

Б.С. Сушко, Ю.П. Лиманський

Зміна больової реакції при поєднаній дії модуляторів оксиду азоту та низькоінтенсивного електромагнітного поля

В экспериментах на мышах с тонической болью, вызванной введением 5%-го раствора формалина в заднюю конечность, количественно оценены изменения болевой поведенческой реакции под действием низкоинтенсивного электромагнитного поля (ЭМП), при внутрибрюшинном введении животным соединений, модулирующих активность NO-синтазной системы, а также при комплексном действии этих соединений и ЭМП. В качестве блокатора NO-синтазы использовались N^o-нитро-L-аргинин (L-NAME), доноров NO – нитропруссид натрия и нитрит натрия. Воздействие ЭМП полностью устраняло эффекты L-NAME и нитрит натрия в концентрациях 0,5 ммоль/л, а также SNP в концентрации 5 мкмоль/л на болевую реакцию. Высказывается предположение о том, что нейрогенные и NO-ергические механизмы являются основой системных анальгетических эффектов низкоинтенсивного ЭМП. Обсуждаются механизмы модуляции болевой реакции и других поведенческих проявлений животных под действием ЭМП и NO.

ВСТУП

Широке застосування штучних електромагнітних полів різної інтенсивності викликає і деякі проблеми у зв'язку з їх дією на організм людини [1–3, 10]. Нині відомий анальгетичний ефект низькоінтенсивних електромагнітних полів (ЕМП), який дуже поширений у клінічній практиці. Однак сучасні наукові джерела свідчать про те, що системні анальгетичні ефекти цих фізичних факторів при їх локальному впливі вивчено недостатньо. Відомо що, ноцицептивний вплив викликає в організмі різнобічні біологічні ефекти, в генерації яких важливе місце займає монооксид азоту (NO) [11–14, 21, 22]. Мета цієї роботи – вивчення больової реакції дослідних тварин у разі дії хімічних агентів, які модулюють гомеостаз NO в організмі тварин у нормі та за умов локальних впливів низькоінтенсивного ЕМП міліметрового діапазону.

МЕТОДИКА

Досліди проведено на самцях білих аутбредних мишей. Осередок болю створювали, застосовуючи формаліновий тест (20 мкл 5%-го розчину формаліну під шкіру тильної поверхні стопи задньої кінцівки). Реєстрували тривалість різних поведінкових проявів тварин упродовж години. Больову реакцію оцінювали за часом такого прояву поведінки, як вилізання твариною осередку болю. За інтенсивність поведінкових проявів брали середнє значення тривалості даного прояву в межах фіксованих інтервалів спостережень. Кількість тварин у групі коливалась у межах від 10 до 15. Реєстрували такі інші поведінкові феномени, як переміщення, вмивання (грумінг), сон (або спокійний стан без сну), споживання їжі (води) [6, 8]. Фармакологічні тести-агенти вводили внутрішньоочеревинно в ізотонічному розчині NaCl.

Ефективну концентрацію агента розраховували за умови, що активна речовина займає об'єм тварини. Кількість введеного розчину становить 1 % від об'єму тварини. Застосовували блокатор NO-синтази N^o-нітро-L-аргінін (L-NAME), донори NO нітропрурид натрію – Na₂Fe(CN)₅NO · 2H₂O та нітрит натрію – NaNO₂. Всі маніпуляції відбувалися в іммобілізаційній камері. Точки акупунктури (ТА) E-36 опромінювали протягом 10 хв. Джерелом ЕМП був прилад «ІВТ-Поріг», який випромінював електромагнітні хвилі в широкому діапазоні частот потужністю на виході 0,1 мВт, спектральною щільністю потужності 10⁻¹⁵ Вт/Гц. У контролі замість тест-агентів застосовували 0,9%-й розчин NaCl у таких самих об'ємах. Дослідних і контрольних тварин використовували в рандомізованій послідовності. Оцінки розбіжностей результатів отримували, використовуючи статистичні критерії Стьюдента та Фішера.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Опромінення ЕМП акупунктурної точки E-36 на протязі 10 хв призводило до зменшення інтенсивності больової реакції мишей, викликаной формаліном (P<0,05). У дослідній групі тварин (n=25) за весь час спостережень (1 год) больова реакція тривала на 20 % ± 3 % менше, ніж у контрольній групі (n=22). Найбільше зменшення больової реакції після дії ЕМП було в першій половині спостережень – 32 % ± 5 % (рис. 1). Таким чином, результати наших досліджень, а також дані інших авторів підтверджують анальгетичну дію ЕМП [17, 25, 27].

Часова залежність больової реакції на введення нітропруриду натрію (5 мкмоль/л) набувала фазного характеру від мінімальних значень на початку спостережень до максимальних, вищих за контроль на 15–20 хв. Через 30–35 хв такої дії показники больової поведінкової реакції та швидкості її спаду наближалися до контрольних. Низькі значення больової поведінкової реакції в перші хвилини спостережень зумовлені вазодилаторною дією донора NO, зниженням системного кров'яного тиску. Такий висновок може підтверджуватися залежністю рухової активності тварин від концентрації нітропруриду натрію (1–10 мкмоль/л). При її збільшенні переміщення тварин по клітці зменшувалися. Максимальні значення переміщень, а також больової поведінкової реакції зміщувалися на більш віддалені строки спостережень. Середні значення больової поведінкової реакції за весь проміжок спостережень при дії нітропруриду натрію в концентрації 5 мкмоль/л були вищі за контрольні на 40 % ± 10 %.

Після 10 хв опромінення ЕМП ТА E-36 на фоні введення 5 мкмоль/л нітропруриду

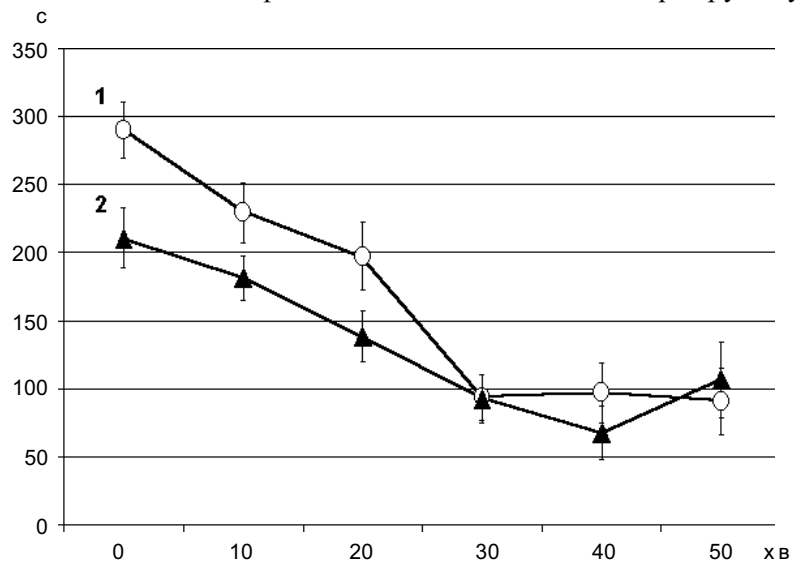


Рис. 1. Вплив опромінення точки акупунктури E-36 на інтенсивність больової реакції у мишей (формаліновий тест). За віссю ординат – середній час вилізання твариною травмованої формаліном кінцівки за послідовні 10-хвилинні інтервали; за віссю абсцис – час спостережень: 1 – контроль, 2 – вплив електромагнітного поля

натрію спостерігалось подальше підвищення середніх значень больової поведінкової реакції на всіх часових проміжках спостережень, достовірні відмінності були отримані лише на початку спостережень (на $38\% \pm 8\%$, $P < 0,05$; рис. 2). Таким чином, опромінення спричиняє сумарне посилення больової поведінкової реакції в разі надлишку NO в організмі тварин. У перші хвилини спостережень опромінення ЕМП зменшує дію нітропрусиду натрію, частково відновлюючи больову поведінкову реакцію і рухову активність тварин до контрольних значень.

Інший донор NO – нітрит натрію в концентрації 0,5 ммоль/л підвищував інтенсивність больової реакції на формалін. Характер часових змін больових реакцій при дії нітриту натрію дещо відрізнявся від дії нітропрусиду натрію. На початку спостережень показники больової реакції майже не відрізнялися від контрольних. Достовірно перевищення значення больової реакції щодо контролю починалося приблизно з затримкою в 10 хв. Для другої половини спостережень (30–60 хв) середні

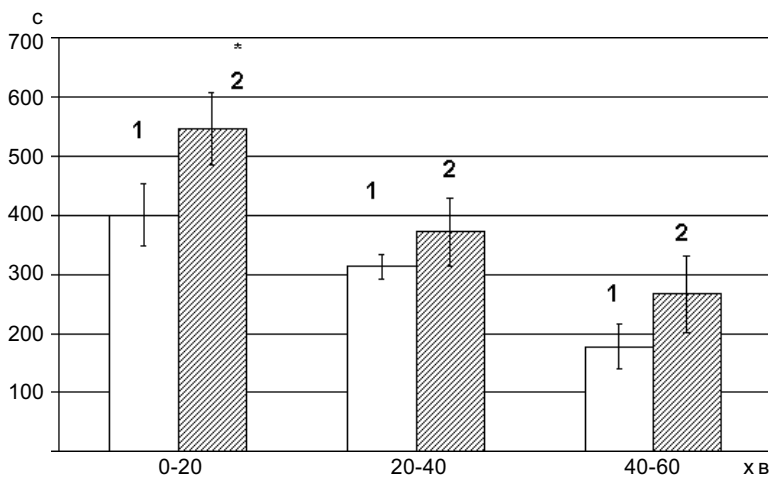


Рис. 2. Дія опромінення точки акупунктури Е-36 електромагнітним полем (ЕМП) на величину больової реакції мишей на фоні внутрішньоочеревинного введення 5 ммоль/л нітропрусиду натрію для трьох рівних послідовних періодів спостережень. За віссю ординат – середній час больової реакції за 20-хвилинний інтервал; за віссю абсцис – послідовні проміжки спостережень: 1 – больова реакція при імітації опромінення на фоні введення 5 ммоль/л нітропрусиду натрію, 2 – при опромінення на фоні введення 5 ммоль/л нітропрусиду натрію

значення цього показника були вдвічі більші від контрольних – $216 \text{ с} \pm 46 \text{ с}$ порівняно з $107 \text{ с} \pm 33 \text{ с}$ у контролі ($n=15$, $P < 0,05$). Змін зазнавали й інші поведінкові прояви. На відміну від больової реакції час сну, навпаки, за той самий проміжок спостережень зменшувався до $587 \text{ с} \pm 127 \text{ с}$ порівняно $1080 \text{ с} \pm 145 \text{ с}$ ($n=15$, $P < 0,01$) у контрольних тварин. Сумарний час переміщень тварин збільшувався в десятки разів, при дії нітриту натрію тварини починали витрачати багато часу на споживання води.

Локальне опромінення зони ТА Е-36 слабким ЕМП на фоні 0,5 ммоль/л нітриту натрію викликало зниження середньої величини больової реакції протягом майже всього часу спостережень. Для другої половини спостережень середні значення цього показника зменшувалися до контрольних ($91 \text{ с} \pm 23 \text{ с}$, $P < 0,05$). Після опромінення ЕМП за наявності нітриту натрію зазнавали змін всі інші прояви поведінки. Ці зміни були направлені на зменшення дії 0,5 ммоль/л NaNO_2 і наближення інтенсивності проявів до контрольних значень. На рис. 3,а,б наведено гістограми всіх проявів

поведінки на введення формаліну для другої половини спостережень у контролі (0,9 % NaCl , внутрішньоочеревинно, 10 хв імітації опромінення), при дії нітриту натрію в концентрації 0,5 ммоль/л і імітації опромінення, а також при опроміненні ЕМП ТА Е-36 на фоні дії NaNO_2 . Так, після опромінення тварин ЕМП достовірно збільшувався час сну тварин, зменшувалися тривалість переміщень, споживання води та час грумінгу.

Використання як донора NO нітриту натрію має суттєві відмінності. Цей препарат не створював умови для зниження рухової активності

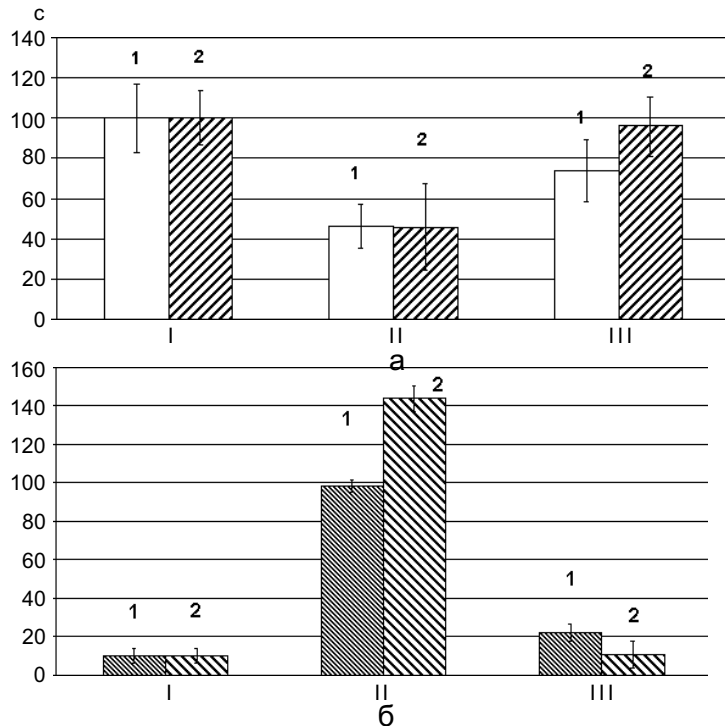


Рис. 3. Зміна проявів поведінки мишей на формаліновий тест при дії 0,5 ммоль нітриту натрію і опроміненні електромагнітним полем точки акупунктури за другу половину спостережень (від 30 до 60 хв) у відсотках до контролю. На а: 1 – больова реакція, 2 – сон (масштаб зменшено у 5 разів); на б: 1 – переміщення, 2 – споживання води. I – контроль, II – введення 0,5 ммоль/л нітриту натрію, III – опромінення на фоні введення 0,5 ммоль/л нітриту натрію

тварин, викликав підвищене споживання води тваринами. Нітрит натрію широко використовується для створення гемічної гіпоксії. При розчиненні нітриту натрію аніони (NO_2^-) швидко проникають в еритроцити і при участі дезоксиформи гемоглобіну перетворюються в NO, який зв'язується з гемоглобіном, утворюючи комплекси метгемоглобіну. Останні беруть участь у збереженні певного пулу NO в тканинах організму. Перетворення іонів NO_2^- в NO можливо також при участі міоглобінів та інших електродонорних систем, які мають НАДН, НАДФН, флавопротеїди. Такі перетворення є ланкою так званої нітрид-редуктазної компоненти продукції NO, яка разом з NO-синтазою забезпечує циклічне відтворення високоактивного NO

і в такий спосіб утворює ефективний механізм його регуляції в організмі [7]. Слід зазначити, що в NO-синтазному механізмі для утворення NO використовується молекулярний кисень, а в умовах його дефіциту активується нітрид-редуктазна компонента утворення NO. Останній в організмі відіграє роль вторинного месенджера, нейромодулятора, впливає на пластичні властивості нейронів, на феномени довготривалої потенціації та ноцицепції [8, 11–14]. Оксид азоту бере участь у реалізації таких важливих фізіологічних функцій, як вазодилатація, нейротрансмісія, зниження агрегації тромбоцитів, реакцій імунної системи, тону су гладеньких м'язів, стану пам'яті, які визначають прояви патологічного процесу і поведінкові стани [4, 5, 18–24, 26].

У наших досліджах часткова блокада NO-синтази при зас-

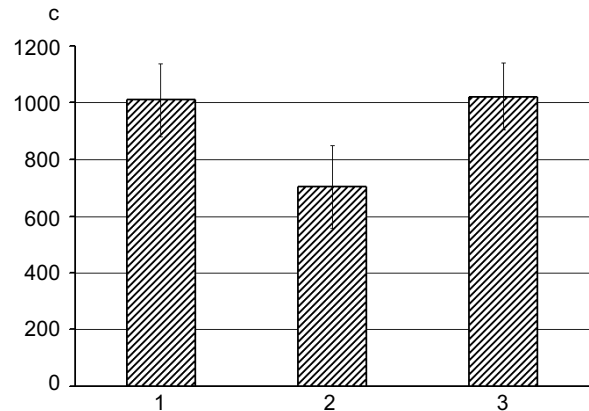


Рис. 4. Зміна больової реакції мишей (формаліновий тест) на блокаду NO-синтази і опромінення електромагнітним полем точки акупунктури E-36: 1 – контроль, 2 – введення 0,5 ммоль/л блокатора NO-синтази N^\ominus -нітро-L-аргініну (L-NAME) та імітація опромінення, 3 – введення 0,5 ммоль/л L-NAME та 10-тихвилинне опромінення точки акупунктури E-36

тосуванні 0,5 ммоль/л L-NAME зменшувала тривалість больової реакції тварин відносно контролю на $30,3\% \pm 10,2\%$ за весь період спостережень ($n=10$, $P<0,05$). На цьому фоні скорочувався середній час переміщень тварин упродовж усього терміну спостережень. Ця серія дослідів підтвердила відомі дані про антиноцицептивний вплив блокади NO-синтази [12]. При опроміненні зони ТА E-36 повністю зникав анальгетичний ефект L-NAME (рис. 4), збільшувався час переміщень тварин, а час пасивного стану та сну зменшувався. Виявилося, що високочастотне і високоінтенсивне ЕМП здатне також відмінити дію L-NAME в досліді з термальною ноцицепцією [24]. У цьому разі, як стверджують автори, відбувається зміна активності NO-синтази під впливом ЕМП.

У діапазоні застосовуваних нами електромагнітних хвиль енергія кванта значно менша за енергію теплового руху, електронних переходів, коливань молекул і водневих зв'язків. Можна припустити, що така енергія не може вплинути навіть на найслабкий хімічний зв'язок. Можливо, електромагнітні хвилі здатні впливати лише на обертальні ступені свободи молекул, тобто спричиняти інформаційні впливи [1–3, 10, 27].

Таким чином, як показали наші дослідження, локальна дія ЕМП на ТА E-36 направлена на зменшення впливу речовин, які змінюють метаболізм NO в організмі тварин. Отримані результати підтверджують точку зору про те, що нейрогенні і NO-ергічні механізми можуть бути основою системних анальгетичних ефектів низькоінтенсивного ЕМП.

Sushko B. S., Limansky J. P.

CHANGE OF PAINFUL REACTION AT COMBINE ACTION OF THE MODULATORS OF NITRIC OXIDE AND LOW INTENSITY ELECTROMAGNETIC FIELD

In experiments on mice with the tonic pain caused by introduced of 5% of formalin in hindpaw, are quantitatively measure

changes of painful behavioural reaction (PBR) values under action low intensity electromagnetic field (EMF) and substances that modulate activity of NO-synthase system, and at both of these action also. Such substances were used: in quality inhibitor NO-synthase - Nw-nitro-L-arginin (L-NAME), donors NO - sodium nitroprusside (SNP) and sodium nitrite (SN). Influence of the EMF completely eliminated effect of the L-NAME and SN in concentration of 0.5 mM/l, and also SNP in concentration 5 mcM/l on the painful reaction. The assumption that neurogenetics and NO-ergic mechanisms are basis of the systems analgesic effects of the low intensity electromagnetic fields. Mechanisms of modulation of painful behavioural reaction and other behavioural displays of animals under condition EMF and NO are discussed.

Bogomoletz Institute of Physiology NANU, Kyiv

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бецкий О. В., Кислов В. В., Девятков Н. Д. Миллиметровые волны низкой интенсивности в медицине и биологии // Биомед. радиоэлектроника. – 1998. – 13, №4. – С. 13–29.
2. Бинги В. Н. Нетепловые эффекты ЭМП и стандарты электромагнитной безопасности. – В кн.: 10-я международ. науч.-практ. конф. по квант. медицине. – М., 2003. – С. 91–92.
3. Готовский Ю. В., Перов Ю. Ф. Электромагнитная безопасность в офисе и дома (видеодисплейные терминалы и сотовые телефоны). – М.: Имедис, 1998 – 176 с.
4. Зима А. В., Белевич А. Э., Повстан А. В. и др. Механизм действия доноров окиси азота на потенциалактивируемые кальциевые каналы гладкомышечных клеток сосудов // Нейрофизиология/Neurophysiology. – 1996. – 28, №6. – С. 296–304.
5. Калугев А. В. Проблемы изучения стрессорного поведения. – К., 1999. – 133 с.
6. Лиманский Ю. П., Тамарова З. А., Битков Е. Г., Колбун Н. Д. Угнетение ноцицептивных реакций мышей под влиянием низкоинтенсивного микроволнового облучения точек акупунктуры // Нейрофизиология/Neurophysiology. – 1999. – 31, №4. – С. 318–322.
7. Реутов В. П., Сорокина Е. Г., Охотин В. Е., Косицин Н. С., Циклические превращения оксида азота в организме млекопитающих. – М.: Наука, 1998.
8. Сушко Б. С. Зміна величини больової реакції мишей при дії низькоінтенсивного електромагнітного поля за умов різної активності NO-синтази // Фізіол. журн. – 2000. – № 2, дод. – С. 147.
9. Сушко Б. С., Лиманський Ю. П., Колбун М. Д. Дослідження впливу методу інформаційно-хвильової терапії на експериментальний травматичний біль. – У кн.: Актуальні проблеми біофізичної медицини: Матеріали I міжнародн. Симпоз. (Київ, 17–19 травня). – Київ, 1998. – С. 57.

10. Теория и практика информационно-волновой терапии / Под общ. ред. Н. Д. Колбуна. – Киев, 1996. – 269 с.
11. Goettl V. M., Larson A. A. Nitric oxide mediates long-term hyperalgesic and antinociceptive effects of the N-terminus of substance P in the formalin assay in mice // *Pain*. – 1996. – **67**, №2–3. – P. 435–441.
12. Granados-Soto V., Rufino M. O., Gomes Lopes L. D., Ferreira S. H., “Evidence for the involvement of the nitric oxide-cGMP pathway in the antinociceptive of morphine in the formalin test // *Eur. J. Pharmacol.* – 1997. – **340**, №2–3. – P. 177–180.
13. Kavaliers M., Choleris E., Prato F. S., Ossenkopp K. Evidence for the involvement of nitric oxide and nitric oxide synthase in the modulation of opioid-induced antinociception and inhibitory effects of exposure to 60-Hz magnetic field in the land snail // *Brain Res.* – 1998. – **809**, №1. – P. 50–57.
14. Larson A. A., Gievenko S. L., Russell I. J., Michalek J. E. Change in concentration of amino acids in the cerebrospinal fluid that correlate with pain in patients with fibromyoglia: implications for nitric oxide pathways // *Pain* – 2000. – **87**, № 2. – P. 201–211.
15. Lowenstein C.J., Dinerman J.L., Snyder S.H. Nitric oxide: a physiologic messengers // *Ann. intern. Med.* – 1994. – **120**. – P. 227–237.
16. Markov M. Can magnetic and electromagnetic fields be used for pain relief // *APS Bulletin*, 12, 1.
17. McLean M., Engstrom S., Holcom R. Static magnetic fields for treatment of pain // *Epilep. and Behav.* – 2001. – **2**, № 5. – P. S74–S80.
18. Moncada S., Palmer R.M.J., Higgs E.A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology // *Pharmacol.Rev.* – 1991. – **43**. – P. 109–142.
19. Moncada S., Higgs A. Mechanisms of disease: the L-arginine - nitric oxide pathway // *New Engl. J.Med.* – 1993. – **329**. – P. 2002–2012.
20. Murray J., Du C., Ledlow A. et al. Nitric oxide: mediator of nonadrenergic noncholinergic responses of opossum oesophageal muscle // *Amer. J.Physiol.* – 1991. – **261**. – P. 401–406.
21. Nakaki T. Physiological and clinical significance of NO (nitric oxide) // *Keio J. Med.* – 1994. – **43**. – P. 15–26.
22. Niedbala B., Sanchez A., Feria M. Nitric oxide mediates neuropathic pain behaviour in peripherally denervated rats // *Neurosci. Lett.* – 1995. – **188**, №1. – P. 57–60.
23. Reeves T. Brunton’s use of amyl nitrite in Angina Pectoris: an historic root of nitric oxide reseach // *NIPS*. – 1995. – **10**, № 6. – P. 141–144.
24. Seaman R. L., Belt M. L., Doyle J. M., Mathur S. P. Hyperactivity caused by a nitric oxide synthase inhibitor is countered by ultra-wideband pulses // *Bioel and ectromagnetic.* – 1999. – **20**, №7. – P. 431–439.
25. Stewart L. S., Persinger M. A. Pretraining exposure to physiologically patterned electromagnetic stimulation attenuates fear-conditioned analgesia // *Int. J. Neuroscience.* – 2000. – **100**, №1–4. – P. 91–98.
26. Takao S., Maeda M., Inoue M. et al. Spinal cord blood flow decreases following microinjection of sodium nitroprusside into the nucleus tractus solitarii of anesthetized rats // *Neurosc. Res.* – 1995. – **25**, №3. –P. 285–291.
27. Tchitchkan D. N. Information significance of magnetic fields for the brain in the realization of antinociceptive effects in conditions of endotoxemia: Abstracts, 4-th Inter. Conf. On Biol. Physiol. – Kyoto, Jul. 30 – Aug. 3, 2001 / Soc. Inter. Union. Of Pure and Appl. Physiol.– Kyoto, 2001.– P. 70.

*Ин-т фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України,
Київ*