

ос. Nat. Acad. Sci. USA, 1989, 86, 1619. 3. Henkart P. A. Ann. Rev. Immunol., 1985, 3, 31. 4. Herberman R. B., Reynolds C. W., Ortaldo J. R. Ann. Rev. Immunol., 1986, 4, 651. 5. Janelli J. R., Sullivan J. A., Mendell G. I., Engelhard V. H. J. Immunol., 1986, 136, 377. 6. Jondal M. Clin. Exp. Immunol., 1987, 70, 255. 7. Kupfer A., Dennert C., Singer S. J. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1983, 80, 7224. 8. Lanzavecchia A. Intern. Rev. Immunol., 1989, 4, 109. 9. Pittsillides A. A., Taylor P. M., Bitansky I. et al. Eur. J. Immunol., 1988, 18, 1203. 10. Russell J. H. J. Exp. Med., 1987, 166, 1884. 11. Trinchieri G., Perussia B. Lab. Invest., 1984, 50, 489. 12. Wright S. C., Bonevoda B. J. Immunol., 1982, 129, 423. 13. Young J. D., Cohn Z. A. Adv. Immunol., 1987, 41, 269. 14. Zagury D. Adv. Exp. Biol., 1982, 146, 15. Zinkernagel R., Kreeb G., Althage A. Clin. Immunol. and Immunopathol., 1980, 15, 565.

УДК 577.352.5+577.354

С. Б. Мажинян, Т. О. Аветисян, М. И. Агаджанов, П. А. Казарян

ДЕЙСТВИЕ ОМАГНИЧЕННОГО ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО РАСТВОРА НА МЕМБРАНЫ НЕЙРОНОВ ВИНОГРАДНОЙ УЛИТКИ *HELIX POMATIA*

В последние годы все большее внимание исследователей привлекает проблема чувствительности биологических систем к магнитным полям (МП) [9, 10]. Наряду с этим расширяются и аспекты использования как МП, так и омагниченной воды при лечении различных болезней [3, 1, 2, 11]. Однако несмотря на накопленный обширный экспериментальный и клинический материал о действии МП различной частоты и силы, а также омагниченной воды на биообъекты существующие в настоящее время гипотезы относительно молекулярных механизмов, лежащих в основе биологических эффектов МП, не дают в итоге исчерпывающего ответа на все полученные экспериментальные данные [13, 15, 18], тогда как выявление этих механизмов позволило бы более эффективно и целенаправленно использовать их.

Известно, что МП (как переменные, так и постоянные) изменяют физические и физико-химические свойства водных растворов, в частности—поверхностное натяжение, диэлектрическую постоянную, растворимость и др. [14]. Учитывая, что вода является основным компонентом клеток (60—80%), можно предположить, что в реализации действия МП на биообъекты немаловажную роль будет играть вода с растворенными в ней органическими и неорганическими веществами. Удобной моделью для интеграции на клеточный уровень данных, полученных на целостном организме, являются гигантские нейроны виноградно-й улитки.

В настоящей работе исследовалось действие омагнищенного физиологического раствора на трансмембранные ионные токи, хемочувствительность, фосфолипидный состав мембран гигантских нейронов улитки.

Омагничивание физиологического раствора производили путем помещения стеклянной кюветы с раствором (20 мл) в постоянное магнитное поле силой 30 мТл. Методика получения экспериментальной модели перфузированного нейрона и способ регистрации его хемочувствительности были описаны ранее [12]. Нейроны изолировали после 45 мин предварительной обработки 0,03% проназой с помощью электрофоретически заточенных игл. Во внешней камере содержался нормальный физиологический раствор следующего состава (в мМ/л): NaCl—85, KCl—4, CaCl₂—8, MgCl₂—7, трис HCl—10 (pH—7,6), а во внутренней—раствор, содержащий (в мМ/л) KCl—100, трис HCl—10 (pH—7,6). Ацетилхолин (АХ) добавляли во внешний перфузат в концентрации 10⁻⁵ мМ с помощью метода «скачка концентрации» непосредственно перед регистрацией. Трансмембранные ионные токи регистрировали методом «фиксации потенциала на мембране». Регистрация производилась при потенциале фиксации 40 мВ.

Результаты и обсуждение

При помещении нейрона в омагниченный физиологический раствор на мембране возникает стабильный ток входящего направления. После замены наружного раствора на нормальный неомагнитный раствор значение стационарного тока восстанавливалось до начального нормального уровня.

Дальнейшие наши эксперименты были направлены на выяснение ионной природы данного тока, а также порогового значения омагничивания раствора, которое вызывало бы данный эффект.

Как показали эксперименты, омагничивание раствора МП в 30 мТл приводило к возникновению стационарного входящего тока на мембране перфузированного нейрона. При этом минимальное время экспозиции было 30—40 сек. Амплитуда возникающего под действием омагниченного физиологического раствора входящего тока не зависела от времени экспозиции, и данный эффект сохранялся при комнатной температуре в течение 48 часов. Исходя из этого, дальнейшие исследования проводились при омагничивании растворов в течение 60 сек.

Интересно отметить, что амплитуда входящего тока зависела от концентрации ионов Са в среде. Уменьшение концентрации ионов Са в наружном растворе приводило к исчезновению входящего тока, возникающего под действием омагниченного физиологического раствора. В некоторых случаях (в 4 из 25 нейронов) уменьшение концентрации ионов Са приводило к реверсии тока, возникающего под действием омагниченного физиологического раствора.

Ранее нами были идентифицированы два типа нейронов, отличающихся по чувствительности к АХ. В одних нейронах трансмембранный ионный ток, возникающий под действием АХ (АХ-ответ), блоки-

ровался оуабаином и был обусловлен увеличением мембранной проницаемости для ионов Cl^- (оуабаин-чувствительный ответ), в других нейронах трансмембранный ионный ток не блокировался оуабаином (оуабаин—нечувствительный ответ) и был обусловлен увеличением мембранной проницаемости для ионов K^+ [5]. Омагничивание физиологического раствора приводит к резкому увеличению АХ-ответов мембран, чувствительных к оуабаину.

Известно, что ионы кальция являются модуляторами многих ферментных систем, в частности липидных ферментов [6]. Учитывая это, нами было исследовано действие омагниченного постоянным МП физиологического раствора на фосфолипидный состав мембран нейронов ганглий улитки.

Фосфолипидный состав мембран определяли методом тонкослойной хроматографии [17]. Омагничивание физиологического раствора производили путем помещения стеклянной кюветы с раствором (20 мл) в постоянное МП силой 30 мТл в течение 24 часов. Контрольные группы ганглий инкубировали в нормальном физиологическом растворе в течение 24 и 1 часа. Как видно из таблицы, 24-часовая инкубация ганглий в нормальном физиологическом растворе приводила к увеличению фракции лизофосфатидов. Эти изменения могут быть следствием повышения активности фосфолипазы А-2, которая приводит к одновременному снижению содержания фосфатидилэтаноламинов и фосфатидилхолинов. Такое изменение фосфолипидного состава характерно для старения тканей в условиях *in vitro*. Омагничивание физиологического раствора приводит к стабилизации уровня различных фракций фосфолипидов. Стабилизирующий эффект МП ярко выражен в регуляции уровня фосфатидной кислоты и дифосфоглицерина, являющихся предшественниками синтеза фосфолипидов. Как видно из таблицы, инкубация ткани в омагниченном физиологическом растворе приводит к стабилизации и нормализации уровня лизолецитина.

Ранее нами было установлено, что в реализации действия МП как на клетки, так и на организм, важную роль играют изменения физико-химических свойств как воды, так и водных растворов. Известно, что вода составляет большую часть клетки и что все процессы анаболизма и катаболизма происходят в водной фазе. Исходя из этого, можно предположить, что изменение физико-химических свойств воды может привести к изменению функциональной активности клетки.

Полученные нами данные относительно действия омагниченных растворов на трансмембранные ионные токи нейронов позволяют утверждать, что омагничивание растворов способствует изменению свойств водной среды, что приводит к возникновению входящего трансмембранного ионного тока, при этом показано, что данный эффект, зависит от концентрации ионов Ca в среде. Полученные нами данные совпадают с литературными в том, что МП приводит к нарушению перераспределения ионов Ca в тканях и что это нарушение является

следствием изменения мембранной проводимости для ионов Са [4]. Полученные нами данные позволяют утверждать, что омагничивание приводит к изменению свойств водных растворов. При этом эффект омагничивания раствора зависит от концентрации ионов Са. Возможно, под действием МП изменяется степень гидратации ионов Са, что приводит в свою очередь к изменению их термодинамической активности.

Действие омагниченного физиологического раствора на фосфолипидный состав мембран *Helix pomatia*

Фракции	Нормальный физ. р-р 24-час. инкубация	Омагниченный физ. р-р 24-час. инкубация	Нормальный физ. р-р 1-час. инкубация
Глицерофосфат	11.12±1.69	12.1 ±1.18	10.05±1.21
Лизофосфатидилхолин	7.66±0.8	6.76±0.8	6.52±1.41
Фосфоинозитол	11.78±1.64	7.38±0.5	10.67±1.61
Сфингомиелин	8.13±1.47	8.33±1.38	6.08±0.41
Фосфатидилхолин	16.85±1.64	16.86±1.84	24.67±0.32
Фосфатидилэтаноламин	13.78±1.36	16.97±1.16	14.79±0.59
Фосфатидилсерин	9.74±0.84	9.84±1.18	8.14±0.24
Фосфатидная кислота	7.55±1.1	8.58±0.31	5.02±1.76
Фосфоглицерин	5.97±0.8	5.92±1.34	8.87±0.33
Дисфосфоглицерин	9.72±0.4	4.59±1.08	4.11±1.87

Учитывая, что ионы Са играют важную роль в регуляции гомеостаза клетки [8], можно объяснить и стабилизирующее действие омагниченного раствора на фосфолипидный состав клеток и на хемочувствительность мембран. Интересно отметить, что и динамика данных процессов совпадает с известными литературными данными. Показано, что Na—Са обмен является мощным механизмом, регулирующим уровень внутриклеточного Са [16], тогда как внутриклеточный метаболизм липидов в свою очередь зависит от уровня внутриклеточного Са [8, 16]. Возможно, что изменением проницаемости для ионов Са можно объяснить и стабилизирующее действие омагниченного раствора на липидный состав мембран.

Ереванский медицинский институт,
Центр биофизики НАН РА, НИИ
гематологии и переливания крови

Поступила 22/X 1993 г.

Ս. Բ. Մաթիսյան, Թ. Օ. Ավետիսյան, Մ. Ի. Աղաջանով, Պ. Ա. Ղազարյան

ՄԱԿԵՆՍԱՑՎԱԾ ՖԻԶԻՈԼՈԳԻԱԿԱՆ ԼՈՒՎՈՒՅԹԻ ԱՋԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ
HELIX POMATIA ԽԱՂՈՂԻ ԽԵՌՈՒԱՋԻ ՆԵՑՐՈՆՆԵՐԻ ԹԱՎԱՆԹԻ ՎՐԱ

Ուսումնասիրվել է մագնիսացված (40 միլիտեսլա մագնիսական դաշտով) ֆիզիոլոգիական լուծույթի (ՄՅԼ) ազդեցությունը *Helix pomatia*

խխունջի միայնակ դիալիզացված նեյրոնների տրանսմեմբրանային հոսանքների, ացետիլխոլինային զգայնության և ֆոսֆոլիպիդային բաղադրության վրա:

Ցույց է տրված, որ ՄՖԼ ազդեցության տակ թաղանթի վրա առաջանում է տրանսմեմբրանային հոսանք, ուղղված դեպի բջջի ներսը, որի չափսը կախված է լուծույթում Ca-իոնների քանակից: Ֆիզիոլոգիական լուծույթի մազնիսացումը բերում է բջջի ացետիլխոլինային զգայնության եռակի մեծացման: Ցույց է տրված, որ *Helix pomatia* նեյրոբջջիների ինկուբացիան ՄՖԼ-ում բերում է ֆոսֆոլիպիդների ֆրակցիաների մակարդակի կայունացմանը:

Ենթադրվում է, որ ՄՖԼ ազդեցությամբ ստացված արդյունքները պայմանավորված են ֆիզիոլոգիական լուծույթի և նրա մեջ լուծված նյութերի, առանձնապես Ca-իոնների, կառուցվածքային փոփոխությամբ:

S. B. Majinian, T. O. Avetissian, M. I. Aghadjanov, P. A. Chazarian

The Effect of Magnetized Physiological Solution on Neuronal Membrane of *Helix Pomatia*

The effect of magnetized physiological solution (MPS) on transmembrane ionic currents, membrane acetylcholinic sensitivity and phospholipid composition of neuronal membranes of *Helix pomatia* was studied. It was established a development of inward current, 3-fold increase of acetylcholinic sensitivity stimulated by transmembrane current and stabilization of the levels of different fractions of phospholipids.

The data obtained allow to conclude that the effects of MPS influence are caused by structural changes of the substances, peculiarly Ca ions of the physiological solution.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лусин В. В. и др. В кн.: Применение магнитных полей в клинике. Кул-бышев, 1976.
2. Магнитная обработка водных систем. Тез. докл. IV Всесоюз. симп., М., 1981.
3. Шумкус Э. М. и др. Труды Крымского мед. ин-та, 1973, 153, с. 63.
4. Adey W. R. Bioelectrochem. bioenergetics, 1986, 15, 447.
5. Ayrapetyan S. N. et al. Cell. Mol. Neurobiol., 1985, 5, 231.
6. Ayrapetyan S. N. et al. Comp. Biochem. Physiol., 1988, 90, 1, 29.
7. Ayrapetyan S. N., Arvanov V. L. Symposia Biologica Hungarica, 1988, 36, 669.
8. Case R. M. The cell calcium, 1980, 1, 5.
9. Cain et al. Bone Mineral Res., 2, 437.
10. Gault J. K. Rev. Physiol., 1984, 46, 585.
11. Klassen V. I. 1982 Magnetization of water systems, M., 1982.
12. Kostyuk P. G. Biochem. et biophys. acta, 1987, 250, 128.
13. Lednev V. V. Bioelectromagnetics, 1990, 11, 105.
14. Rudolph K. et al. Brain Res., 1988, 446, 159.
15. Salzinger K. et al. Bioelectromagnetics, 1990, 11, 105.
16. Saghyan A. A. Biolog. membr., 1991, 8, 7, 711.
17. Stahl W. L. Arch. Biochem. Biophys., 1973, 154, 56.
18. Thomas et al. Bioelectromagnetics, 1986, 7, 349.