

**ŚLĄSKA AKADEMIA MEDYCZNA w KATOWICACH  
WYDZIAŁ LEKARSKI w ZABRZU**

**Lek. med. Tatiana MAKOSZ**

**Wpływ pojenia dojrzałych szczurów wodą poddaną działaniu pola  
magnetycznego na zmiany strukturalne w pęcherzykach płucnych  
wywołane hipoksją.**

**Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych**

**Samodzielny Publiczny Zakład Opieki Zdrowotnej  
Szpital Nr 2 w Rudzie Śląskiej**

**Promotor pracy: Prof. ŚAM dr hab. n. med. Henryk GRZYBEK**

**Recenzenci: Prof. dr hab. n. med. Wiesława BICZYSKO**

**Prof. dr hab. n. med. Aleksander SIEROŃ**

**Zabrze 2001**

## **Spis treści**

<b>1. Wstęp</b>	1
Wpływ pola magnetycznego na organizm	1
Hipoksja a mikrokążenie płucne	5
<b>2. Założenia i cel pracy.</b>	10
<b>3. Materiał i metodyka</b>	12
a) materiał	12
b) aparatura	14
c) badania morfologiczne	16
<b>4. Wyniki badań – dokumentacja fotograficzna badań</b>	18
<b>5. Podsumowanie wyników badań</b>	43
<b>6. Omówienie wyników i dyskusja</b>	45
<b>7. Wnioski</b>	48
<b>8. Bibliografia</b>	49
<b>9. Streszczenie</b>	56

## 1. Wstęp

### *Wpływ pola magnetycznego na organizm*

Współczesny człowiek w coraz większym stopniu narażony jest na działanie pól magnetycznych generowanych przez różnego rodzaju urządzenia nowoczesnej techniki. Badacze wielu znaczących ośrodków i fundacji takich jak: Biomagnetic Research Foundation przy Uniwersytecie Evanston (USA), Agency Hydrographic Center w Waszyngtonie, czy wreszcie American Food and Drug Administration (USA), skupiają swoje zainteresowania na ocenie mechanizmów oraz stopnia wpływu pól magnetycznych na homeostazę organizmów żywych. Systematyzacja wyników badań napotyka jednak na liczne trudności, ze względu na fakt stosowania nieraz nieporównywalnych kryteriów w kolejnych doświadczeniach (2, 6, 29, 30, 45, 73, 74).

Wyniki licznych prac zarówno teoretycznych, empirycznych jak i klinicznych dowodzą, że błona komórkowa, jak i cały system cytomembran wewnątrzkomórkowych są głównym miejscem poprzez które pole elektromagnetyczne wywiera swoje działanie na żywy organizm. Efekty tego działania związane są z wewnątrzkomórkowym przepływem jonów  $Ca^{2+}$ . Ekspozycja komórek na działanie pola magnetycznego prowadzi do zmiany struktury błony komórkowej i redukcji potencjałów elektrycznych, z czym wiąże się zmianą jej przewodnictwa i przepuszczalności (4,6,11,20,28,31,32,54)

Zastosowanie AFM (Atomic Force Microscopy) pozwala na trójwymiarowe uwidocznienie zmian zachodzących w strukturze komórek. Po początkowym uwstecznieniu mikrokosmków, występuje w niektórych komórkach ich wygładzanie i spłaszczanie, z następowym tworzeniem się wgłobień, a komórki stopniowo tracą swój kulisty kształt. Analiza rozmieszczenia filamentów aktynowych w rusztowaniu błoniastego cytoskeletonu, wykazała ich wysoką niehomogeniczność w obrębie cytoplazmy, oraz tworzenie skupisk tuż pod błoną komórkową. Obserwowano

również depolimeryzację włókien aktynowych, co prawdopodobnie jest przyczyną zmniejszenia się wysokości komórek i zaniku ich mikrokosmków (49). Podczas ekspozycji zmieniał się także stopień uwodnienia błony komórkowej i fosforylacji określonych wewnątrzkomórkowych białek włókienkowych (68).

Szereg przeprowadzanych badań dotyczy wpływu pól magnetycznych na rozmnażanie się komórek. Stwierdzono między innymi zmniejszoną inkorporację  $H^3$ -tymidyny do limfocytów i obniżenie współczynnika proliferacji przy ekspozycji limfocytów na działanie pola, ale równocześnie powtarzające się cykle zahamowania i przyspieszenia proliferacji komórek. Prawdopodobnym wytłumaczeniem tego zjawiska wydaje się być wpływ pola magnetycznego na wewnętrzne rytmy biologiczne komórek. Zewnętrzny bodziec w postaci energii może spowodować przesunięcie fazy rytmu komórek i w konsekwencji zakłócić proces ich proliferacji (40, 43, 55, 69).

Udokumentowano także wpływ zarówno zmiennego jak i stałego pola magnetycznego na adhezję komórkową. Znajdujące się w hodowlach komórki, które w normalnych warunkach ulegałyby adhezji do podłoża, po zakończeniu doświadczenia, wciąż były swobodnie zawieszane w roztworze, te zaś, którym przed poddaniem działaniu pola magnetycznego pozwolono na adhezję, pod wpływem tegoż pola ulegały odczepieniu od podłoża. Poza zaburzeniami procesu adhezji komórek, stwierdzono także daleko idące zmiany w ich budowie podobne do tych, jakie wywołuje promieniowanie jonizujące i środki chemoterapeutyczne. Polegały one na obkurczeniu i uziarnieniu cytoplazmy, a przede wszystkim dotyczyły jądra komórkowego i obejmowały granulację DNA z jego migracją ku obwodowej części jąder, które ulegały fragmentacji a co w konsekwencji prowadziło do śmierci komórek. Zmiany te wskazywać mogłyby na indukcję apoptozy (12, 24, 26, 40, 48, 60).

Z drugiej strony w przypadku działania stałego pola magnetycznego na linie komórek, których śmierć jest związana z wewnątrzkomórkowym stężeniem jonów wapnia, obserwowano przeżycie i replikację komórek uszkodzonych przez czynniki zewnętrzne, wywołujące apoptozę. Jednocześnie wynik ten nie był spowodowany odwleczeniem w czasie apoptozy lub zmianą charakteru śmierci komórki. Powyższy efekt był związany z wywołaniem wzrostu przepływu jonów  $Ca^{2+}$  ze środowiska zewnątrzkomórkowego do wnętrza komórek (25, 44).

Poszukiwanie wyjaśnień obserwowanych efektów działania pola magnetycznego napotyka na wiele trudności związanych przede wszystkim z metodyką przeprowadzanych doświadczeń, oraz brakiem wysoce czułych urządzeń pomiarowych. Najprawdopodobniej na obserwowany wynik składa się łączna aktywacja wielu mechanizmów na poziomie molekularnym (42, 64).

Płyny ustrojowe takie jak krew, limfa czy płyn mózgowo-rdzeniowy stanowią roztwory elektrolitów. Zmienne pole magnetyczne powoduje wytworzenie zmiennego napięcia (zależnego od powierzchni działania pola i jego częstotliwości) i indukcję pola elektrycznego, które prowadzi do wzbudzenia, względnie przyspieszenia ruchu jonów. Ich przepływ powoduje wzrost tarcia międzycząsteczkowego, które z kolei działa przeciwnie do siły pola. Na poruszające się w roztworze jony działa też siła Lorentza, wywołująca przepływ jonów o przeciwnych znakach w przeciwnych kierunkach. W przypadku obecności zmiennego pola magnetycznego prowadzi to do oscylacji jonów i wprawiania w drgania błon półprzepuszczalnych, co ułatwia i wzmacnia proces dyfuzji. Indukcja mikropotencjałów i ich sumowanie wiedzie do uaktywnienia neuronalnych rozruszników (10, 16, 17, 72 73, 84, 88).

Wiele substancji budulcowych żywych organizmów posiada właściwości dia- lub paramagnetyczne, działanie pola magnetycznego prowadzi więc do modyfikacji jakości i ilości połączeń międzycząsteczkowych, jak również

wpływa na przebieg procesów tworzenia połączeń apo-koenzym-substrat. Pole elektromagnetyczne prawdopodobnie posiada również zdolność generowania prądów piezoelektrycznych w organizmie (57, 87, 88).

Dla prawidłowego przebiegu większości reakcji zachodzących w organizmach żywych niezbędna jest woda, stanowiąca nie tylko środowisko, ale substrat reakcji. Udowodniono, że pod wpływem pola magnetycznego woda zmienia swoje właściwości fizyczne (27, 88).

Spektrograficzna analiza wody poddanej działaniu pola elektromagnetycznego wykazała, że w zależności od rodzaju zastosowanego pola, występowała absorpcja zakresu 200-400nm widma UV. Woda nie poddana działaniu pola nie wykazuje, żadnych właściwości absorpcyjnych. Prawdopodobnie, pole elektromagnetyczne wpływa na dipole wody, modyfikując wytwarzanie wiązań między elektronami poszczególnych cząsteczek. Następuje niejako porządkowanie struktury wody w fazie ciekłej. To działanie powoduje utrzymywanie się takiej zmodyfikowanej struktury przez wiele godzin od ekspozycji (5, 66).

Woda z normalnej instalacji wodociągowej poddana działaniu zewnętrznego pola magnetycznego wykazuje przyspieszenie krystalizacji, wzrost stężenia rozpuszczonych w niej gazów (głównie O<sub>2</sub>). Przyspieszeniu ulegają procesy sedymentacji i koagulacji, występuje także zmiana pH, maleje również lepkość wody, zmianie ulega również przewodnictwo elektryczne. Zastosowanie tak spreparowanej wody np. do nawadniania roślin powoduje ich 20-40% zwiększenie wzrostu, jak również przyspieszenie proliferacji mikroorganizmów w hodowlach (37, 82, 88).

## *Hipoksja a mikrokrążenie płucne*

Przegrody międzypęcherzykowe oddzielają od siebie przestrzenie powietrzne pęcherzyków płucnych. Na ich poziomie odbywa się wymiana gazowa między powietrzem a krwią. Komórki wyściełające pęcherzyki płucne ściśle do siebie przylegając, są ułożone na błonie podstawnej. W przegrodach przebiegają naczynia włosowate wyściełone śródbłonkiem, posiadającym własną błonę podstawną. W niektórych miejscach stykające się ze sobą błony podstawne nabłonka oddechowego i śródbłonka naczyń włosowatych tworzą litą warstwę. W przegrodach obecne są także fibroblasty, leukocyty, makrofagi, komórki tuczne, pojedyncze komórki kurczliwe zawierające aktynę i miozynę, oraz włókna nerwowe, sprężyste i kolagenowe. Nabłonek pęcherzyków płucnych składa się z pneumocytów typu I, pokrywających 95% powierzchni pęcherzyków i pneumocytów typu II, leżących pomiędzy nimi.

W skład mikrokrążenia płucnego wchodzi arteriole (najdrobniejsze tętniczki), metaarteriole, kapilary (naczynia włosowate) i wenule (postkapilarne żyłki). Naczynia włosowate stanowią tę część układu naczyniowego płuc, która jest odpowiedzialna za wymianę gazową. W miejscach odgałęzień od prekapilarów, znajdują się skupiska miocytów, stanowiące zwieracze przedwłośniczkowe, regulujące przepływ krwi przez określone obszary naczyń włosowatych. Śródbłonek kapilarów wchodzi w skład bariery krew- powietrze. Komórki śródbłonka leżą na blaszce podstawnej, która obejmuje nieliczne perycyty (23).

Hipoksja przyczynia się do wzrostu aktywności Czynnika Indukowanego przez Hipoksję (Hypoxia Inducible Factor - HIF-1), który powoduje uczynnianie szeregu genów prowadzących do ekspresji takich substancji białkowych jak: Erytropoetyna, Naczyniowy Śródbłonkowy Czynniki Wzrostu – (VEGF – Vascular Endothelial Growth Factor), Oksygenaza Hemowa Typu 1,

Indukowalna Syntaza Tlenku Azotu. Wszystkie one biorą następnie udział w fizjologicznych i patofizjologicznych procesach toczących się w płucach poddanych niedotlenieniu (58, 63, 75, 77, 81, 90).

VEGF aktywizuje komórki śródbłónka poprzez wzmożenie ekspresji P-selektyny i ułatwianie adhezji granulocytom z jądrem wielopostaciowym (89). Warunkuje on także tworzenie okienek (fenestrae) jak i powstawanie nowego organellum komórkowego, jakim jest organellum pęcherzykowo-wodniczkowe (34, 52). Te procesy oprócz zwiększenia przepuszczalności błon komórek śródbłónka przyczyniają się do złuszczenia się nabłónka oskrzeli, wzmożonej migracji neutrofilów do tkanki płucnej, oraz wzmożonej degranulacji komórek tucznych. Te ostatnie, zgromadzone wokół żyłek i zakończeń nerwowych, wydzielają prostaglandynę E<sub>2</sub>, serotoninę i histaminę, regulują napięcie mięśniówki naczyń, oraz modulują aktywność przekąźnictwa nerwowego (58). Przewlekła ekspozycja na hipoksję powoduje zwiększenie ilości lamininy i fibronektyny w blaszce podstawnej śródbłónka i błonie środkowej dużych i małych tętnic płucnych (8, 23).

Badania prowadzone wśród Indian peruwiańskich zamieszkujących tereny położone ok.4330 m n.p.m. wykazały, że ich tętniczki płucne posiadają grubą błonę środkową, zbudowaną z dwóch blaszek sprężystych pomiędzy którymi znajduje się warstwa okrężnie ułożonych komórek mięśni gładkich. Dalsze badania mieszkańców La Paz udokumentowały obecność komórek mięśniowych także w błonie wewnętrznej małych tętnic i tętniczek przegród pęcherzykowych. Podobne zmiany można stwierdzić również u pacjentów nie zamieszkujących terenów górskich, lecz u których rozwinęła się hipoksemia wskutek przewlekłej obturacyjnej choroby płuc (COPD - Chronic Obstructive Pulmonary Disease). Wspólną cechą wszystkich tych przypadków jest więc występowanie rozbudowanej warstwy mięśni gładkich w tętniczkach przegród pęcherzykowych (39, 46, 56, 77).

O stopniu zmian naczyniowych i objawach pierwotnego nadciśnienia płucnego, oprócz czasu trwania i nasilenia bodźca, decyduje w dużej mierze wiek osobnika poddanego działaniu hipoksji. Jeśli narażenie na nią występuje w okresie okołoporodowym lub w okresie noworodkowym, odpowiedź na bodziec jest znacznie większa, mimo jego słabszego natężenia, niż u osobników poddanych hipoksji w wieku dorosłym. Zmiany te mimo przywrócenia fizjologicznych warunków nie cofają się całkowicie. Pozostaje prawie ciągła warstwa atroficznych miocytów, oraz sprężysta blaszka wewnętrzna. Te trwałe przekształcenia posiadają niebagatelne znaczenie w rozwoju silnej skurczowej reakcji naczyń płucnych u dorosłych osobników powtórnie poddanych hipoksji (1, 7, 9, 13).

Wzrost i proliferacja miocytów naczyń płucnych są indukowane i sterowane przez system przekaźników i receptorów umieszczonych na powierzchni i we wnętrzu komórek mięśni gładkich. Największe znaczenie odgrywają prawdopodobnie czynniki wzrostu, pochodzące z komórek śródbłonna, powodujące także skurcz naczyń krwionośnych. Istnieje więc korelacja między proliferacją komórek mięśniowych a skurczem naczyń. Najlepiej poznanymi czynnikami są: Endotelina – 1 (ET-1) i jej izoformy (ET-2 i ET-3), oraz Płytkowy Czynniki Wzrostu (PDGF - Platelet Derived Growth Factor). Bodźcem pierwotnym do ich zadziałania obok hipoksji, może być także rozciągnięcie naczynia. Ich prawdopodobnymi antagonistami są naturalne wazodylatatory : tlenek azotu (NO), oraz Prędionkowy Peptyd Natriuretyczny (ANF - Atrial Natriuretic Factor ) (3, 70, 71, 79, 80).

Sposób w jaki hipoksja prowadzi do procesów proliferacyjnych w płucach pozostaje nie znany. Prawdopodobnie obok działania sił rozciągających tkankę płucną i rozszerzających łożysko naczyniowe, nie bez znaczenia są obniżone stężenia tkankowych inhibitorów wzrostu i podwyższone stężenia auto-, para- i endokrynych czynników wzrostu (22, 35, 36, 70, 71).

W tkance płucnej dużej ekspresji podlega ET-1 oraz ET-3, co świadczy o ich znaczeniu w regulacji napięcia naczyń płucnych (21, 53, 76, 78). W wyniku poddania dorosłych szczurów hipoksji następuje wzrost ekspresji mRNA dla preproendoteliny. Ten wzrost jest jednakże niezależny od tego, czy osobniki były narażone na hipoksję już w okresie okołoporodowym (41). Wydaje się prawdopodobnym, że ET wydzielana przez komórki śródbłonka nie działa tylko w sposób parakrynnny na miocyty, ale także w sposób autokrynnny na komórki śródbłonka. Mechanizm poendotelinowej wazodylatacji związany byłby więc z uwalnianiem tlenu azotu, oraz prostaglandyn z komórek śródbłonka (1, 41). Obserwowany skurcz naczyń tętniczych jest związany z uwalnianiem endogennych endotelin działających poprzez receptor endotelinowy (ETB). Wzrost produkcji tlenu azotu (NO) w warunkach hipoksji również indukowany jest poprzez receptor ETB (90).

Pochodzący z komórek śródbłonka tlenek azotu (NO) jest uwalniany zarówno do światła naczyń, gdzie inaktywuje płytki krwi, jak i poza to światło, gdzie powoduje rozkurcz mięśni gładkich naczyń krwionośnych. Wpływa on także na ekspresję genów warunkujących syntezę czynników wzrostu takich jak VEGF i PDGF, śródbłonkowych cząstek adhezyjnych, oraz czynników warunkujących skurcz naczyń, jak np. endotelina.

Ciągłe wdychanie NO przez szczury znajdujące się w warunkach przewlekłej hipoksji, hamuje rozwój nadciśnienia płucnego i częściowo zapobiega przebudowie naczyń płucnych (1, 38).

W przypadku szczurów, u których rozwinęło się nadciśnienie płucne ze względu na działanie przewlekłej hipoksji, występuje wzmożona ekspresja eNOS (śródbłonkowa syntaza NO), a co za tym idzie i produkcja NO (47).

Zaburzenia syntezy NO są więc zarówno przyczyną jak i konsekwencją zmian naczyniowych w płucach. Jednak progresja nadciśnienia płucnego wydaje się być zależna od stężenia NO (65).

W ścianach drobnych tętnic płucnych szczurów, u których występuje nadciśnienie płucne spowodowane hipoksją wzrasta ekspresja enzymu konwertującego angiotensynę (ACE – Angiotensin Converting Enzyme). W badaniach oceniających stopień inkorporacji H<sup>3</sup>-tymidyny do izolowanych komórek mięśni gładkich obwodowych tętnic płucnych szczurów, wykazano jej wzrost pod wpływem angiotensyny II (ANG II). Można na tej podstawie podejrzewać, że miejscowe uwalnianie ANG II w naczyniach płucnych wpływa na przebudowę tychże naczyń (33, 59, 61).

Różne bodźce prowadzące do wzrostu ciśnienia w krążeniu płucnym powodują przebudowę naczyń płucnych. W pracach określających stopień cofania się tych zmian w wyniku przywrócenia warunków fizjologicznych, wykazano działanie takich mechanizmów, jak cofanie się hiperplazji komórek naczyń płucnych, apoptozę, ograniczenie produkcji, lub wręcz degradację substancji zewnątrzkomórkowej (19, 50, 85, 86).

W przypadku szczurów poddanych przewlekłej hipoksji, po zaprzestaniu jej działania spadała zawartość fibronektyny i lamininy w ścianach naczyń płucnych. Występowały także przekształcenia układu włókien błony sprężystej.

Obserwacje te dowodzą odwracalności zmian naczyniowych, które rozwinęły się pod wpływem nadciśnienia płucnego wywołanego hipoksją.

## 2. Założenia i cel pracy.

Obecne badania mają na celu ocenę ultrastrukturalną elementów morfologicznych, wchodzących w skład mikrokrażenia tkanki płucnej, ze szczególnym uwzględnieniem śródbłonna naczyń krwionośnych i nabłonka wyściełającego pęcherzyki płucne u zwierząt, które poiono wodą poddaną działaniu zewnętrznego pola magnetycznego.

Na podstawie wcześniej przeprowadzonych badań(37) z zastosowaniem odpowiednio przygotowanej wody, stwierdzono jej korzystny wpływ na procesy metaboliczne toczące się w wątrobie zwierząt doświadczalnych. Znalazło to również wyraz w ocenie ultrastruktury hepatocytów. Prawidłowa podziałowość cytoplazmy, modelowe ukształtowanie organelli komórkowych i brak jakichkolwiek znamion działań destrukcyjnych, przemawiają za jej bezwzględnie dodatnim wpływem na strukturę hepatocytów.

W ostatnich latach rozwój metod zastosowania pól magnetycznych w badaniach klinicznych niejednokrotnie wspomaga, lub zastępuje klasyczną terapię farmakologiczną.

Nie wszystkie mechanizmy oddziaływania pól magnetycznych, dające pozytywne efekty w leczeniu niektórych schorzeń, zostały dogłębnie poznane. Istnieje jednak bogate piśmiennictwo dotyczące korzystnego działania pól magnetycznych. W całym szeregu doniesień, warte szczególnego podkreślenia są wyniki uzyskane w terapii gojenia się ran, oparzeń, owrzodzeń podudzi, zmian troficznych skóry, jak również w procesie osteosyntezy w przypadku opóźnionych zrostów kostnych lub stawów rzekomych. Uwzględnić należy również pozytywny wpływ pól magnetycznych na układ krążenia poprzez obserwowany efekt wazodilacyjny (15).

Nie można wykluczyć, że przyczyną tych efektów na poziomie molekularnym, może być oddziaływanie pola z diamagnetycznymi molekułami i paramagnetycznymi atomami wody poddanej działaniu pola magnetycznego,

o której wiadomo, że jako najpospolitszy rozpuszczalnik i idealny półprzewodnik, pod wpływem pola magnetycznego nabywa wyjątkowych właściwości rekombinacji protonów i elektronów.

Prowadzenie badań podstawowych w zakresie analizy wpływu tzw. wody magnetyzowanej ważne jest między innymi dlatego, że coraz powszechniej stosowane są magnetyzery, mające na celu poprawę jakości wody spożywczej.

Zawsze jednak może rodzić się pytanie czy spożywanie tak spreparowanej wody nie nosi w sobie negatywnych skutków.

Hipoksję hipoksyczną, która w swoim przebiegu i następstwach może prowadzić do groźnych dla zdrowia i życia skutków w wyniku zaistniałych zmian w tkance płucnej, wybrałam jako model doświadczalny na zwierzętach dla sprecyzowania odpowiedzi na następujące pytania:

- 1) Jakie skutki wywołuje przewlekła, doświadczalna hipoksja hipoksyczna w komórkach wchodzących w skład mikrokrażenia płucnego u zwierząt doświadczalnych.**
- 2) Jaki wpływ wywiera woda, poddana działaniu pola magnetycznego na zmiany wywołane hipoksją hipoksyczną u zwierząt doświadczalnych.**

### 3. Materiał i metodyka

#### *a) materiał*

Badania na zwierzętach doświadczalnych przeprowadzono po uzyskaniu zgody Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach w Katowicach – Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach (nr opinii-35/00).

Szczury samice rasy Sprague Dawley pochodziły z hodowli Centralnej Zwierzętarni ŚIAM w Katowicach-Ligocie, prowadzonej pod kierownictwem prof. ŚIAM dr hab. Artura Stojko.

Do badań użyto 20 dojrzałych płciowo zwierząt o masie ciała 250g ( $\pm 20$ ), utrzymywanych w warunkach standardowych: temperatura pomieszczenia wynosiła 20-22°C, oświetlenie zmieniano w cyklu 12 godzinnym (7<sup>00</sup>-19<sup>00</sup>) faza jasna (20<sup>00</sup>-7<sup>00</sup>) faza ciemna.

Zwierzęta karmione paszą, mieszanka GLM (producent GAN-RAT), miały dowolny dostęp do wody pitnej (wody zwykłej jak i magnetyzowanej).

Warunki hipoksji hipoksycznej uzyskano w komorze niskich ciśnień o objętości 3m<sup>3</sup>, w której parametry doświadczalne ustawiono na następujące wartości:

- ciśnienie 380 mm Hg
- zawartość tlenu 10%
- temperatura 22°C
- wilgotność 65,7%

(odpowiadają one warunkom istniejącym na wysokości 5000m n.p.m)

Zwierzęta podzielono na następujące grupy:

Grupa kontrolna Ia: 5 szczurów, które pocono wodą z normalnej instalacji wodociągowej przebywało poza komorą niskich ciśnień.

- Grupa kontrolna Ib: 5 szczurów, które poiono wodą poddaną działaniu pola magnetycznego przebywało również poza komorą niskich ciśnień.
- Grupa doświad. IIa: 5 szczurów, które przebywały w komorze niskich ciśnień, w której wywołano warunki hipoksji, poiono wodą z normalnej instalacji wodociągowej.
- Grupa doświad. IIb: 5 szczurów, które przebywały w komorze niskich ciśnień poiono wodą poddaną uprzednio działaniu pola magnetycznego.

Szczury grup doświadczalnych IIa IIb przebywały w komorze hipoksyjnej przez 30 dni, wyjmowane były codziennie na okres 1 godziny celem wymiany ściółki, uzupełnienia karmy i wody. Dwutlenek węgla eliminowano stosując pochłaniacze chemiczne.

## *b) aparatura*

Woda bieżąca z normalnej instalacji wodociągowej o temperaturze poniżej 30°C i przepływie nie mniejszym niż 0,5 m/sek została poddana magnetyzacji w specjalnie skonstruowanym urządzeniu zwanym RAM (rurowy aparat magnetyczny), którego właścicielem jest firma Feniks. Urządzenie jest opatentowane numerem patentowym 155856 (rys. 1).

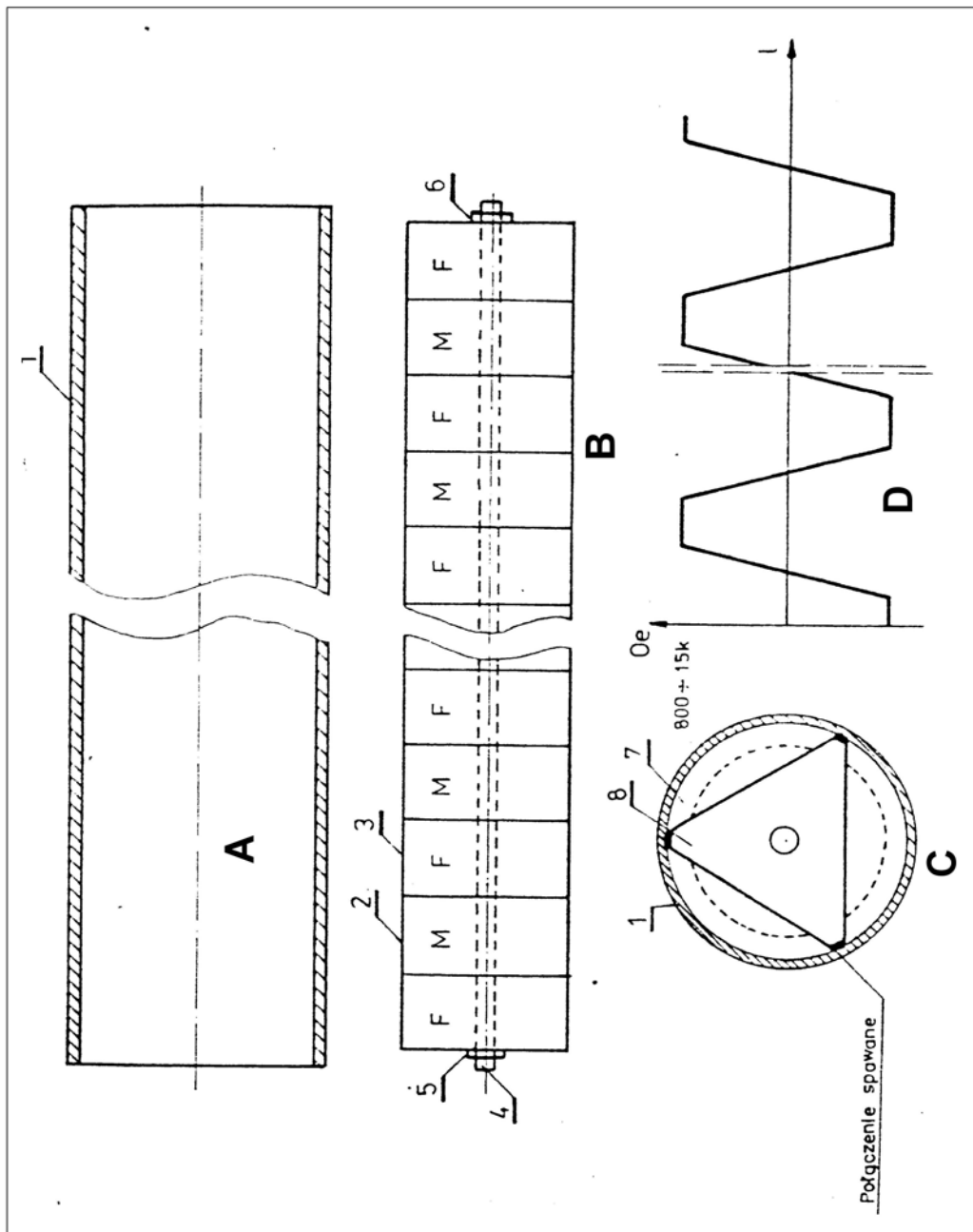
Wspomniane urządzenie do magnetyzacji cieczy zawiera stos magnetyczny w elemencie rurowym, składającym się z magnesów stałych spiekanego anizotropowego ferrytu baru lub strontu o gęstości energii nie mniejszej niż 26 kJ/m<sup>3</sup> i natężeniu pola magnetycznego nie mniejszym niż 150 kA/m., oraz niemagnetyzowanych krążków ferrytowych baru lub strontu mającego pozostałość magnetyzmu równa połowie magnetyzacji nasycenia i wynoszącą odpowiednio nie mniej niż 420 m T i 210 mT.

Użyta do prowadzonych badań aparatura zawiera stos magnetyczny, który pozwala uzyskać efekt rozproszenia strumienia magnetycznego, w wyniku czego w przepływającej przez RAM wodzie wydłuża się czas relaksacji magnetycznej (czas potrzebny cząsteczce wody do obrotu wokół własnej osi) zmieniając w konsekwencji parametry lepkości i napięcia powierzchniowego i przewodnictwa elektrycznego wypływającej wody.

Czas relaksacji magnetycznej dla zwykłej wody, wody po przepływie przez RAM i wody zdeminielizowanej wynosi odpowiednio: 1100 μsek, 1300 μsek i 1500 μsek (wyniki uzyskane w Instytucie Fizyki Jądrowej w Krakowie). Lepkość wody destylowanej i wody po przejściu przez RAM wynosi odpowiednio: 262,69 sek i 243,84 sek (pomiar wykonano w Laboratorium Elektrowni Rybnik przy użyciu Viskozymetru kapilarnego typu Tomson TV-2000 AKV).

## Schemat urządzenia RAM

- A - odcinek rury stalowej
- B - stos magnetyczny składający się z krążków ferrytowych i magnesów stałych.
- C - stalowa kształtka centrująca stos magnetyczny i obudowę
- D - charakterystyka pola magnetycznego



### *c) badania morfologiczne*

Szczurom, zarówno kontrolnym jak i grup doświadczalnych pobierano w znieczuleniu ogólnym (podano dootrzewnowo 2,5% roztwór thiopentalu w dawce 40 mg/kg ciężaru ciała), z lewego płata górnego płuca wycinki tkankowe o bokach 1mm. Wycinki tkankowe natychmiast wkładano do zimnego płynu utrwalającego (2,5% glutaraldehyd zbuforowany, buforem kakodylowym o pH 7,2), w którym pozostawały przez 2 godziny w temperaturze 4 °C. Następnie płukano je dwukrotnie (po 12 godzin) w buforze kakodylowym. Wtórnie utrwalano wycinki przez dwie godziny w temperaturze 4°C w 1% roztworze czterotlenku osmu ( $O_4$ ) zbuforowanym buforem kakodylowym o pH 7,2.

Rutynowe odwodnienie tkanek we wzrastającym szeregu alkoholowym zakończono tlenkiem propylenu, po czym próbki tkankowe zatopiono w mieszaninie żywic epoksydowych – (Epon 812) i polimeryzowano w kapsułkach żelatynowych w temperaturze cieplarki przez 36 godzin (po 12 godzin w 36°, 42° i 60 °C).

Bloczki eponowe krojono ultramikrotomem firmy Reichert (Oum-3) na skrawki półcienkie grubości 0,5-1  $\mu\text{m}$ ., które nałożone na szkiełka podstawowe, barwiono wodnym roztworem błękitu toluidyny. Preparaty te służyły do obserwacji w mikroskopie świetlnym, oraz uzyskania dokumentacji histomorfologicznej. Służyły również do lokalizacji i ustalenia miejsca do skrawania ultracienkiego.

Skrawki ultracienkie o grubości 0,05  $\mu\text{m}$  nakładano na siatki miedziane (300 mesh) i kontrastowano roztworami octanu uranylu i cytrynianu ołowiu (67). Obserwacje ultrastruktury materiału tkankowego i dokumentację fotograficzną wykonano w mikroskopie elektronowym JEM 100CX - firmy JEOL.

Badania przeprowadzono w pracowni mikroskopii elektronowej Katedry Histologii i Embriologii w Zabrze, Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach.

## **4. Wyniki Badań**

**Dokumentacja fotograficzna  
badań morfologiczno-ultrastrukturalnych**

**Zdjęcia skrawków pólciennych tkanki płucnej szczurów barwione błękitem toluidyny (zdjęcia 1-8).**

Ryc.1 Skrawek tkanki płucnej szczura z grupy Ia.

Widoczne są przewody pęcherzykowe, oraz pęcherzyki płucne.

Powiększenie 250x.

Ryc.2 Skrawek tkanki płucnej szczura z grupy Ia.

W większym powiększeniu graniczące ze sobą pęcherzyki płucne.

Powiększenie 1000x.

Ryc.3 Skrawek tkanki płucnej szczura z grupy Ib.

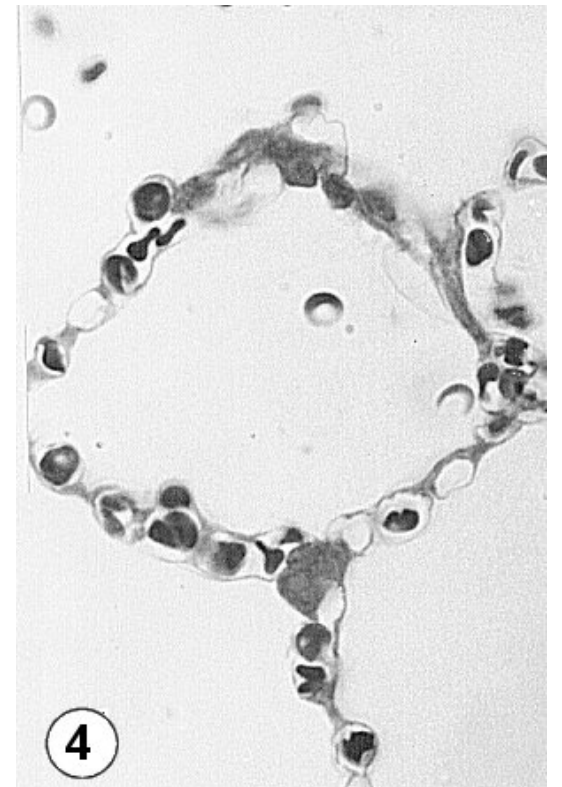
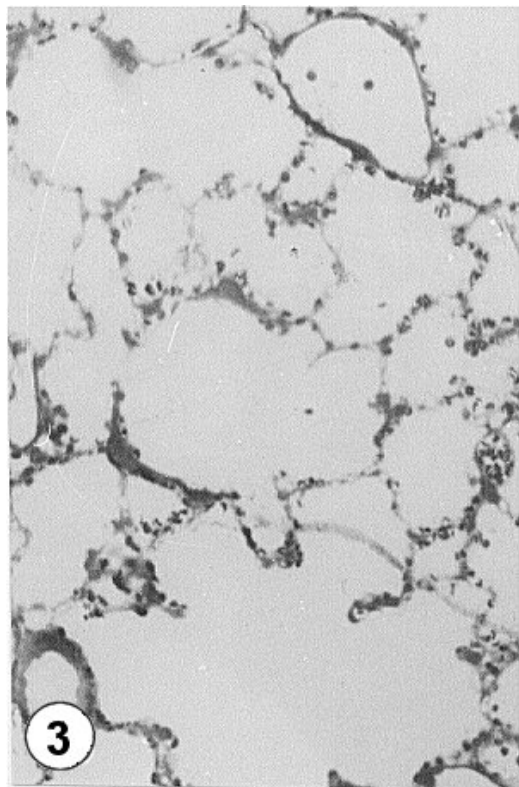
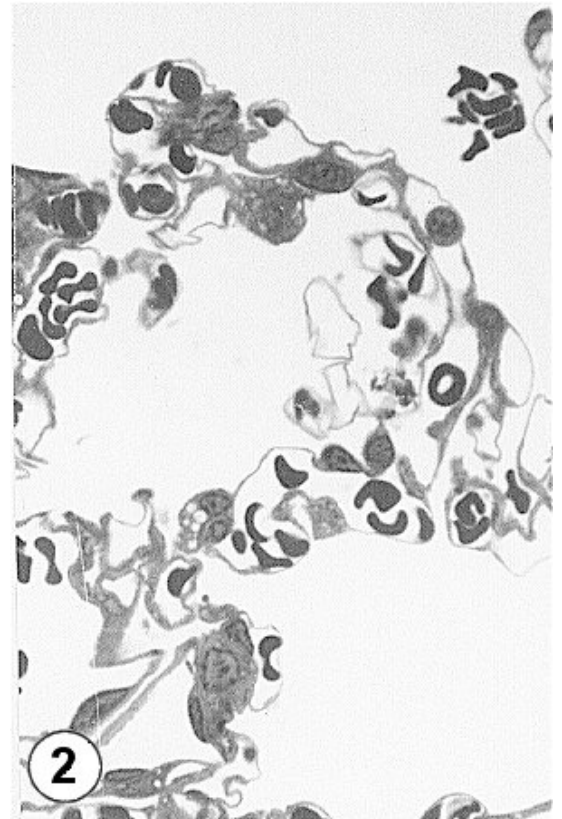
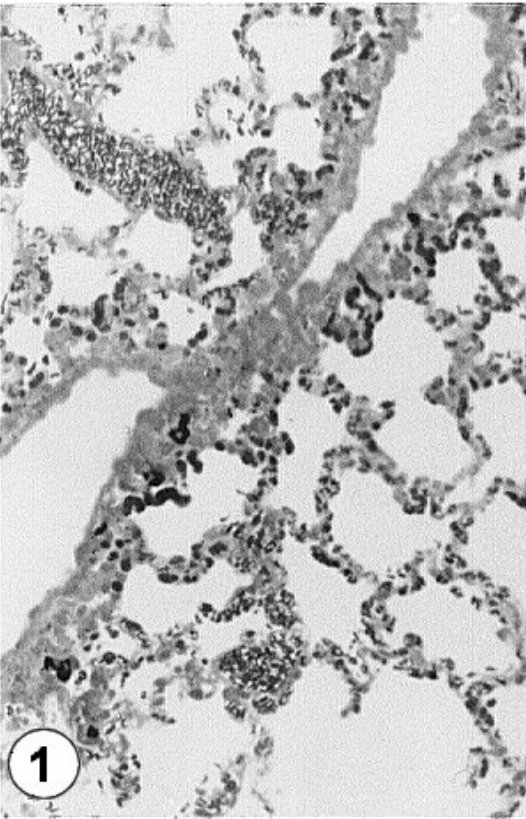
Widoczne są woreczki pęcherzykowe oraz pęcherzyki płucne o nieco poszerzonym świetle.

Powiększenie 250x.

Ryc.4 Skrawek tkanki płucnej szczura z grupy Ib.

W większym powiększeniu widoczne są pęcherzyki płucne oddzielone od siebie delikatnymi przegrodami międzypęcherzykowymi.

Powiększenie 1000x.



Ryc.5 Skrawek tkanki płucnej szczura z grupy IIa.

Widoczne są przewody pęcherzykowe oraz różnych rozmiarów pęcherzyki płucne.

Powiększenie 250x.

Ryc.6 Skrawek tkanki płucnej szczura z grupy IIa.

Widoczne są pogrubiałe błony podstawne przegród międzypęcherzykowych.

Powiększenie 1000x.

Ryc.7 Skrawek tkanki płucnej szczura z grupy IIb.

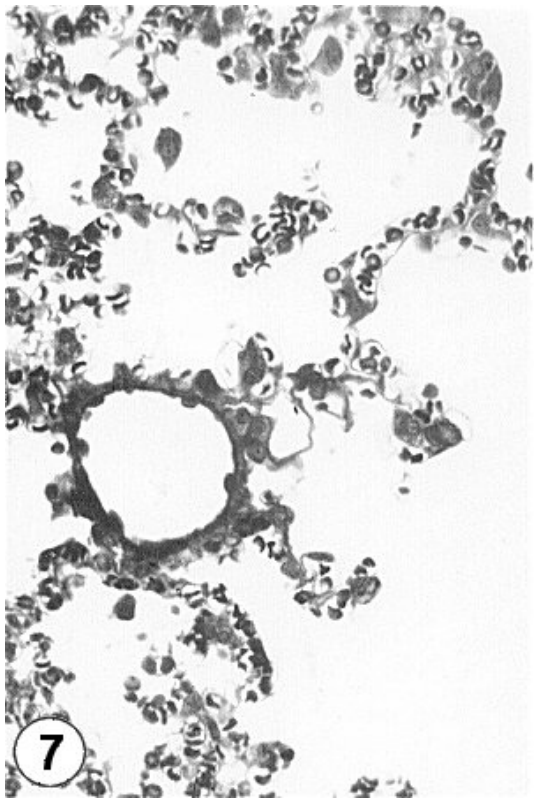
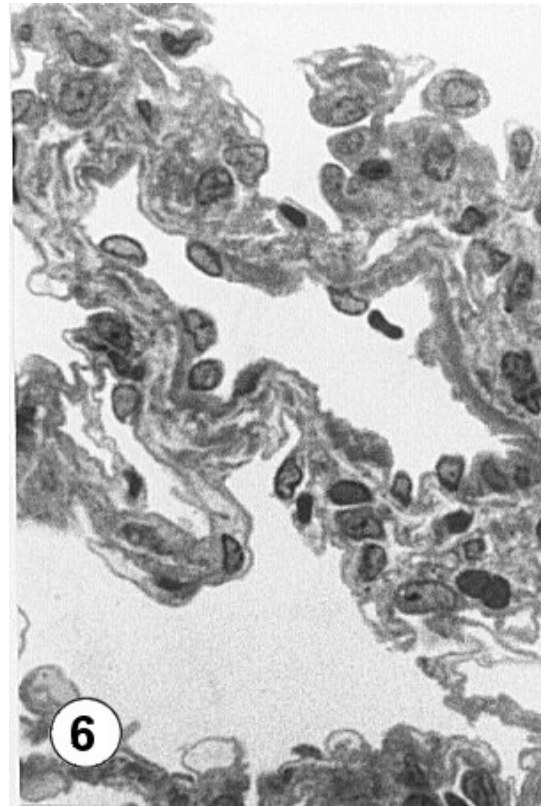
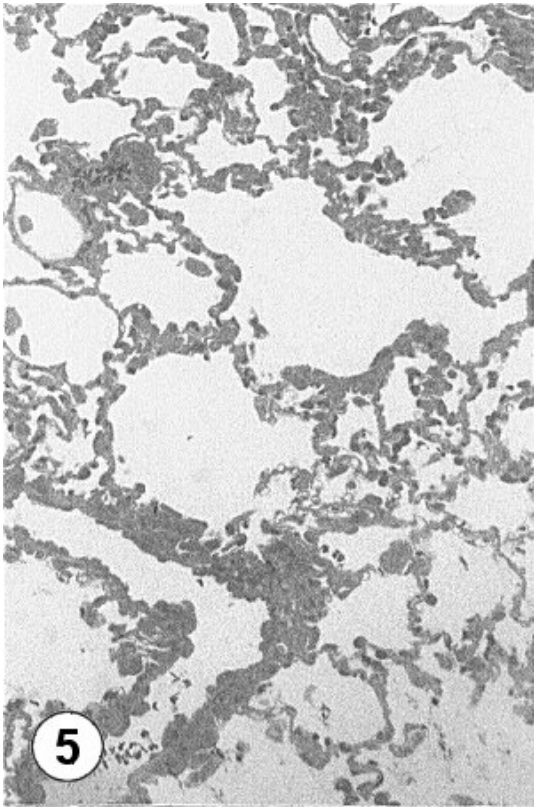
Widoczny na zdjęciu oskrzelik oddechowy, woreczki pęcherzykowe, oraz pęcherzyki płucne.

Powiększenie 450x.

Ryc.8 Skrawek tkanki płucnej szczura z grupy IIb.

Widoczne są przekroje przez pęcherzyki płucne wraz z przegrodami międzypęcherzykowymi, mniej zaznaczone pogrubienie przegród.

Powiększenie 1000x.



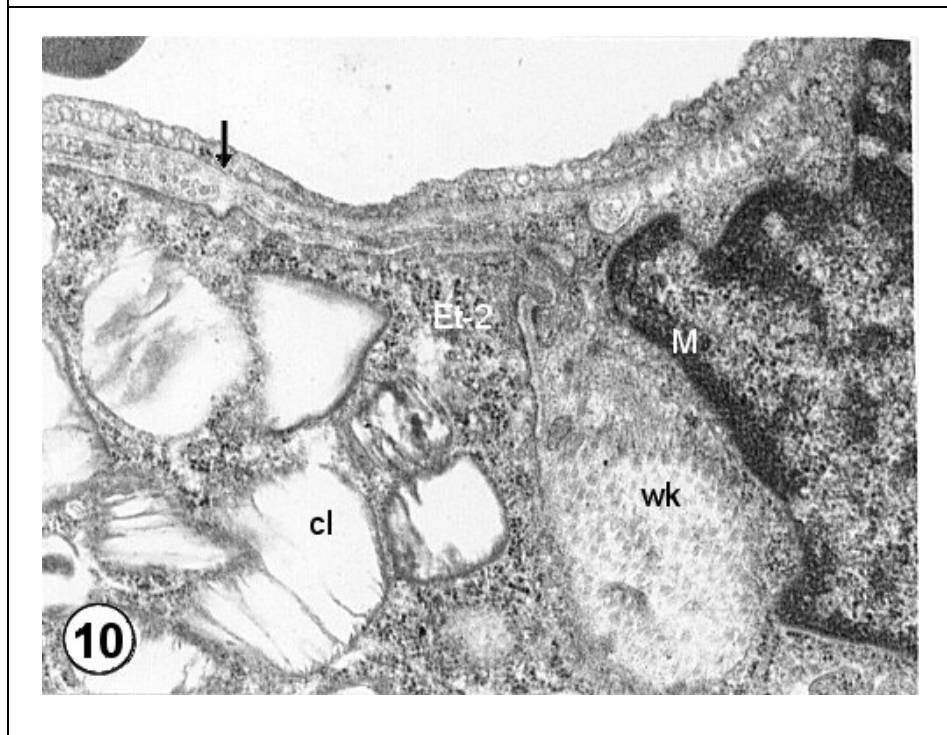
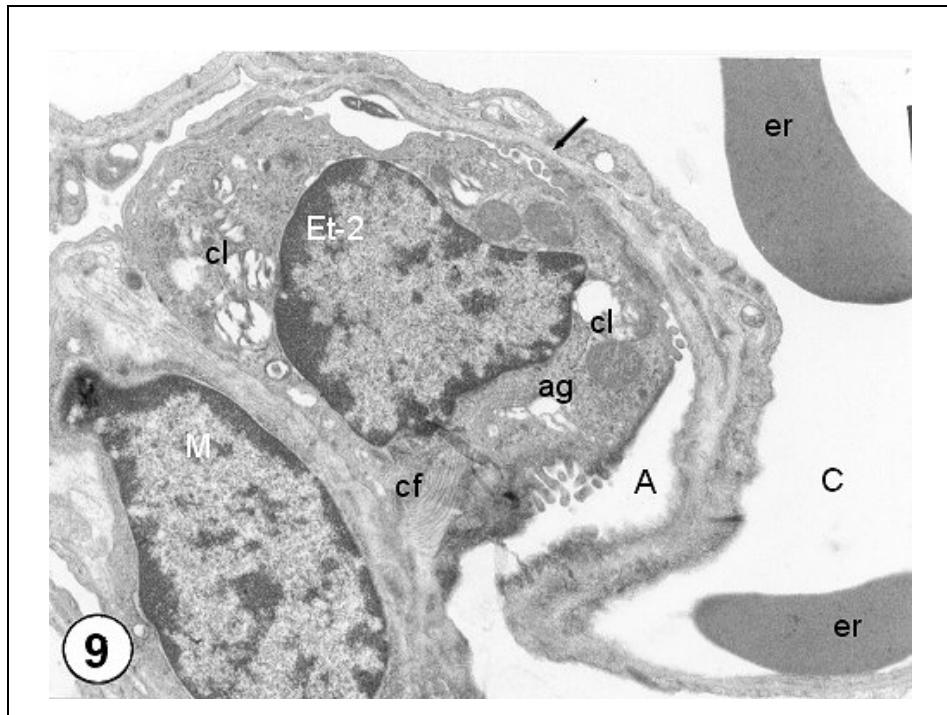
**Elektronogramy preparatów tkanki płucnej zwierząt z grupy kontrolnej Ia  
pojonnych wodą zwykłą (ryc. 9-12).**

Ryc.9 Fragment tkanki płucnej z pneumocytom typu 2 (Et-2) w bliskim sąsiedztwie z monocytom (M). Po prawej stronie widoczne są erytrocyty (er) w świetle naczynia włosowatego (C). Pneumocyt typu II charakteryzuje się obecnością licznych ciał lamelarnych (cl). W szczytowej partii komórki skierowanej do światła pęcherzyka (A) widoczne są mikrokosmki. W cytoplazmie obserwuje się dobrze rozbudowany aparat Golgiego (ag). Bariera krew-powietrze (strzałka) wykazuje regularny układ komórek śródbłonka naczyniowego, zespolonych blaszek podstawnych i płytki cytoplazmatycznej komórek nabłonka typu 1. W zrębie przegrody międzypęcherzykowej widoczne są skupiska tkanki łącznej (cf).

Powiększenie 5000x.

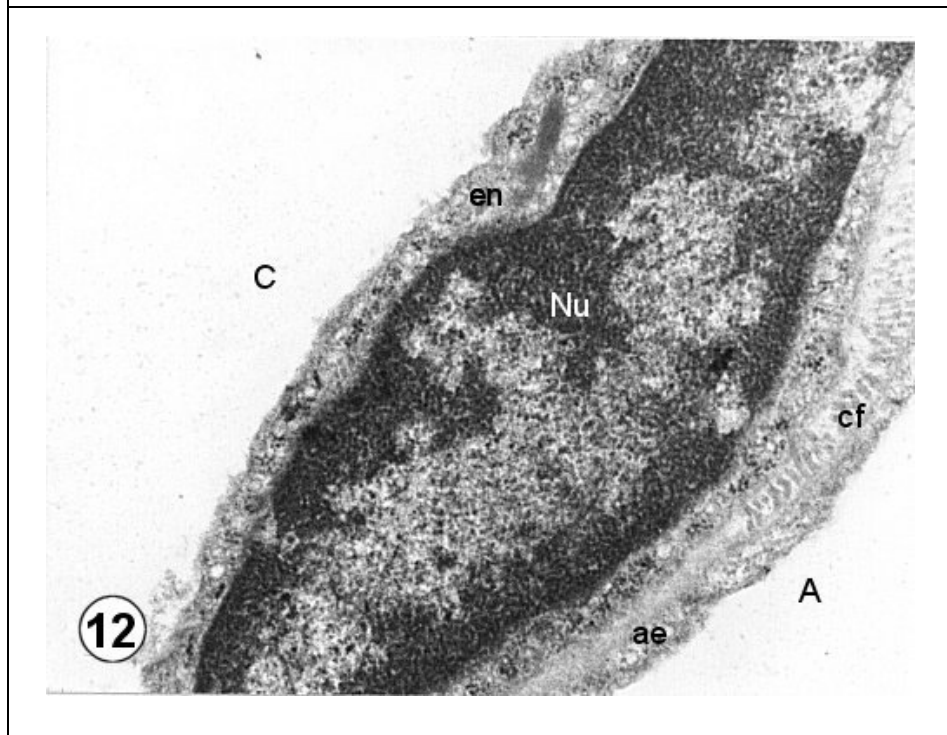
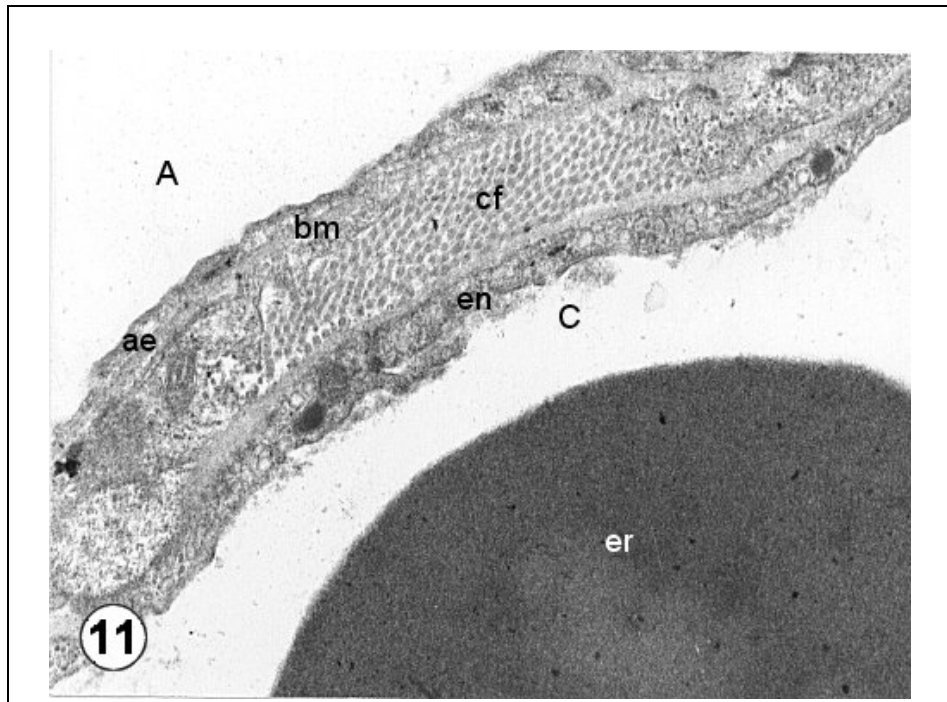
Ryc.10 Fragment pęcherzyka płucnego. Po lewej stronie elektronogramu wycinek pneumocytu typu 2 (Et-2) z licznymi ciałkami lamelarnymi (cl). W zrębie przegrody pęcherzykowej, po prawej stronie widoczny jest fragment jądra monocytu (M), oraz skupisko włókien łączno-tkankowych (wk). Strzałka wskazuje na śródbłonek wyścielający naczynie włosowate leżące na błonie podstawnej.

Powiększenie 19000x.



Ryc.11 Fragment spłaszczonej przegrody międzypęcherzykowej, w jej zrębie widoczne są przekroje poprzeczne włókien łącznotkankowych (cf). Komórki śródbłonka (en) naczyń włosowatych (C) spoczywają na błonie podstawnej. W cytoplazmie tych komórek występują pęcherzyki pinocytarne. W świetle naczyń widoczny fragment krwinki czerwonej (er). Światło pęcherzyka płucnego (A) wyściela płaska blaszka cytoplazmatyczna (ae), pneumocytu typu 1 pokrywająca cienką błonę podstawną. Powiększenie 16500x.

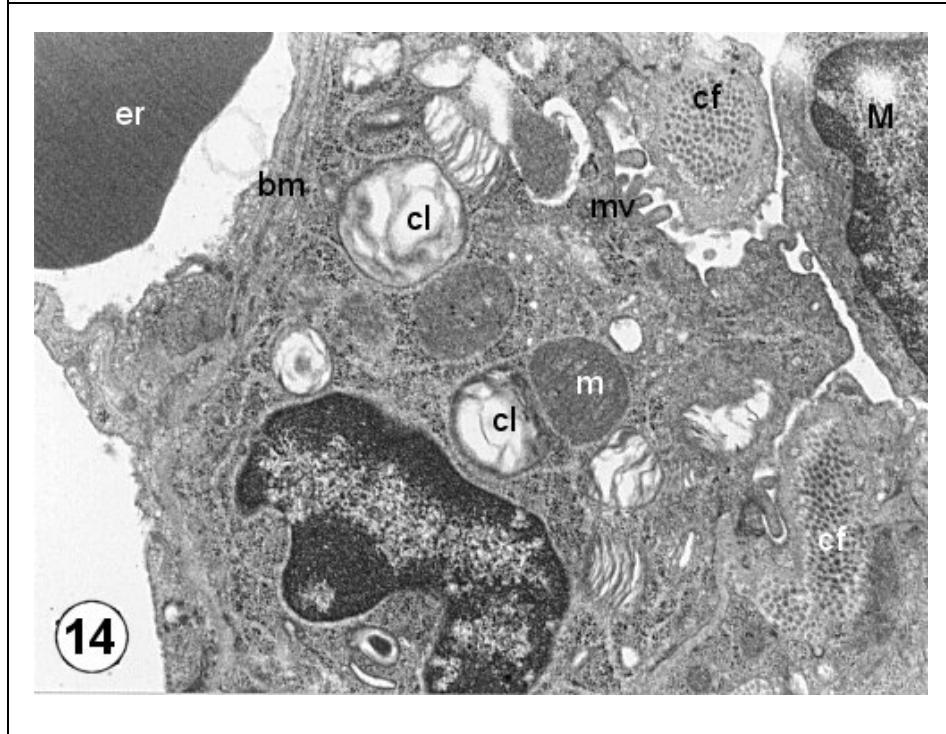
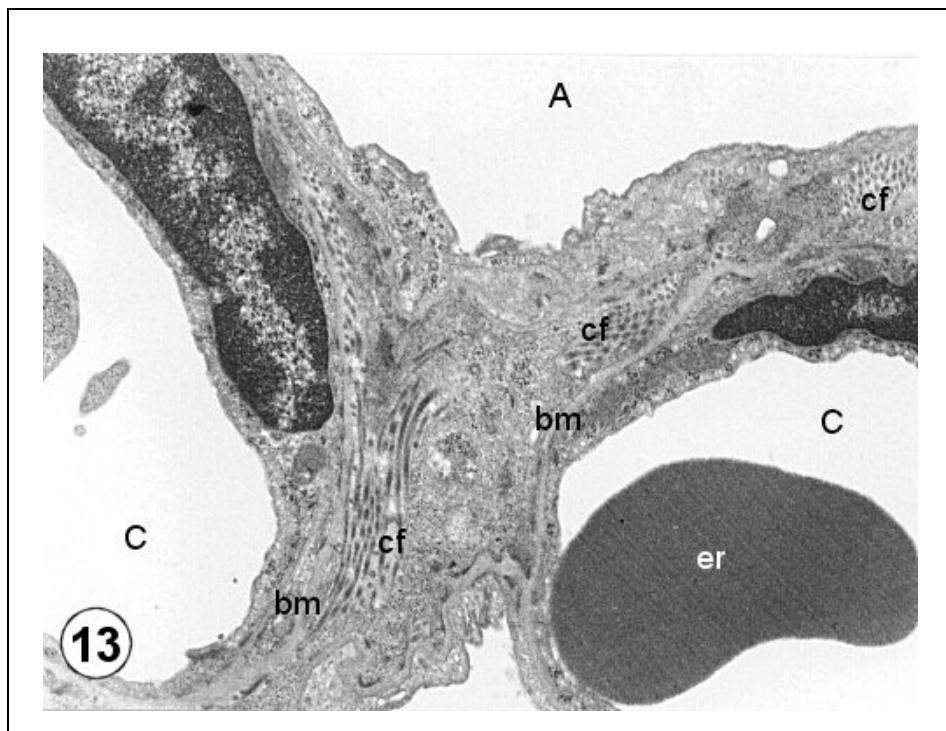
Ryc.12 Fragment komórki śródbłonka z jądrem komórkowym (Nu), z brzeżnie ułożoną chromatyną. Po lewej stronie obrazu światło naczyń włosowatych wyścielone wąskim pasmem cytoplazmatycznym (en). W prawym rogu elektronogramu światło pęcherzyka wyścielone wąskim pasmem cytoplazmatycznym (ae) spoczywającym na błonie podstawnej. W poszerzonej części widoczne są włókienka tkanki łącznej (cf). Powiększenie 19000x.



**Elektronogramy preparatów tkanki płucnej zwierząt z grupy kontrolnej Ib  
pojonnych wodą magnetyzowaną (ryc. 13-16).**

Ryc.13 Fragment przegrody międzypęcherzykowej na styku dwóch naczyń włosowatych(C), z jądrami komórek śródbłonkowych. W zrębie przegrody liczne wiązki struktur włóknistych (cf). Błony podstawne (bm) leżące między komórkami śródbłonka i nabłonka wyściełającego pęcherzyk płucny (A) wykazują regularny przebieg. er – krwinka czerwona.  
Powiększenie 6600x.

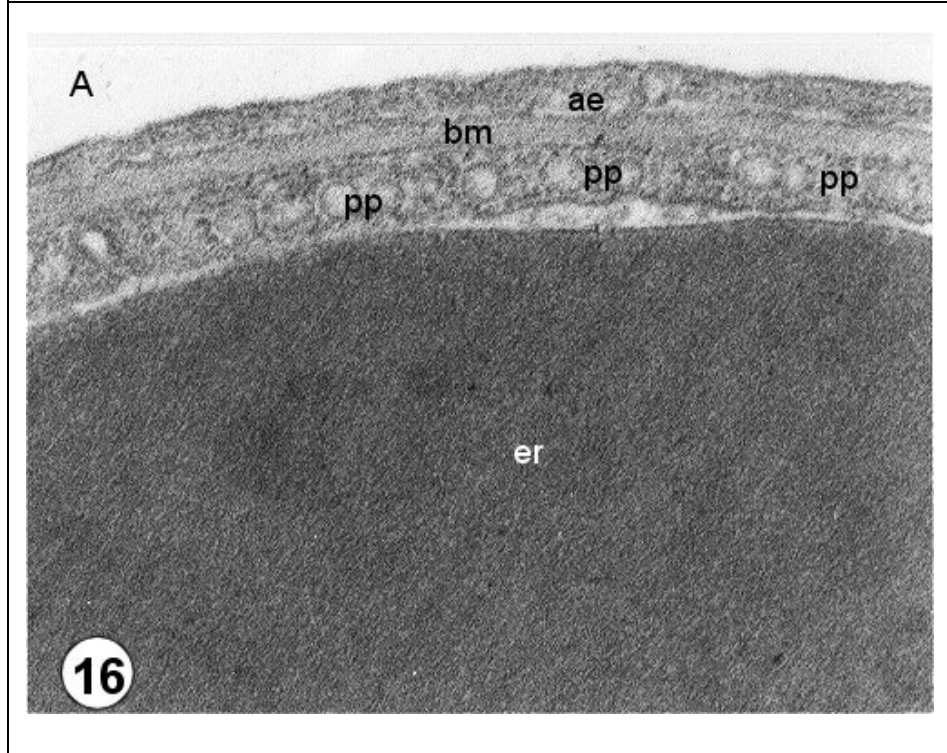
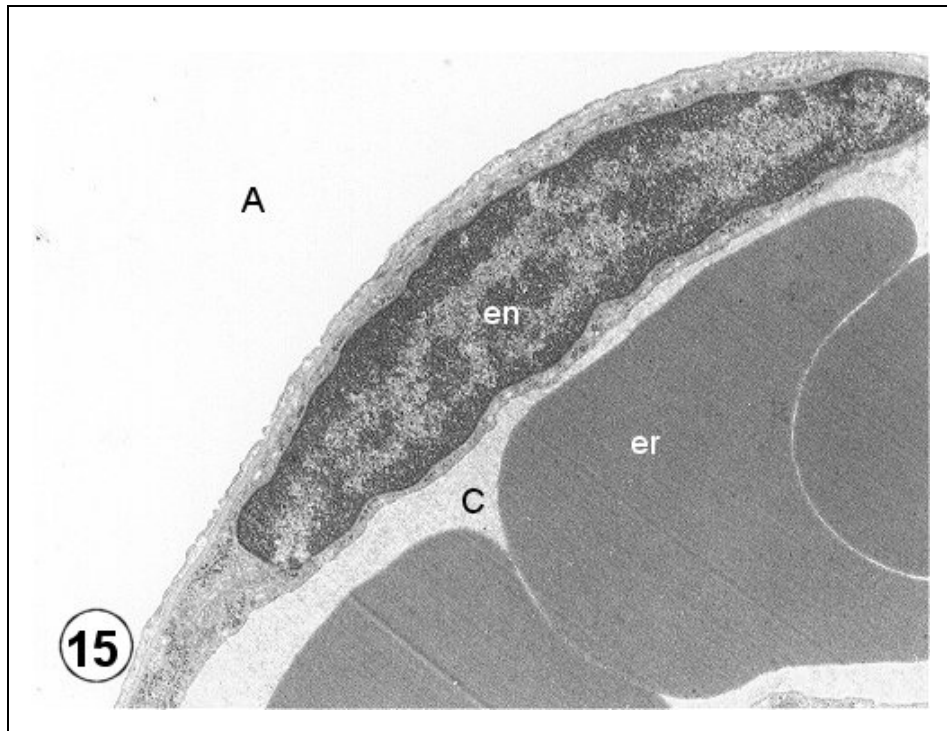
Ryc.14 Duży fragment pneumocytu typu 2 z licznymi ciałkami lamelarnymi (cl) wypełnionymi strukturami blaszkowatymi. Mitochondria (m) wykazują prawidłowe ukształtowanie. W cytoplazmie podstawowej znajdują się zarówno kanaliki sieci endoplazmatycznej szorstkiej, jak i wolno leżące rybosomy. W zrębie przegrody występują liczne struktury włókniste (cf). W prawym górnym rogu zdjęcia widoczny fragment monocytu (M).  
Powiększenie 6600x.



Ryc.15 Fragment naczynia włosowatego (C) ze spłaszczonym jądrem komórki śródbłonka (en). Od strony światła naczynia (C) komórka posiada wąskie pasmo cytoplazmy. Od strony światła pęcherzyka płucnego (A) równie delikatna wyściółka cytoplazmatyczna pneumocytu typu 1. Powiększenie 6600x.

Ryc.16 Fragment bariery krew-powietrze w dużym powiększeniu.

Płytkę cytoplazmatyczną śródbłonka naczynia włosowatego wykazuje liczne pęcherzyki pinocytarne (pp). Erytrocyt (er) przylega do światła naczynia włosowatego. Od strony światła pęcherzyka płucnego (A) widoczna jest blaszka cytoplazmatyczna pneumocytu typu 2 (ae) przylegająca do wspólnej błony podstawnej (bm). Powiększenie 33000x.



**Elektronogramy preparatów tkanki płucnej zwierząt z grupy doświadczalnej IIa poddanych hipoksji i pojonych wodą zwykłą (ryc. 17-22).**

Ryc.17 Przekrój przez przegrodę międzypęcherzykową z dwoma naczyniami włosowatymi wypełnionymi krwinkami czerwonymi (er).

Pomiędzy śródbłonkami (en) a komórkami pęcherzykowymi widoczny jest pericyt przylegający do naczynia włosowatego (pc). W zrębie przegrody międzypęcherzykowej występują struktury włókniste (cf).

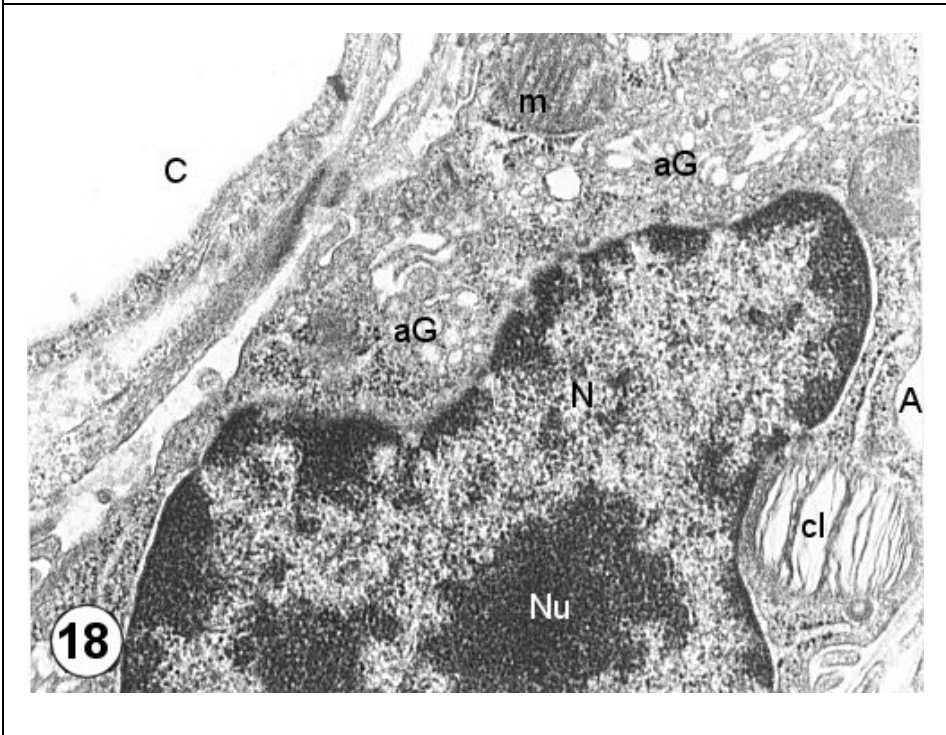
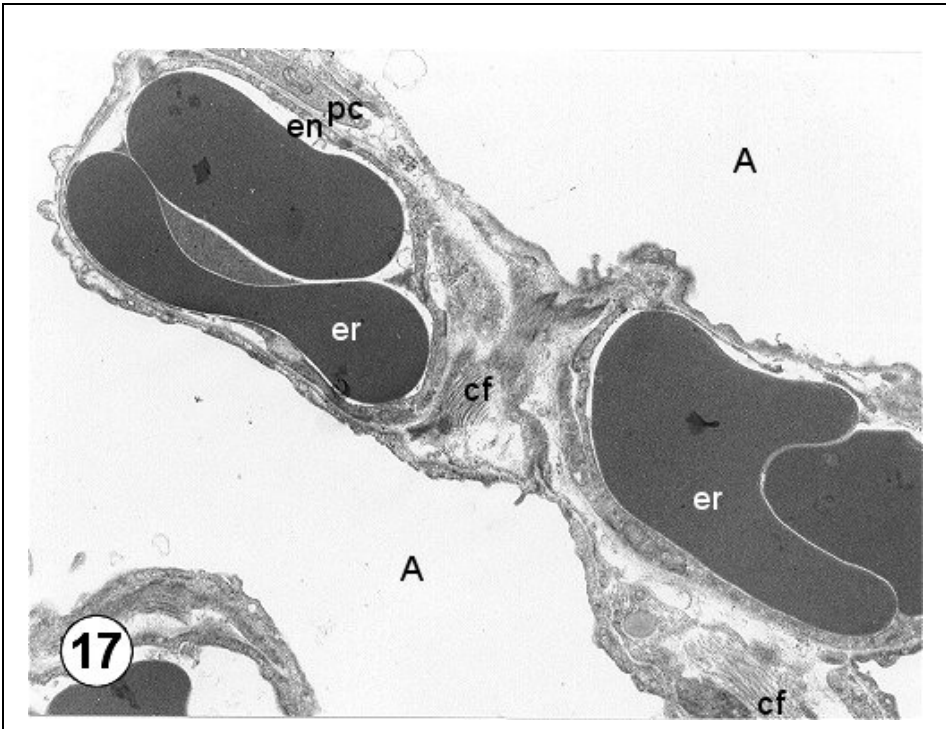
A – światło pęcherzyków płucnych.

Powiększenie 5000x.

Ryc.18 Fragment pneumocytu typu 2 z jądrem komórkowym (N) oraz leżącym w karioplazmie jąderkiem. Obrysy jądra komórkowego są nieregularne.

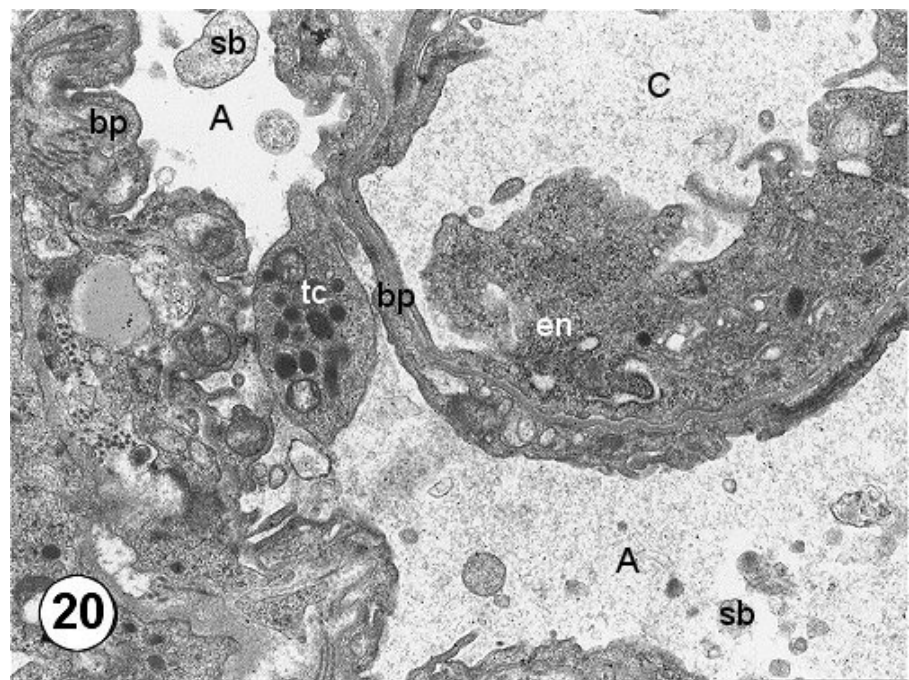
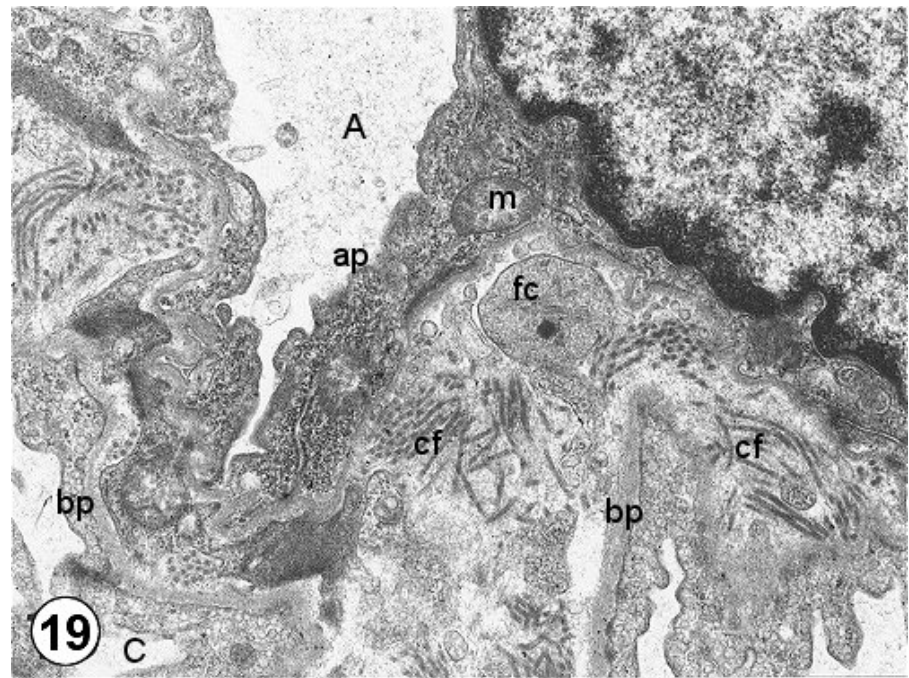
W cytoplazmie podstawowej widoczny jest rozbudowany aparat Golgiego (aG), ciało lamelarne (cl) oraz mitochondrium (m). Po lewej stronie elektronogramu fragment ściany cytoplazmy komórki śródbłonka naczynia włosowatego (C).

Powiększenie 13000x.



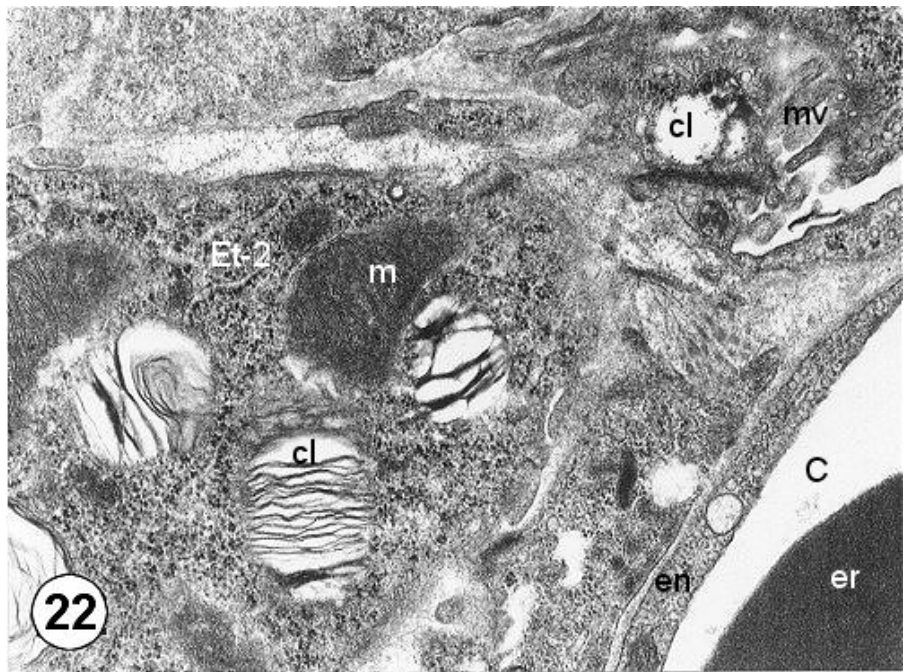
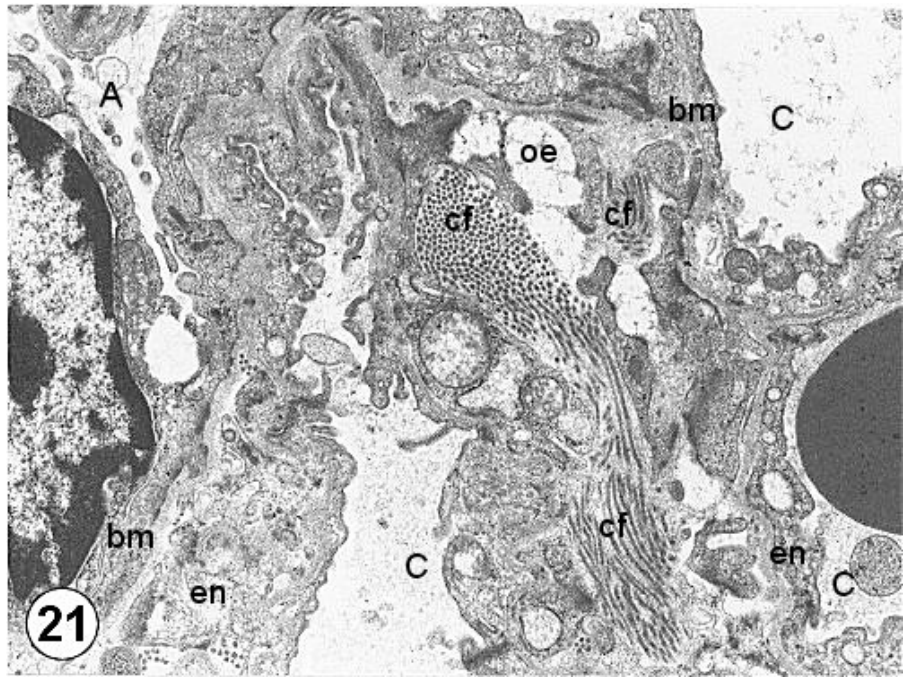
Ryc.19 Fragment przegrody międzypęcherzykowej. W zrębie łącznotkankowym występują liczne włókna tkanki łącznej o nieregularnym układzie (cf). Światło pęcherzyka płucnego (A) wyścielone jest miejscami pogrubiałą blaszką cytoplazmatyczną (ap), w której widoczne są mitochondria (m). Błona podstawna (bp) o nieregularnym przebiegu, miejscami pogrubiała. W prawym górnym rogu widoczny jest fragment jądra komórki nabłonka wyścielającego pęcherzyki płucne, oraz wypustka fibrocyta (fc). Powiększenie 13000x.

Ryc.20 Naczynie włosowate (C) ze znacznie poszerzoną cytoplazmą komórki śródbłonka (en). W świetle pęcherzyków płucnych (A) widoczne są ziarnistości surfaktantu (sb). Błona podstawna (bp) o nieregularnym przebiegu pokryta jest nabłonkiem wpuklającym się do światła pęcherzyka, tc – trombocyt. Powiększenie 6600x.



Ryc.21 Zrąb przegrody międzypęcherzykowej z licznymi włóknami tkanki łącznej (cf). Widoczne są przestrzenie świadczące o obrzęku śródmiąższowym (oe). Światło pęcherzyków (A) jest zwężone. Zarówno śródbłonek naczyń włosowatych (en) jak i nabłonek wyściełający pęcherzyki płucne są znacznie pogrubiałe. C – światło naczyń włosowatych  
Powiększenie 6000x.

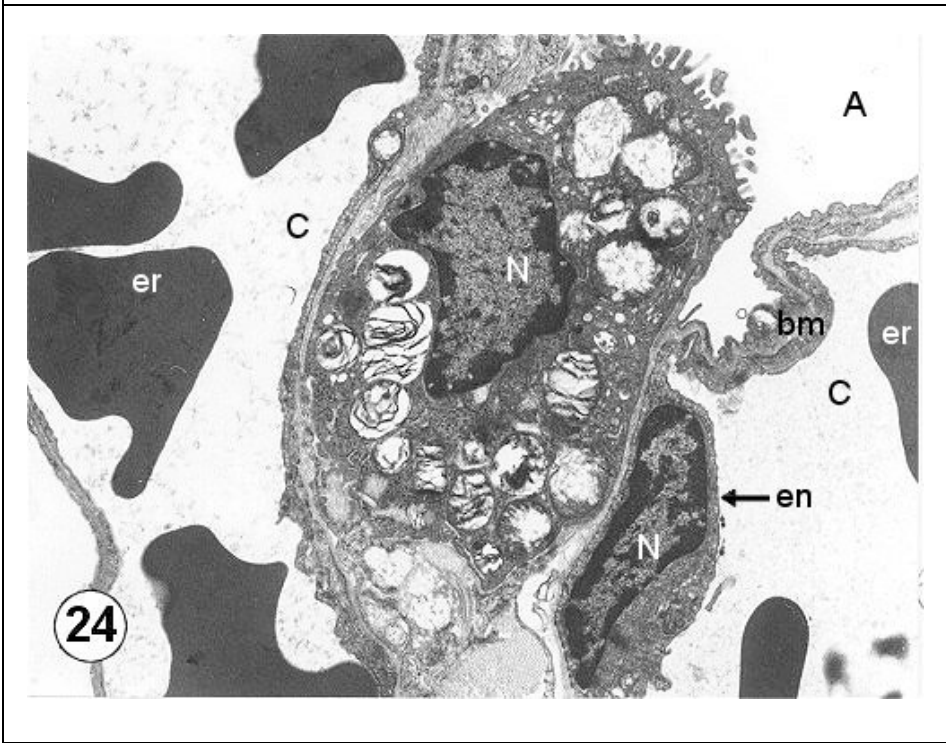
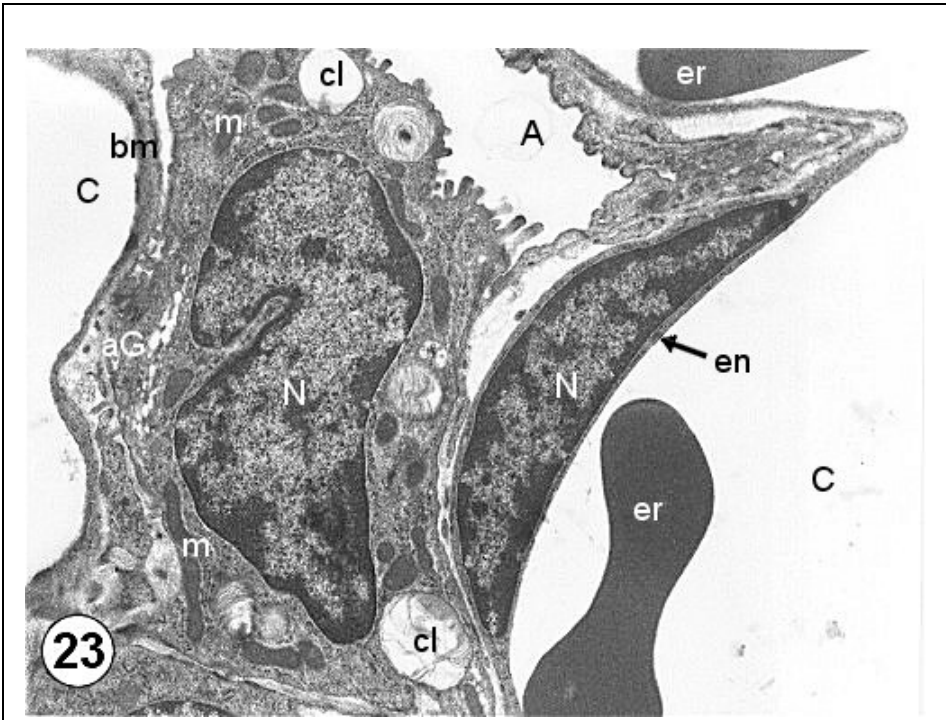
Ryc.22 Fragment komórki alveolarnej Et-2 z ciałkami lamelarnymi (cl) wypełnionymi licznymi strukturami blaszkowatymi. W cytoplazmie podstawowej widoczne mitochondria (m) o gęstej elektronowo macierzy. W górnej prawej części elektronogramu obserwuje się ewakuację ciała lamelarnego w stronę mikrowypustek (mv).  
C – światło naczynia włosowatego, er – krwinka czerwona, en – cytoplazma śródbłona.  
Powiększenie 13000x.



**Elektronogramy preparatów tkanki płucnej zwierząt z grupy doświadczalnej IIb poddanych hipoksji i pojonach wodą magnetyzowaną (ryc. 23-28).**

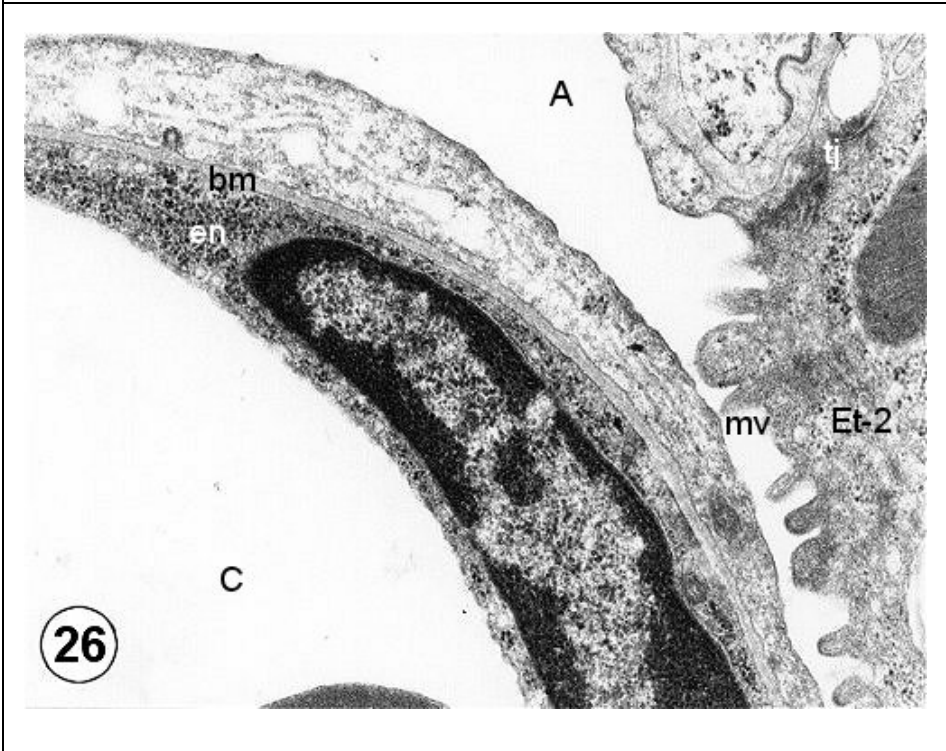
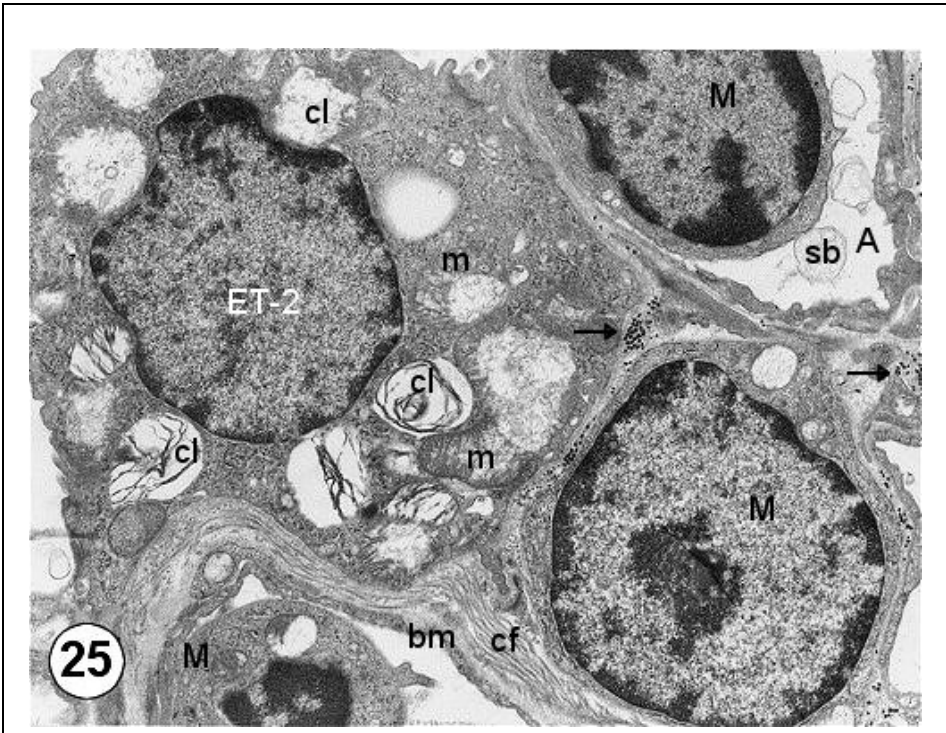
Ryc.23 Pneumocyt typu 2 w niszy między dwoma naczyniami włosowatymi (C). Po prawej stronie strzałka wskazuje na jądro (N) komórki wyścielającej naczynie włosowate, w świetle którego występują erytrocyty (er). Powierzchnia szczytowa pneumocytu (Et-2) pokryta jest mikrowypustkami. W cytoplazmie podstawowej nieliczne ciała lamelarne (cl), dobrze rozwinięty aparat Golgiego (aG), oraz liczne, różnokształtne mitochondria (m). Wyściółka śródbłonka naczyniowego spłaszczona o regularnym przebiegu.  
Powiększenie 5000x.

Ryc.24 Podobny do poprzedniego zdjęcia fragment pneumocytu typu 2 z dużą ilością ciałek lamelarnych. W prawej dolnej części zdjęcia przekrój przez jądro (N) komórki śródbłonka naczynia włosowatego (en). er – erytrocyt, C – światło naczynia włosowatego, A – światło pęcherzyka płucnego.  
Powiększenie 5000x.



Ryc.25 Zrąb przegrody międzypęcherzykowej z dużym fragmentem pneumocytu typu 2. W cytoplazmie podstawowej widoczne są ciała lamelarne (cl), niektóre z nich pozbawione są struktur blaszkowatych. W bliskim sąsiedztwie widoczne są monocyty (M). W przestrzeni międzykomórkowej widoczne są ziarnistości (strzałki) mogące być ziarnami zdegranulowanych komórek tłuszczowych. W świetle pęcherzyka płucnego (A) w pobliżu monocytu widoczne są ziarnistości surfaktantu (sb).  
Powiększenie 5000x.

Ryc.26 Przekrój przez ścianę naczynia włosowatego. W centrum widoczne jądro komórki endotelialnej (en) przylegającej do błony podstawnej (bm). Od strony światła pęcherzyka płucnego (A) widoczna jest grubsza blaszka cytoplazmatyczna pneumocytu typu 1 wyścielającego pęcherzyk. Po prawej stronie elektronogramu widoczna jest szczytowa powierzchnia pneumocytu typu 2 z mikrokosmkami (mv).  
tj – złącze międzykomórkowe.  
Powiększenie 13000x.

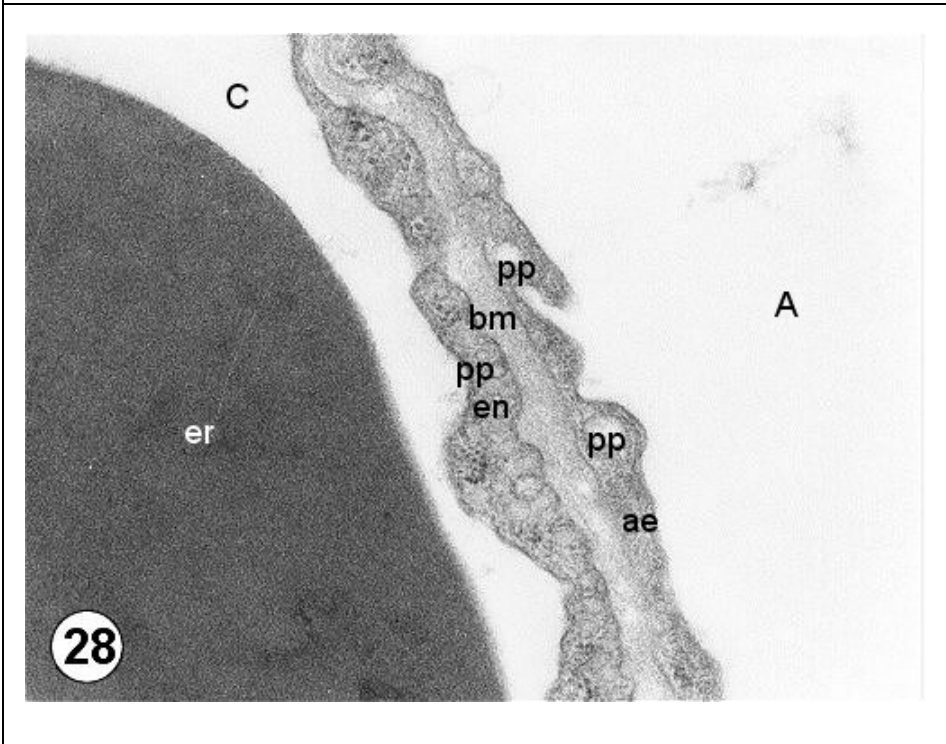
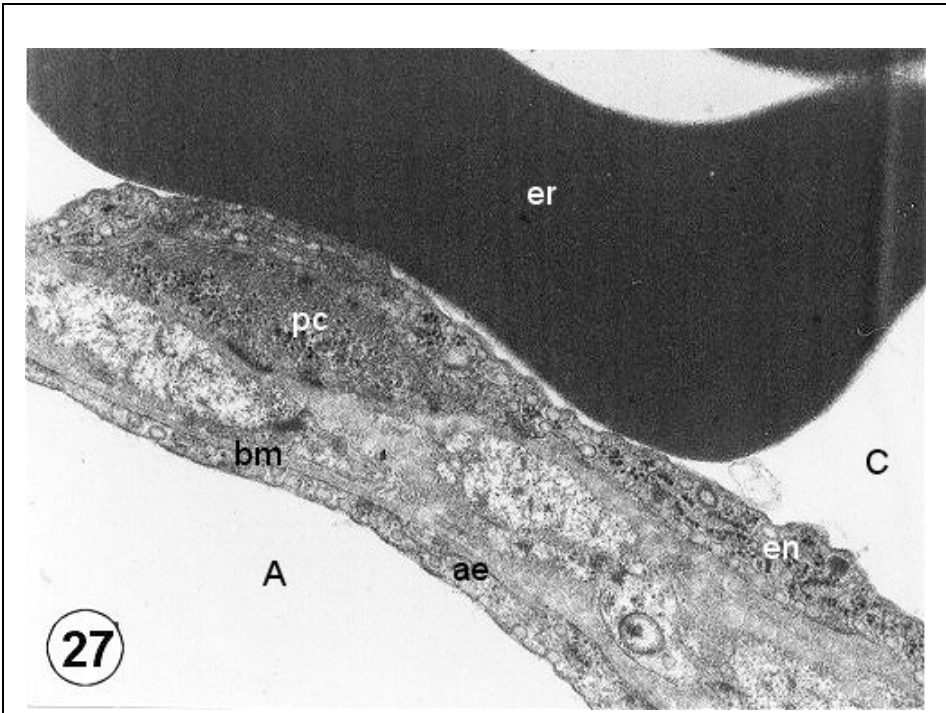


Ryc.27 Przekrój przez barierę krew-powietrze oddzielającą światło naczyń włosowatych (C) od światła pęcherzyka płucnego (A). Od strony pęcherzyka widoczna jest blaszka cytoplazmatyczna pneumocytu typu 1 (ae) spoczywająca na błonie podstawnej (bm). Od strony światła naczyń blaszka endotelialna z nielicznymi pęcherzykami pinocytarnymi spoczywa również na błonie podstawnej, która obejmuje fragment perycytu (pc). Pomiędzy blaszkami widoczne są włókniste struktury.

Powiększenie 13000x.

Ryc.28 Przekrój przedstawia barierę krew-powietrze pomiędzy naczyniem włosowatym (C) i światłem pęcherzyka płucnego (A). Elementy wchodzące w skład tej bariery tj. nabłonek alweolarny (ae) i śródbłonek naczyniowy (en) oddzielone są wspólną błoną podstawną (bm). W blaszkach cytoplazmatycznych obu rodzajów komórek widoczne są liczne pęcherzyki pinocytarne (pp).

Powiększenie 20000x.



## 5. Podsumowanie wyników badań morfologiczno-ultrastrukturalnych.

W preparatach półcienkich tkanki płucnej zwierząt z grup kontrolnych Ia i Ib pojonych wodą zwykłą i magnetyzowaną nie dostrzega się istotnych różnic strukturalnych (ryc. 1-4).

Analiza preparatów półcienkich tkanki płucnej zwierząt grup IIa i IIb, które poddano warunkom hipoksji na uwagę zasługuje poszerzony zrąb przegród międzypęcherzykowych i oznaki proliferacji komórkowych u tych szczurów, które pojone były wodą ze zwykłej instalacji wodociągowej (ryc.5-8).

Porównując elektronogramy wykonane z preparatów tkanki płucnej zwierząt z grup Ia i Ib obserwuje się strukturalne różnice w budowie bariery krew-powietrze. W zrębie tej bariery u zwierząt pojonych wodą zwykłą nagromadzone są liczne struktury włókniste tkanki łącznej. Szczególnie widoczne jest to pomiędzy błonami podstawnymi śródbłonka włóściczek i nabłonka wyścielającego pęcherzyki płucne (ryc. 11).

U zwierząt pojonych wodą magnetyzowaną uwarstwienie tych elementów komórkowych jest prawidłowe (ryc. 16).

Ilość włókien tkanki łącznej i jej usytuowanie w zrębie przegród międzypęcherzykowych jest w obu grupach podobne.

Elektronogramy (ryc. 17-22) przedstawiające zrąb przegród międzypęcherzykowych płuc zwierząt poddanych warunkom hipoksji, a pojonych wodą z normalnej instalacji wodociągowej wykazują „nieład strukturalny”. Znajduje on wyraz w obrzmieniu komórek wyścielających światła naczyń włosowatych, jak i wypustek cytoplazmatycznych komórek alweolarnych – pneumocytów typu 1. Obserwuje się ponadto wzrost ilości włókien kolagenowych, natomiast przejrzyste elektronowo przestrzenie międzykomórkowe mogą wskazywać na obecność płynu obrzękowego (ryc. 21).

W ocenie porównawczej elektronogramów przedstawiających strukturę mikrokrażenia tkanki płucnej zwierząt poddanych warunkom hipoksji a pojonych wodą magnetyzowaną (grupa IIb – ryc. 23-28) stwierdza się istotne różnice w stosunku do grupy IIa.

W różnych obszarach tkanki płucnej pneumocyty typu 2 wykazują różną submikroskopową strukturę analizowanych elementów komórkowych. Obserwuje się równoczesne występowanie komórek typu 2 z licznymi ciałkami lamelarnymi, oraz takie komórki, w których ilość ciałek lamelarnych jest zminimalizowana na korzyść dobrze rozbudowanego aparatu Golgiego z równoczesną ewakuacją zawartości ciałek lamelarnych do przestrzeni pozakomórkowej (ryc. 23-24).

Obserwuje się ponadto w zrębie przegród międzypęcherzykowych obecność monocytów i to zarówno takich, które przeniknęły do światła włósniczek, jak i zlokalizowanych w obszarze łącznotkankowym przegród międzypęcherzykowych (ryc. 25). Na uwagę również zasługuje obecność w przestrzeniach międzykomórkowych ziarnistości gęstych elektronowo, odpowiadających ziarnistościom komórek tucznych po ich degranulacji (ryc. 25).

Istota różnic w obrębie samej bariery krew-powietrze polega na prawidłowym ukształtowaniu wyściółek cytoplazmatycznych zarówno śródbłónka włósniczek jak i pęcherzyków płucnych, oraz uporządkowaniu struktur submikroskopowych zrębu przegród międzypęcherzykowych w grupie zwierząt, które w warunkach hipoksji pojone były wodą magnetyzowaną (ryc. 23-28).

## 6. Omówienie wyników i dyskusja.

W ostatnich latach wiele wiodących Ośrodków naukowo-badawczych spotęgowało swoje zainteresowania nad stosowaniem metod terapeutycznych, opartych na magnetostymulacji i magnetoterapii w praktyce klinicznej, gdzie medycyna fizykalna staje się coraz częściej korzystną alternatywą terapii farmakologicznej.

Liczne prace badawcze dowodzą korzystnego działania pól magnetycznych w szeregu dolegliwościach, szczególnie dzięki swoim właściwościom w działaniu przeciwzapalnym i przeciwbólowym, co prawdopodobnie związane jest z efektem wazodilatacyjnym tych pól. Wiele korzystnych wyników po stosowaniu pól magnetycznych odnotowano również w procesach regeneracyjnych i reparacji tkanek miękkich, przyspieszaniu zrostów kostnych, oraz intensyfikacji procesów oddychania tkankowego.

Z publikacji ostatnich lat wynika, że nie można wykluczyć ingerencji pól magnetycznych w procesy enzymatyczne i molekularne, toczące się w komórkach, a zwłaszcza w strukturach ciekło-krystalicznych błon komórkowych z bogactwem receptorów. Dotyczy to również systemu błon wewnątrzkomórkowych, będących otoczką organelli komórkowych oraz błon tworzących cytoszkielet komórki. Jest on odpowiedzialny za kompartmentację, co wydatnie umożliwia właściwy przebieg reakcji biochemicznych w określonych obszarach cytoplazmy.

Do tej pory stosunkowo mało publikacji poświęcono możliwości oddziaływania pola magnetycznego na wodę tkankową, która jest głównym składnikiem naszego ustroju i pełniąc rolę wypełniacza komórkowego jest odpowiedzialna za wszystkie procesy biochemiczne toczące się w całym organizmie.

W dobie coraz powszechniejszego stosowania magnetyzerów do uzdatniania wody pitnej w gospodarstwach domowych, jak i w przemysłowych

urządzeniach instalacji przepływowych mających na celu zmniejszenie odkładania się osadu kamiennego, rodzi się potrzeba dogłębnej analizy efektów stosowania tych urządzeń. Negatywna ocena efektów działania magnetyzerów musiałaby pociągać za sobą ich eliminację z rynku natomiast pozytywna ocena skutków ich działania powinna przyczynić się do ich promocji, zarówno ze względów gospodarczych jak i zdrowotnych.

Istotnym wydaje się znalezienie odpowiedzi na pytanie jak woda poddana działaniu pola magnetycznego wpływa na przebieg procesu chorobowego wywołanego u zwierząt badanych. Należy bowiem przypuszczać, że stosowana przez dłuższy czas jako jedyne źródło płynów, wymienia niejako cały zasób wody, nadając jej równocześnie swoje zmienione właściwości fizykochemiczne.

W moim doświadczeniu zwierzęta przebywały przez 30 dni w komorze hipoksyjnej, w której stworzono warunki analogiczne do tych jakie panują na wysokości 5000 m.p.m.

Liczebnie taka sama grupa zwierząt przebywała w normalnych warunkach poza komorą niskich ciśnień.

Zarówno zwierzęta kontrolne jak i doświadczalne pojono wodą z normalnej instalacji wodociągowej, oraz taką samą wodą uprzednio poddaną działaniu pola magnetycznego.

Ilustrowane elektronogramami preparaty otrzymane ze zwierząt grup kontrolnych poza większym nagromadzeniem struktur włóknistych w przegrodach międzykomórkowych szczurów pojonych wodą zwykłą, nie wykazywały istotnych różnic w stosunku do zwierząt pojonych wodą magnetyzowaną.

Elektronogramy wykonane z preparatów tkanki płucnej zwierząt pojonych wodą magnetyzowaną pozwalają stwierdzić, że tak przygotowana woda chroni terminalne odcinki dróg oddechowych przed stresem hipoksyjnym, a zmiany

wywołane hipoksją są znacznie mniejsze niż w przypadku stosowania wody zwykłej.

Można więc hipotetycznie założyć, że woda poddana działaniu pola magnetycznego wywołuje korzystny wpływ na mikrokrażenie tkanki płucnej.

Pozostaje jednak nadal potrzeba poszukiwania wyjaśnień mechanizmów tego zjawiska. Odpowiedzi należy szukać w dalszych badaniach poszerzonych o metodykę badań interdyscyplinarnych np. na bazie badań immunobiologicznych i molekularnych (13, 18, 33, 59, 61, 62, 83).

## 7. Wnioski.

9. Przewlekła doświadczalna hipoksja hipoksyczna prowadzi u dojrzałych szczurów do przebudowy tkanki płucnej, będącej wynikiem uszkodzenia komórek wchodzących w skład struktur międzypęcherzykowych. Dotyczy to w głównej mierze śródbłonków włóściczek, nabłonków wyściełających pęcherzyki płucne oraz struktur łącznotkankowych.
10. Pojenie „wodą magnetyzowaną” szczurów poddanych warunkom doświadczalnym, jeśli nie zapobiega, to w znaczny sposób minimalizuje zmiany wywołane hipoksją.
11. Należy przypuszczać, że „woda magnetyzowana” chroni struktury komórkowe mikrokrażenia płucnego przed negatywnymi skutkami reakcji molekularnych toczących się w obszarze błon komórkowych i cytoskeletonu jako efektorów działania pola magnetycznego.

## 8. BIBLIOGRAFIA

- 1    **Adair R.**  
Constraints on biological effects of weak extremely-low frequency electromagnetic fields  
Phys. Rev. A 43; 1039-1048, 1991
- 2    **Adair R.**  
Criticism of Lednev's mechanism for the influence of weak magnetic fields on biological systems.  
Bioelectromagnetics (N.Y.) 13; 231-235, 1992
- 3    **Barnes F. S.**  
Some engineering models for interactions of electric and magnetic fields with biological systems.  
Bioelectromagnetics (N.Y.) S1; 67-86, 1992
- 4    **Battini R., Monti M.G., Moruzzi M.S., Ferrari S., Zaniol P., Barbiroli B.**  
ELF elektromagnetic fields effect gene expression of regenerating rat liver following partial hepatectomy.  
J. Bioelectr. 10; 131-139, 1991
- 5    **Bedlack R.S.S. Jr, Wei M., Loew L. M.**  
Localized membrane depolarizations and localized calcium influx during field guided neurite growth.  
Neuron 9; 393-403, 1992
- 6    **Blackman C.F., Bename S.G. House D.E. Joines W.T.**  
Effects of ELF (1-120 Hz) and modulated (50 Hz) RF fields on the efflux of calcium ions from brain tissue.  
Bioelectromagnetics (N.Y.) 6; 1-11, 1985
- 7    **Blanchard J.P. and Blackman C.F.**  
Clarification and application of an ion parametric resonance model for magnetic field interactions with biological systems.  
Bioelectromagnetics (N.Y.) 14; 217-238, 1994
- 8    **Blank M., Soo L.**  
The Na, K-ATPase as a model for elektromagnetic field effects on cells.  
Bioelectrochem. Bioenerg. 30; 85-92, 1993

- 12 Del\_Carratore R., Morichetti E., Della-Croce C., Bronzetti G.**  
Effect of magnetic fields on rodent monooxygenase enzymes.  
Bioelectromagnetics 16;5,324-329, 1995
- 13 Del-Seppia C., Ghione S., Luschi P., Papi F.**  
Exposure to oscillating magnetic fields influences sensitivity to electrical stimuli. I-experiment on pigeons.  
Bioelektromagnetics 16;,290-294, 1995
- 14 Echiwald C., Kaiser F.**  
Model for external influences on cellular signal transduction pathways including cytosolic calcium oscillations.  
Bioelektromagnetics 16;75-85, 1995
- 15 Edmonds D.T**  
Larmor precession as a mechanism for the biological sensing of small magnetic fields.  
Electricity and Magnetism in Biology and Medicine (M. Blank, ed.), pp 553-555. San Francisco Press, San Francisco, 1993
- 16 Einfeldt H., Heise-Reinecker E.**  
Erste Erfahrungen mit der Magnetfeldtherapie bei Ucera crurum.  
Phlebologie und Proktologie  
F.K.Schattauer Verlag GmbH 149-151, 1985
- 17 Freychting M., Ahlbom A**  
Magnetic fields and cancer in children residing near Swedish high-voltage power lines  
Am. J. Epidemiol. 138, 467-481, 1993
- 18 Fitzsimmons R.J., Farley J., Adey W.R. Baylink D.J.**  
Frequency dependence of increased cell proliferation, invitro in exposures to a low-amplitude, low-frequency electric field: evidence for dependence on increased mitogen activity relased into culture.  
J. Cell. Physiol., 139; 586-591, 1989
- 19 Fitzsimmons R.J., Strong D.D., Mohan S., Baylink D.J.**  
Low-amplitude, low-frequency electric fields stimulated bone cell proliferation may in part be mediated by increased IGF-II release.  
J. Cell. Physiol 150; 84-89, 1992

- 20 Garcia-Sancho J., Montero M., Alvarez J., Fonteriz R.I., Sanchez A.**  
Effect of extremely low frequency magnetic fields on ion transport in several mammalian cells.  
Bioelektromagnetics 15; 579-588, 1994
- 21 Goodman E.M., Greenebaum B., Marron M.T.**  
Altered protein synthesis in a cell-free system exposed to a sinusoidal magnetic field.  
Biochim. Biophys. Acta 1202; 107-11, 1993
- 22 Goodman E.M., Greenebaum B., Marron M.T.**  
Effects of electromagnetic fields on molecules and cells.  
Int-Rev-Cytol. 158; 279-338, 1995
- 23 Goodman R., Henderson A.S.**  
Sine waves enhance cellular transcription.  
Bioelectromagnetics (N.Y.) 7; 23-29, 1986
- 24 Goodman R., Henderson A. S.**  
Transcription and translation in cell exposed to extremely low frequency electromagnetic fields.  
Bioelectrochem. Bioenerg. 25; 335-355, 1991
- 25 Goodman R., Wei L/X., Xu J.C., Henderson A.S.**  
Exposure of human cells to low-frequency electromagnetic fields results in quantitative changes in transcripts.  
Biochim. Biophys. Acta 1009; 216-220, 1989
- 26 Goodman R., Buman J., Wei L.X., Henderson A.S.**  
Exposure of human cells to electromagnetic fields: Effect of time and field strength on transcript levels.  
Electro-Magnetobiol. 11; 19-28, 1992
- 27 Goodman R., Chizmadzhev Y., Henderson A.**  
Electromagnetic fields and cells.  
Biochem. 51; 436-441, 1993
- 28 Grundler W., Kaiser F., Keilmann F., Walleczek J.**  
Mechanisms of electromagnetic information with cellular systems.  
Naturwissenschaften 79; 551-559, 1992

- 29 Grunner O.**  
Contemporary views on the evaluations of the therapeutic action of magnetic fields.  
Cas. Lek. Ces. 126; 405-409, 1987
- 30 Gundersen R.M., Greenbaum B**  
Low-voltage ELF electric field measurements in ionic media.  
Bioelectromagnetics (N.Y.), 6; 157-168, 1985
- 31 Gundersen R.M., Greenbaum B., Schaller M.**  
Intracellular recording during magnetic field application to monitor neurotransmitter release events: Methods and preliminary results.  
Bioelectromagnetics (N.Y.) 7; 271-282, 1986
- 32 Hamada S.H. Witkus R., Griffith R. Jr**  
Cell surface changes during electromagnetic fields exposure.  
Exp. Cell Biol. 57; 1-10, 1989
- 33 Holmberg B.**  
Magnetic fields and cancer: animal and cellular evidence an overview .  
Environ-Health-Perspect. 103;2, 63-67, 1995
- 34 Irnich W., Schmitt F.**  
Magnetostimulation in MRI.  
Magn-Reson-Med. 33;5, 619-623, 1995
- 35 Kirschvink J.L., Kobayashi-Kirschvink A., Diaz-Ricci J.C., Kirschvink S.J.**  
Magnetite in human tissues: A mechanism for the biological effects of weak ELF magnetic fields  
Bioelectromagnetics (N.Y.) s1; 101-114, 1992
- 36 Knedlitschek G., Nagy M.N. Dertinger H., Schimmelpfeng J.**  
The action of alternating currents of different frequencies upon cyclic AMP and cell proliferation.  
Bioelectromagn. 15th Annu. Meet. Los Angeles p. 97, 1993
- 37 Lednev V.V.**  
Possible mechanism for the influence of weak magnetic fields on biological systems.  
Bioelectromagnetics (N.Y.) 12; 71-76, 1991

- 38 Liboff A.R. McLeod B.R.**  
Kinetics of channelized membrane ions in magnetic fields.  
Bioelectromagnetics (N.Y.) 9; 39-51, 1988
- 39 Lindstrom E., Lindstrom P., Berglund A., Lundgren E., Mild K.H.**  
Intracellular calcium oscillations in a T-cell line after exposure to extremely-low-frequency magnetic fields with variable frequencies and flux densities.  
Bioelektromagnetics 16;1, 41-47, 1995
- 40 Luben R.A.**  
Effects of low-energy electromagnetic fields (pulsed and DC) on membrane signal transduction process in biological systems.  
Health Phys. 61; 15-28, 1991
- 41 Malorni W., Paradisi S., Straface E., Santini M.T., Donelli G.**  
An in vitro investigations on the subcellular effects of 50 Hz magnetic fields.  
Proc. IRPA Int. Conf. Montreal, Canada, May 17-22, 1992
- 42 Marron M.T. Greenbaum B., Swanson J.E., Goodman E.M.**  
Cell surface effects of 60 HZ elektromagnetic fields.  
Rat. Res. 94; 217-220, 1983
- 43 Marron M.T., Goodman E.M., Greenbaum B., Tipnis P.**  
Effects of sinusoidal 60-Hz electric and magnetic fields on ATP and oxygen levels in the slime mold Physarum polycephalum.  
Bioelectromagnetics (N.Y.) 7; 307-314, 1986
- 44 Mazurkiewicz G.**  
Ocena działania przeciwbólowego elektroakupunktury i zmiennego pola magnetycznego niskiej częstotliwości w zespołach bólowych szyjnego odcinka kręgosłupa.  
Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych, Tychy, 1994
- 45 McLeod B.R., Liboff A.R. Smith S.D.**  
Biological systems in transmittion: Sensitivity to extremely low-frequency fields.  
Electro- Magnetobiol. 11; 29-42, 1992
- 46 Mrowiec J., Cieślak G., Sieroń A., Plech A., Biniszkiwicz T.**  
Reakcje behawioralne u szczurów poddanych działaniu zmiennego

- pola magnetycznego.  
Baln, Pol. 36; 3-4, 17-23, 1994
- 47 Paradisi S., Donelli G., Santini M.T., Straface E., Malorni W.**  
A 50-Hz magnetic field induces structural and biophysical changes in membranes.  
Bioelectromagnetics (N.Y.) 14; 247-255, 1993
- 48 Parker J.E., Winters W.**  
Expression of gene-specific RNA in cultured cells exposed to rotating 60-Hz magnetic fields.  
Biochem. Cell. Biol. 70; 237-241, 1992
- 49 Philips J.L. Hagreenn W., Thomas W.J., Ishida-Jones T., Adey W.R.**  
Magnetic field-induced changes in specific gene transcription.  
Biochim. Biophys. Acta 1132; 140-144, 1992
- 50 Pines J.**  
Cyclins and their associated cyclin-dependent kinases in the human cell cycle.  
Trends in Biochem. Sci. 210; 195-197, 1993
- 51 Schimizu H., Suzuki Y., Okonogi H.**  
Biological effects of electromagnetic fields.  
Nippon-Eiseigaku-Zasshi 50;5, 919-931, 1995
- 52 Sieroń A.**  
Synteza i wydzielanie kwasów żółciowych u szczurów poddanych działaniu wolnozmiennego pola magnetycznego  
Rozprawa habilitacyjna, Zabrze 1995
- 53 Sieroń A., Cieślar G., Adamek M.**  
Magnetoterapia i laseroterapiaiskoenergetyczna  
Śląska Akademia Medyczna, Katowice 1994
- 54 Sieroń A., Żmidziński J., Cieślar G.**  
Problemy oddziaływania zewnętrznych pól magnetycznych na organizm ludzki.  
Post. Fiz. Med. 24;75-80, 1989
- 55 Sustachek J.**  
In Vivo and in vitro transcriptional effects of electromagnetic field

exposure on E. Coli DNA-dependent RNA polymerase.  
Master's Thesis University of Wisconsin-Parkside, 1992

- 56 Tenforde T.S.**  
Biological interactions of extremely low frequency electric and magnetic fields.  
Biophysic and Medicine Report, Verlagsgesellschaft fur Biophysik und Medizin 1-7, 1980
- 59 Warnke U.**  
Grundlagen zu magnetisch induzierten physiologischen Effekten.  
Therapiewoche 30; 4609-4616, 1980
- 60 Weaver J.C., Astumian R.D.**  
Estimates for ELF effects: Noise-based thresh-old and the number of experimental conditions required for empirical searches.  
Bioelectromagnetics (N.Y.) S1; 119-138, 1992
- 61 Yen-Patton G.P.A., Patton W.F., Beer D.B., Jacobson B.S.**  
Endothelial cell response to pulsed electromagnetic fields: Stimulation of growth rate and angiogenesis in vitro.  
J. Cell. Physiol. 134; 37-46, 1988
- 62 Yost M.G., Liburdy R.P.**  
Time-varying and static magnetic fields act in combination to alter calcium signal transduction in the lymphocyte.  
FEBS Lett. 296; 117-122, 1992

## 9. Streszczenie

Wyniki licznych badań ostatnich lat, wskazują na korzystny wpływ pól magnetycznych o określonych parametrach na organizm człowieka. Jednakże mechanizmy tego działania wciąż nie są w pełni poznane. Jedną z możliwych dróg jest modyfikacja struktury wody, która stanowi nie tylko środowisko ale także substrat większości reakcji chemicznych zachodzących w organizmach żywych.

Narażenie na przewlekłe niedotlenienie stanowi istotny czynnik prowadzący do przebudowy naczyń krążenia płucnego, a w konsekwencji do rozwoju nadciśnienia płucnego. Następuje zwiększenie zawartości lamininy i fibronektyny w blaszce podstawnej śródbłonka jak również w błonie środkowej tętnic płucnych. Najważniejsze zmiany dotyczą rozmieszczenia miocytów pomiędzy dwoma blaszkami sprężystymi. Miocyty obecne są także w błonie wewnętrznej małych tętnic i tętniczek. Muskularyzacja małych naczyń płucnych w normalnych warunkach pozbawionych miocytów stanowi stały patologiczny objaw przewlekłego niedotlenienia. Zmiany w naczyniach mikrokrążenia płucnego związane są z takimi czynnikami HIF-1, VEGF i NO.

W obecnym doświadczeniu badany był wpływ wody magnetyzowanej na szczury poddane działaniu hipoksji. 20 dojrzałych szczurów Sprague- Dawley zostało podzielonych na 4 grupy: Ia (grupa kontrolna)- 5 osobników przebywających w warunkach normoksji, pojonych wodą nie modyfikowaną, Ib (grupa kontrolna)- 5 osobników w warunkach normoksji, pojonych wodą magnetyzowaną, IIa (grupa doświadczalna)- 5 osobników przebywających w warunkach hipoksji (10%O<sub>2</sub>), pojonych wodą nie modyfikowaną, IIb (grupa doświadczalna)- 5 osobników w warunkach hipoksji (10%O<sub>2</sub>), pojonych wodą magnetyzowaną. Po 30 dniach pobrano próbki tkanki płuc do badań z wykorzystaniem mikroskopii elektronowej. Wyniki ukazują zmiany w tkance płucnej wywołane hipoksją. Komórki śródbłonka naczyń i nabłonka

pęcherzyków płucnych są obrzęknięte. Występuje także wzrost ilości włókien kolagenowych. Korzystne działanie wody magnetyzowanej znajduje swe odzwierciedlenie w normalizacji struktury komórek śródbłonna i nabłonka pęcherzyków płucnych, zmniejszenia ilości włókien kolagenowych i migracji monocytów do obszarów łącznotkankowych przegród międzypęcherzykowych.

Ponieważ hipoksja odgrywa znaczącą rolę w rozwoju nadciśnienia płucnego, wyniki powyższego doświadczenia mogą być pomocne w poszukiwaniu nowych metod leczenia szeregu schorzeń płucnych.