanego przez aparat do magnetostymulacji Viofor JPS[®] System Classic (Med & Life) na żywotność komórek mysich fibroblastów Balb 3T3, co może potwierdzać korzystny wpływ magnetostymulacji jako metody fizykalnej wspomagającej gojenie ran przewlekłych (Polim. Med. 2013, 43, 3, 147–152).

Słowa kluczowe: magnetostymulacja, pole magnetyczne, rany przewlekłe, fibroblasty.

Abstract

Background. Variable magnetic field of low frequency (200–300 Hz) is one of physical methods used in reducing pain as well as regeneration of bone and soft tissue. In medical literature there are case reports about successful treatment of chronic wound healing with this method. However, there is a lack of research that could explain the mechanism of action of magnetic field in this area. Literature data show that magnetic fields have an influence on cells cultures *in vitro*. Cells reaction depends on cells line, field parameters and time of exposition.

Objective. In our study we checked if the magnetic field of 180–195 Hz frequency influences Balb 3T3 cells viability.

Material and Methods. This study was conducted on mouse fibroblast Balb 3T3 cells, and the influence of variable magnetic field on cells was checked. Magnetic field was generated by Viofor JPS[®] System Classic (Med&Life). Cells were seeded on 96-well plates. After 24 hours the cells culture was exposed on magnetic fields. Two controls and six groups was included in the study. Two programs generated by Viofor JPS[®] System Classic were chosen: M1P2 and M2P2, as well as two intensities

6 and 12. Groups 1, 2, 5 i 6 were exposed once within two days, groups 3 and 4 were exposed three times a day every hour within two days. Experiment lasted two days and was repeated 3–5 times.

Results. Experiment was evaluated with colorimetric MTT test. The test showed influence of magnetic field generated by Viofor JPS® System Classic on viability of Balb 3T3 cells. Three from six chosen programs resulted in the increase of viability, compare to control. The control was taken as 100%. In groups 139%, 128%, 108% and 92% of viability was noted. Results were statistically significant in four groups ($p < 0.05$, Student's *t* test).

Conclusions. The influence of magnetic fields generated by Viofor JPS® System Classic (Med&Life) on mouse fibroblast Balb 3T3 cells was noted. Results suggest potential beneficial effect of this physical method on chronic wound treatment (**Polim. Med.** 2013, 43, 3, 00–00).

Key words: magnetostimulation, magnetic fields, chronic wounds, fibroblasts.

Wpływ zmiennego pola magnetycznego o niskiej częstotliwości nieprzekraczającej 200–300 Hz na poprawę zdrowia pacjentów jest szeroko przedstawiany w literaturze medycznej [1, 2]. Zmienne pole elektromagnetyczne, jako metoda fizykalna, znajduje obecnie zwolenników stosowania w gojeniu ran (w tym także oparzeniowych). Oddziaływaniu pola przypisuje się wpływ na proliferację komórek, poprawę krążenia obwodowego (m.in. w owrzodzeniach goleni, angiopatii cukrzycowej), korzystne działanie w rehabilitacji, terapii chorób neurologicznych oraz w stomatologii w uśmierzaniu bólu czy regeneracji tkanki kostnej, w okulistyce w powikłaniach neurologicznych po urazach [1, 2].

Pole magnetyczne nie jest obojętne dla organizmów. Badania z podwójnie ślepą próbą wykazują, że pulsujące pole elektromagnetyczne (o maksymalnej indukcji 1,45 mT i częstotliwości 1 Hz – 1 MHz) zmniejszało próg bólu wywołany szokiem termicznym zdrowych ochotników [3].

Przeznaczszkowa stymulacja polem magnetycznym o częstotliwości 10 Hz wpływała terapeutycznie na aktywność mózgu u osób chorych na depresję [4]. Badania na modelu mysim C57BL/6 wykazały zwiększenie stresu oksydacyjnego w hipokampie i prądkowiu oraz pogorszenie pamięci (test labiryntu wodnego) pod wpływem ekspozycji na pole magnetyczne o niskich częstotliwościach (1 mT, 50 Hz) przez 4 godziny dziennie w ciągu 12 tygodni [5].

Opisywane są przypadki poprawy u pacjentów z ranami przewlekłymi pod wpływem magnetostymulacji. U 67-letniej pacjentki z owrzodzeniem goleni, u której stosowano magnetostymulację przez 8 miesięcy raz dziennie (aplikator Viofor JPS® Standard, Med & Life, 12 minut, program M2P2) zaobserwowano kompletne wygojenie rany: zanik wysięku, zmniejszenie bólu, naskórkowanie, angiogenezę [6]. Brakuje jednak klinicznych badań na większej grupie pacjentów, by można było jednoznacznie określić wpływ zmiennego pola magnetycznego na gojenie ran przewlekłych, takich jak owrzodzenia związane z niewydolnością żylną czy też towarzyszące zespołowi stopy cukrzycowej.

Wpływ pola magnetycznego na żywotność, proliferację oraz apoptozę komórek czy wewnątrzkomórkowe stężenie Ca^{2+} nie jest jednoznacznie określony i zależy od linii komórkowej, czasu ekspozycji, oraz parametrów

pola (częstotliwości i indukcji). Stałe pole magnetyczne (6 mT) powodowało istotne statystycznie zwiększenie apoptozy w stosunku do kontroli dla linii hepatocytów HepG2 (wzrost o 25%), komórek hybrydoma T 3 DO (wzrost o 3%), komórek tarczycy FTRL-5 (wzrost o 8%) po 24 godzinach ekspozycji. Ograniczenie apoptozy odnotowano natomiast dla linii pierwotnej ludzkich tymocytów (o 3%), brak różnicy w przypadku linii pierwotnej ludzkich limfocytów, w porównaniu do kontroli. W przypadku linii U937, HeLa, pierwotnej linii tymocytów ludzkich nie odnotowano istotnych statystycznie zmian. Ponadto wpływ pola wraz z czynnikami apoptotycznymi: cykloheksymidem, H_2O_2 , puromycyną, szokiem cieplnym, etopozydem także powodował zahamowanie apoptozy z wyjątkiem linii 3DO, dla której odnotowano istotne statystycznie zwiększenie apoptozy o 4% po kontakcie z cykloheksymidem [7]. W badaniach na ludzkiej linii śródbłonna HUVEC dowiedziono, że zmienne pole magnetyczne o niskiej częstotliwości (30 i 120 μ T) wpływało na zwiększenie proliferacji komórek po dwóch dniach stałej ekspozycji. Odnotowano również wpływ pola o częstotliwości 120 μ T na proliferację (wzrost o 40% po 2 dniach ekspozycji w porównaniu do kontroli) i zwiększenie koncentracji tlenu azotu o 40% po 3 dniach stałej ekspozycji w porównaniu do kontroli oraz brak zmian ekspresji dla VEGF. Po godzinie ekspozycji komórek na zmienne pole magnetyczne nie zaobserwowano zmian [8]. Pod wpływem zmiennego pola magnetycznego o niskiej częstotliwości (50 Hz, 1 mT) odnotowano istotną statystycznie zmianę ekspresji mRNA białka szoku termicznego Hsp 70 w komórkach pierwotnej linii świńskiego śródbłonna aorty (PAEC) po 4 godzinach ekspozycji, ale bez wpływu na poziom ekspresji białka [9]. Czterogodzinna ekspozycja komórek ludzkiego raka piersi MCF10A na pole magnetyczne niskiej częstotliwości (1 mT, 60 Hz) nie wpłynęła natomiast na wewnątrzkomórkowe stężenie wolnych rodników tlenowych (ROS), aktywność dysmutazy ponadtlenkowej i stężenie zredukowanego glutationu (GSH/GSSG) [10].

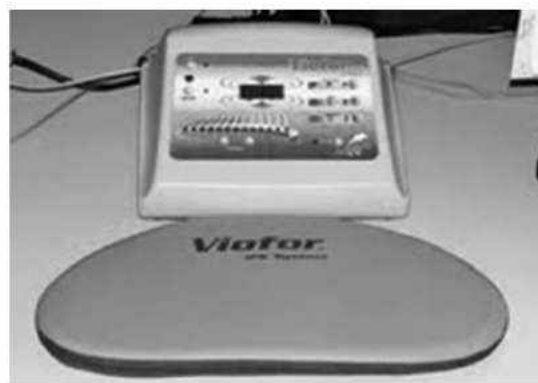
W badaniach własnych autorzy chcieli sprawdzić, czy czas ekspozycji oraz parametry pola zaprogramowane przez producenta aparatu Viofor JPS® System Classic (Med & Life) mają wpływ na żywotność fibroblastów mysich (Balb 3T3).

Aparaty służące do aplikacji zmiennego pola magnetycznego (magnetostymulacji) są dostępne także na polskim rynku i przystosowane do samodzielnego stosowania przez pacjenta w domu. Jednym z zalecanych przez producenta wskazań do magnetostymulacji są stany po urazach tkanek miękkich, oparzenia, odleżyny (działanie regeneracyjne). Niewątpliwą zaletą jest ich prosta obsługa, a terapia nie obciąża chorego dodatkowymi lekami.

Material i metody

Doświadczenie przeprowadzono na linii komórkowej Balb 3T3 (mysie fibroblasty), pasaż 15–28. Hodowlę prowadzono w medium DMEM (Lonza) z dodatkiem 1% L-glutaminy (Sigma), 10% FBS (Lonza), w sterylnych warunkach w inkubatorze Steri Cycle 381 (Thermo Scientific) w 37°C, w atmosferze 5% CO₂. Pasażowanie komórek przeprowadzono z użyciem 0,25% trypsyny (Sigma) oraz PBS (Lonza). Komórki zawieszono w 100 µl pełnego medium hodowlanego wysiewano na 30 dołkach płytek 96-dołkowych (Falcon), w liczbie 1 × 10⁵ komórek/ml (1 × 10⁴ komórek/dołek). Po 24 godzinach, kiedy komórki przykleiły się do podłoża, hodowlę poddawano magnetostymulacji z użyciem aparatu Viofor JPS[®] System Classic (Med & Life). W badaniach własnych wykorzystano aparat do magnetostymulacji Viofor JPS[®] System Classic (Med & Life), który może być stosowany przez pacjenta w domu, zgodnie z zaleceniami producenta (ryc. 1).

Komórki wysiane na płytce 96-dołkowej traktowano polem emitowanym przez 6 fabrycznie ustawionych w aparacie Viofor JPS[®] System Classic programów, które różniły się czasem emitowania pola oraz jego parametrami. W doświadczeniu wykorzystano mały apli-



Ryc. 1. Urządzenie do magnetostymulacji Viofor JPS[®] System Classic (Med & Life) (fot. Krzysia Fabiś)

Fig. 1. Equipment for magnetostimulation Viofor JPS[®] System Classic (Med & Life) (photo Krzysia Fabiś)

kator o wymiarach 30 × 50 cm, który wytwarza niejednorodne, zmienne pole magnetyczne.

Częstotliwości pola generowane przez aparat mieszczą się w przedziale 180–195 Hz, częstotliwości paczek impulsów w przedziale 12,5–29 Hz, grupy paczek w przedziale 2,8–7,6, serie w zakresie 0,08–0,3 Hz. Wartości indukcji pola są przypisane natomiast do poszczególnych programów i aplikatorów. Średnia wartość indukcji dla programu M1P2 i małego aplikatora jest równa pięciokrotnej wartości intensywności I, na którą jest nastawiony aparat. Autorzy niniejszej pracy zastosowali mały aplikator, dwa cykle aplikacji pola, które powtarzali przez dwa kolejne dni. Do badań włączono także dwie kontrole, które nie były poddawane działaniu pola magnetycznego. Doświadczenie powtarzono, w zależności od grupy, 3–5 razy (tabela 1.)

Program M1 generuje pole ze stałą intensywnością, program M2 służy natomiast do aplikacji z narastającą

Tabela 1. Schemat badań, który oparto na programach aparatu. I – poziom intensywności na sterowniku Viofor JPS[®] System Classic. Opis programów na podstawie podręcznika dla użytkownika Viofor JPS[®] System Classic, Med & Life

Table 1. Scheme based on Viofor JPS[®] System Classic programs. I – intensity level on the controller Viofor JPS[®] System Classic. Description of programs based on the user manual for Viofor JPS[®] System Classic, Med & Life

Próba badana (Test sample)	Program Viofor JPS [®] System (Viofor JPS [®] System program)	Intensywność I (Intensity I)	Czas ekspozycji (Time of exposition)	B [µT] wartość szczytowa impulsów (Impulse peak value B [µT])
1	M1P2	12	10 minut, 1 × dzień	672
2	M2P2	12	12 minut, 1 × dzień	672
3	M1P2	12	2 × 10 minut, co 1 godzinę, 3 × dziennie	672
4	M2P2	12	2 × 12 minut, co 1 godzinę, 3 × dziennie	672
5	M1P2	6	10 minut, 1 × dzień	336
6	M2P2	6	12 minut, 1 × dzień	336
Kontrola A (dla prób 1, 2, 5, 6)	–	–	12 minut, 1 × dzień poza inkubatorem	–
Kontrola B (dla prób 3, 4)	–	–	12 minut, 3 × dzień co 1 godzinę poza inkubatorem	–

intensywnością; intensywność zwiększa się co 10–12 s od 0,5 do wybranego natężenia. Parametry programu P1 i P2 określają czas aplikacji odpowiednio na 10 i 12 minut.

Po dwóch kolejnych dniach aplikacji pola przeprowadzono test MTT, którym oceniono żywotność komórek w każdej grupie w stosunku do odpowiedniej grupy kontrolnej.

W teście tym żółta sól tetrazolowa MTT (*Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide*) zostaje przeprowadzona do fioletowej pochodnej formazanu w mitochondriach żywych komórek w wyniku reakcji enzymatycznej przeprowadzanej przez oksydoreduktazy. Test ten jest testem kolorymetrycznym, który pozwala przeprowadzić ocenę żywotności na podstawie absorbancji. Wykorzystano w nim sól MTT (Sigma-Aldrich), którą rozpuszczono w PBS (w ilości 5 mg MTT/1 ml PBS), a następnie w medium DMEM (1 ml soli w PBS/9 ml medium). Po zlaniu medium do każdego dołka dodano po 100 μ l MTT rozpuszczonego w medium, płytki umieszczono w inkubatorze na 2 godziny. Po czasie inkubacji zlanio medium, dodano do każdego dołka 100 μ l roztworu kwaśnego alkoholu izopropylowego – 36% HCl (cz.d.a) (P.P.H. Stanlab) i alkohol izopropylowy (cz.d.a) (P.P.H. Stanlab) (zmieszanych w proporcji 10 ml izopropanolu/38 μ l HCl), aby rozpuścić formazan. Płytki umieszczono na 0,5 godziny w inkubatorze, po czym zmierzono absorbancję na spektrofotometrze Epoch (Biotek) przy długości fali 570 nm (długość referencyjna 650 nm). Żywotność komórek obliczono w stosunku do kontroli, którą przyjęto za 100%, zgodnie ze wzorem (1):

$$V_{(\%) } = (pB/pK) \times 100, \quad (1)$$

gdzie:

V – żywotność w procentach,

pB – średnie wartości absorbancji dla próby badanej,

pK – średnie wartości absorbancji dla kontroli.

Wyniki

Żywotności komórek w poszczególnych próbach różniły się od kontroli, które przyjęto za 100%. W grupie 1 i 2 zauważono zmniejszoną proliferację w stosunku do kontroli, odpowiednio: 92% i 97%. W 3 próbie badanej żywotność komórek wynosiła natomiast 139% w stosunku do kontroli, w 4: 128%, w 6: 108%, w 5: 106%. Próby badane 3 i 4, w których stwierdzono największą żywotność, były poddawane najdłuższej ekspozycji na zmienne pole (odpowiednio 2 \times 10 minut i 2 \times 12 minut, co godzinę, 3 \times dziennie). Otrzymane przez autorów wyniki wykazały wpływ zmiennego pola magnetycznego o niskiej częstotliwości generowanego przez aparat Viofor JPS[®] System Classic (Med & Life) na komórki Balb3T3. W wyniku wielokrotnej ekspozycji po zastosowaniu wybranych programów: M2P2

i M1P2 odnotowano statystycznie istotną zwiększoną żywotność komórek w porównaniu do kontroli, w próbie badanej 3, 4 i 6. W próbie 1 stwierdzono istotne statystycznie zmniejszenie żywotności komórek w wyniku jednokrotnej ekspozycji na zmienne pole magnetyczne z wykorzystaniem programu M1P2.

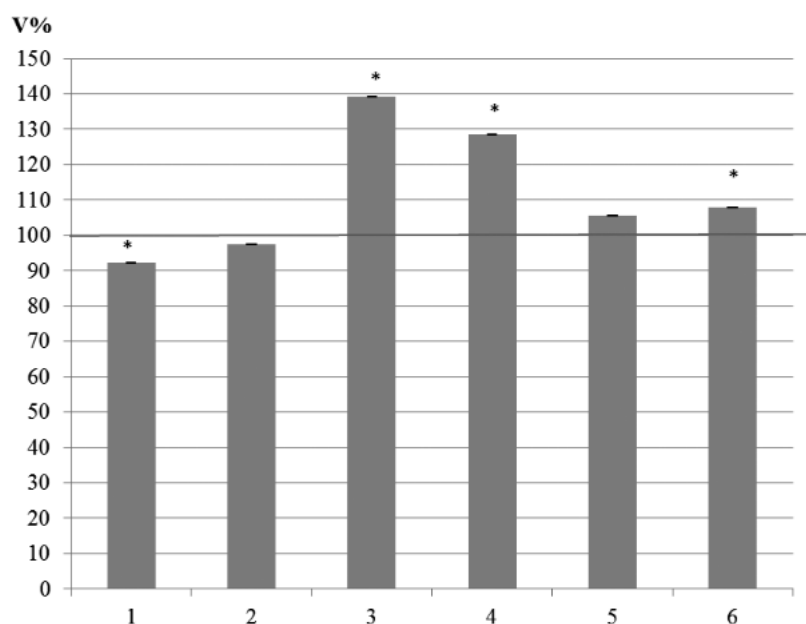
Wyniki doświadczeń wykazały, że wielokrotna aplikacja magnetostymulacji z wykorzystaniem programów M1P2 i M2P2 oraz najwyższego natężenia pola generowanego przez aparat ($I = 12$) ma dodatni wpływ na proliferację komórek fibroblastów Balb 3T3. Dla grup 1, 3, 4 i 6 uzyskano wyniki istotne statystycznie ($p < 0,05$, test *t*-Student). Wyniki przedstawiono na wykresie (ryc. 2.) jako średnią żywotność komórek w poszczególnych próbach badanych w stosunku do kontroli. Wyniki zostały opracowane na podstawie 3–5 powtórzeń.

Omówienie

Szczególnie interesujące jest działanie regeneracyjne magnetostymulacji w stosunku do ran przewlekłych. Rany te często nie poddają się leczeniu dostępnymi środkami, takimi jak nowoczesne opatrunki czy metody chirurgiczne, podciśnieniowe [11, 12]. Ludzkie fibroblasty i keratynocyty mają zdolność migracji pod wpływem fizjologicznego pola elektrycznego wytwarzanego w ranie (50–100 mV/mm) na szlaku kinaza PI3/Akt [13]. Jest wiele potencjalnych mechanizmów działania pola magnetycznego na komórki, wśród których wymienia się wpływ na polaryzację błony komórkowej lub mechanizm wolnorodnikowy [14].

Stałe pole magnetyczne (0,085 ~ 0,092 T) wpływa na wzrost pH (o 0,14) oraz zwiększa stężenie rozpuszczonego w medium hodowlanym tlenu (o 14%), co może oddziaływać na komórki i stanowić biologiczny efekt pola, ponieważ tlen bierze udział w rozkładzie związków organicznych będących źródłem energii. Uwalnianie tlenu może wynikać ze zmian w strukturze cząsteczki wody pod wpływem przyłożonego stałego pola magnetycznego [15].

Wyniki, które otrzymano, wykazały wpływ zmiennego pola magnetycznego generowanego przez aparat Viofor JPS[®] System Classic (Med & Life) na komórki Balb 3T3. Dłuższy czas ekspozycji na zmienne pole generowane przez aparat oddziałuje dodatnio na komórki, podczas gdy krótszy czas aplikacji (10–12 minut) daje zauważalnie mniejsze wyniki. Przy jednokrotnej ekspozycji na zmienne pole magnetyczne autorzy odnotowali ograniczenie żywotności komórek w próbie 1 i 2. W badaniach przeprowadzonych na komórkach linii preadipocytów 3T3-L1 nie stwierdzono wpływu na proliferację po 36-minutowej ekspozycji na zmienne pole magnetyczne (180–195 Hz, 120 μ T), po 24 i 48 godzinach inkubacji. Autorzy pracy (Żwirska-Korczala et al.), zauważyli zmniejszenie aktywności syntazy ponadtlenkowej oraz zwiększenie aktywności katalazy [16]. Eks-



Ryc. 2. Wyniki dla testu MTT przedstawiono jako średnią żywotność komórek Balb 3T3 w poszczególnych grupach w stosunku do kontroli, którą przyjęto za 100%. Dokładne opisy prób badanych podano w tabeli 1

Fig. 2. Results of the MTT assay expressed as the mean Balb 3T3 cell viability in each group relative to the control, which was taken as 100%. Detailed descriptions of the groups in Table 1

* $p < 0,05$, test t -Student.

* $p < 0.05$, Student's t test.

pozycja komórek ludzkich fibroblastów z płuc w zmiennym polu magnetycznym (50 Hz, 80 μ T) powodowała ograniczenie żywotności do 85% po godzinie, po 2 godzinach wynosiła 98%, po 3 i 4 godzinach odpowiednio 81% i 80%. Stałe pole magnetyczne o takich samych parametrach zwiększało żywotność komórek do 130% po godzinnej ekspozycji, po 2 do 152%, a po 6 godzinach żywotność komórek zmniejszała się do 62% (kontrolę przyjęto za 100%) [17]. Wyniki przedstawione w literaturze nie dają jednoznacznej odpowiedzi w kwestii wpływu pola magnetycznego na hodowle *in vitro*. Różnorodne rezultaty wskazują na czynniki wpływające na wynik, takie jak: rodzaj linii komórkowej, parametry i charakter pola (zmiennie, stałe). Obecność fizjologicznego pola elektrycznego żywych organizmów jest jed-

nym z czynników, które należy wziąć pod uwagę, gdy rozważa się wpływ pola magnetycznego na żywy organizm. Badania wpływu magnetostymulacji leczniczej na dynamikę odczynu zapalnego w szczurzym modelu zapalenia opłucnej zostały przedstawione w pracy Całkosińskiego et al. [18]. Pod wpływem pola o wartości 100 mT odnotowano mniejsze stężenie telopeptydu (ICTP), markeru degradacji kolagenu, w porównaniu z grupą poddawaną magnetostymulacji polem o indukcji 10 μ T. Dodatkowo zauważono także wzrost markerów syntezy kolagenu – prokolagenu PICP i PIII (NP) pod wpływem magnetostymulacji w stosunku do kontroli [18]. Przeprowadzone badania własne, w świetle danych literaturowych, sugerują korzystny wpływ pola magnetycznego na proces regeneracji tkanek.

Piśmiennictwo

- [1] Opalko K., Sieroń A.: Zmienne pole magnetyczne w stomatologii i okulistyce. α -medica press, Bielsko-Biała 2010, 130–138.
- [2] Sieroń A., Cieślak G., Krawczyk-Krupka A., Biniszkiwicz T., Bilka-Urban A., Adamek M.: Zastosowanie pól magnetycznych w medycynie. Podstawy teoretyczne, efekty biologiczne i zastosowania kliniczne. α -medica press, 2010, 211–230.
- [3] Kortekaas R., van Nierop L.E., Baas V.G., Konopka K.H., Harbers M., van der Hoeven J.H., van Wijhe M., Aleman A., Maurits N.M.: A Novel Magnetic Stimulator Increases Experimental Pain Tolerance in Healthy Volunteers A Double-Blind Sham-Controlled Crossover Study. PLOS ONE, 2013, 8, 1–7.
- [4] Leuchter A.F., Cook I.A., Jin Y., Phillips B.: The relationship between brain oscillatory activity and therapeutic effectiveness of transcranial magnetic stimulation in the treatment of major depressive disorder. Frontiers in Human Neurosci. 2013, 7, 1–12.
- [5] Cui Y., Ge Z., Rizak J.D., Zhai C., Zhou Z., Gong S., Che Y.: Deficits in Water Maze Performance and Oxidative Stress in the Hippocampus and Striatum Induced by Extremely Low Frequency Magnetic Field Exposure. Open Access PLoS ONE 2012, 7, 1–5.
- [6] Pasek J., Pasek T., Sieroń A.: Magnetostimulation in the treatment of crural vein ulceration. Int. Wound J. 2012, 9, 566–569.

- [7] **Tenuzzo B., Chionna A., Panzarini E., Lanubile R., Tarantino P., Di Jeso B., Dwikat M., Dini L.:** Biological Effects of 6 mT Static Magnetic Fields: A Comparative Study in Different Cell Types. *Bioelectromagnetics* 2006, 27, 560–577.
- [8] **Martino C.F., Perea H., Hopfner U., Ferguson V.L., Wintermantel E.:** Effects of Weak Static Magnetic Fields on Endothelial Cells. *Bioelectromagnetics* 2010, 31, 296–301.
- [9] **Bernardini C., Zannoni A., Turba M.E., Bacci M.L., Forni M., Mesirca P., Remondini D., Castellani G., Bersani F.:** Effects Of 50 Hz Sinusoidal Magnetic Fields On Hsp27, Hsp70, Hsp90 Expression in Porcine Aortic Endothelial Cells (PAEC). *Bioelectromagnetics* 2007, 28, 231–237.
- [10] **Hong M.N., Han N.K., Lee H.-C., Ko Y.-K., Chi S.-G., Lee Y.-S., Gimm Y.-M., Myung S.-H., Lee J.-S.:** Extremely Low Frequency Magnetic Fields Do Not Elicit Oxidative Stress in MCF10A Cells. *J. Radiation Res.* 2012, 53, 79–86.
- [11] **Krasowski G., Kruk M.:** Leczenie odleżyn i ran przewlekłych. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2008, 81–89.
- [12] **Grey J.E., Harding K.G.:** Leczenie ran w praktyce. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2010, 47–51, 59–64.
- [13] **Guo A., Song B., Reid B., Gu Y., Forrester J.V., Jahoda C.A.B., Zhao M.:** Effects of Physiological Electric Fields on Migration of Human Dermal Fibroblasts. *Journal of Invest. Dermatol.* 2010, 130(9), 2320–2322.
- [14] **Martino C.F.:** Static Magnetic Field Sensitivity of Endothelial Cells. *Bioelectromagnetics* 2011, 32, 506–508.
- [15] **Li F., Song J., Qi H., Sui F., Li G., Wang Q.:** Effects of Static Magnetic Fields on the Physical and Chemical Properties of Cell Culture Medium RPM1 1640. *Electromagnetic Biol. Med.* 2007, 26, 25–32.
- [16] **Żwirska-Korczala K., Jochem J., Adamczyk-Sowa M., Sowa P., Poloniak R., Birkner E., Latocha M., Pilc K., Suchanek R.:** Effect of extremely low frequency electromagnetic fields on cell proliferation, antioxidative enzyme activities and lipid peroxidation in 3T3-L1 preadipocytes – an *in vitro* study. *J. Physiol. Pharmacol.* 2005, 56 (6), 101–108.
- [17] **Afinogenov G., Afinogenova A., Kalinin A.:** Influence of constant, alternating and cyclotron low-intensity electromagnetic fields on fibroblast proliferative activity *in vitro*. *Krankenhaushygiene Interdisziplinär* 2009, 4(2), 1–4.
- [18] **Całkosiński I., Borodulin-Nadzieja L., Stańda M., Wasilewska U., Pietraszkiewicz T.:** Influence of therapeutic magnetic stimulation on concentrations of collagen tissue in the course of experimental pleuritis in rats. *Med. Weterynaryjna* 2003, 59 (2), 161–164.

Adres do korespondencji:

Agnieszka Rusak
Zakład Chirurgii Eksperymentalnej i Badania Biomateriałów
Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu
ul. Poniatowskiego 2
50-326 Wrocław
tel.: 71 784 01 32
faks: 71 784 01 33
e-mail: rusakagn@gmail.com

Konflikt interesów: nie występuje.

Praca wpłynęła do Redakcji: 15.03.2013 r.

Po recenzji: 5.09.2013 r.

Zaakceptowano do druku: 5.09.2013 r.

Received: 15.03.2013

Revised: 5.09.2013

Accepted: 5.09.2013 r.