

Wpływ magnetostymulacji na patomorfologię mięśni szkieletowych, stawu biodrowego i kości udowej u szczurów z indukowanym eksperymentalnie lokalnym stanem zapalnym

The influence of magnetostimulation on pathomorphology of skeletal muscles, hip joint and thigh bone in rats with experimentally-induced local inflammatory condition

Janina Mrowiec¹, Wojciech Kozłowski², Grzegorz Cieślar¹, Aleksander Sieroń¹

¹ Katedra i Oddział Kliniczny Chorób Wewnętrznych, Angiologii i Medycyny Fizykalnej, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, ul. Batoiego 15, 41-902 Bytom, tel. +48 32 786 16 30, e-mail: cieslar1@tlen.pl

² Zakład Patomorfologii, Wojskowy Instytut Medyczny, Centralny Szpital Kliniczny MON, ul. Szaserów 128, 04-141 Warszawa

Streszczenie

Zmienne pola magnetyczne o niskich wartościach indukcji znalazły szerokie zastosowanie kliniczne, m.in. w leczeniu zespołów bólowych o różnej etiologii, chorób układu nerwowego, zaburzeń krążenia obwodowego, trudno gojących się ran i owrzodzeń oraz przewlekłych chorób zwyrodnieniowych i zapalnych układu kostno-stawowego. W dostępnej literaturze brakuje prac eksperymentalnych, przedstawiających wpływ zmiennych pól magnetycznych o niskich wartościach indukcji na strukturę poszczególnych elementów narządu ruchu zwierząt doświadczalnych w stanach fizjologii i patologii. Celem pracy była ocena wpływu magnetostymulacji na morfologię stawu biodrowego oraz okolicznych mięśni szkieletowych i kości udowej u szczurów z eksperymentalnie wywołanym miejscowym ostrym stanem zapalnym. Badaniem objęto 240 samców szczurzych, podzielonych na 4 grupy. Grupy I (kontrola bez stanu zapalnego) i III (kontrola ze stanem zapalnym) liczące po 24 szczury poddano ekspozycji pozorowanej. Grupy II (bez stanu zapalnego) i IV (z indukowanym stanem zapalnym) liczące po 96 szczurów, podzielono na 4 równe podgrupy, poddawane przez 14 dni codziennej, 36-minutowej ekspozycji w zmiennym polu magnetycznym o wartościach indukcji odpowiednio: 10, 60, 120 i 360 μ T. W 7. i 14. dniu ekspozycji w polu oraz 7. i 14. dniu po jej zakończeniu, podczas sekcji pobierano prawy staw biodrowy, który

po utrwaleniu w 10-procentowym roztworze formaliny i rutynowym barwieniu poddano ocenie histopatologicznej. Badania makroskopowe i mikroskopowe nie wykazały istotnych różnic morfologicznych badanych narządów zwierząt z indukowanym eksperymentalnie miejscowym ostrym stanem zapalnym, ekspozowanych na działanie pola magnetycznego w porównaniu z grupą kontrolną, poddawaną ekspozycji pozorowanej, bez względu na wartość indukcji stosowanego pola magnetycznego. Uzyskane wyniki wskazują, że ekspozycja w zmiennym polu magnetycznym o niskich wartościach indukcji, stosowanym w magnetostymulacji nie powoduje istotnych zmian w strukturze mięśni oraz stawu biodrowego i głowy kości udowej szczurów z indukowaną eksperymentalnie miejscową, ostrą reakcją zapalną.

Słowa kluczowe: magnetostymulacja, miejscowy stan zapalny, staw biodrowy, mięśnie, kość udowa, histomorfologia, badanie mikroskopowe

Abstract

The variable magnetic field with low values of induction found broad clinical application among others in treatment of pain syndromes of various etiology, diseases of nervous system, disturbances of cerebral circulation, chronic wounds and ulcers, as well as chronic degenera-

tive and inflammatory diseases of muscular-skeletal system. In attainable literature there is lack of experimental researches introducing the effect of variable magnetic field with low value of induction on structure of particular element of motor system in physiologic and pathologic conditions. The aim of the study was to estimate the effect of magnetostimulation on morphology of hip joint, thigh bone and surrounding muscles in rats with experimentally-induced acute topical inflammation. Experiment was carried out on 240 male rats divided into 4 groups. Groups I (control without topical inflammation) and III (control with topical inflammation) consisting of 24 rats were exposed to sham-exposure. Experimental groups II (without topical inflammation) and IV (with topical inflammation) consisting of 96 rats, were divided into 4 equal subgroups exposed during 14 days to daily, 36-minute lasting exposure to variable magnetic field with induction values of: 10, 60, 120 and 360 μT , respectively. At 7th and 14th day of exposure cycle, as well as at 7th and 14th day after its completion, the right hip joint was collected during the autopsy, and subjected to fixation in 10% solution of formaldehyde and staining, then submitted to histological examination. Both macroscopic and microscopic examination did not show any significant differences in morphology of analyzed organs in rats with experimentally-induced topical inflammation exposed to variable magnetic field, in comparison with control animals exposed to sham-exposure, regardless of induction value of applied magnetic field. The obtained results indicate that exposure to variable magnetic field with low value of induction applied in magnetostimulation does not develop any significant changes in structures of muscles, hip joint and head of thigh bone in rats with induced acute topical inflammation.

Key words: magnetostimulation, inflammatory condition, hip joint, muscles, thigh bone, histomorphology, microscopic examination

Wstęp

Zmienne pola magnetyczne o niskich wartościach indukcji, stosowane w formie magnetostymulacji, znalazły szerokie zastosowanie kliniczne, m.in. w leczeniu zespołów bólowych o różnej etiologii, chorób układu nerwowego, zaburzeń krążenia obwodowego, zespołów nerwicowych i przewlekłej depresji, trudno gojących się ran i owrzodzeń oraz przewlekłych chorób układu kostno-stawowego [1].

W leczeniu przewlekłych chorób układu kostno-stawowego magnetostymulacja wykazuje wysoką skuteczność terapeutyczną, przejawiającą się silnym działaniem przeciwbólowym, przeciwzapalnym i przeciwozbrzękowym, przy braku istotnych efektów ubocznych [2-8].

Cel pracy

Celem pracy była analiza wpływu magnetostymulacji systemem VioforJPS, generującym zmienne pole magnetyczne o niskich wartościach indukcji na morfologię stawu

biodrowego oraz okolicznych mięśni szkieletowych i fragmentu kości udowej u szczurów z indukowanym eksperymentalnie, ostrym stanem zapalnym tego stawu.

Materiał i metody badań

Badania przeprowadzono w Centralnej Zwierzętarńi Doświadczalnej Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach-Ligocie. Protokół doświadczalny uzyskał akceptację Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach w Katowicach nr 21/02.

W badaniach wykorzystano 240 szczurów, samców rasy Wistar w wieku 8 tygodni, o masie ciała 180-200 g, losowo podzielonych na 4 równe grupy (10 podgrup), nieróżniące się znamienne pod względem masy ciała:

• Grupa I

Kontrola – 24 szczury poddawane ekspozycji pozorowanej,

• Grupa II

Podgrupa 1 – 24 szczury poddawane ekspozycji w zmiennym polu magnetycznym o indukcji 360 μT (aplikator płaski),

Podgrupa 2 – 24 szczury poddawane ekspozycji w zmiennym polu magnetycznym o indukcji 10 μT (aplikator przestrzenny),

Podgrupa 3 – 24 szczury poddawane ekspozycji w zmiennym polu magnetycznym o indukcji 60 μT (aplikator przestrzenny),

Podgrupa 4 – 24 szczury poddawane ekspozycji w zmiennym polu magnetycznym o indukcji 120 μT (aplikator przestrzenny),

• Grupa III

24 szczury z wywołanym eksperymentalnie stanem zapalnym stawu biodrowego, poddawane ekspozycji pozorowanej,

• Grupa IV

Podgrupa 1 – 24 szczury z wywołanym eksperymentalnie stanem zapalnym stawu biodrowego, poddawane ekspozycji w zmiennym polu magnetycznym o indukcji 360 μT (aplikator płaski),

Podgrupa 2 – 24 szczury z wywołanym eksperymentalnie stanem zapalnym stawu biodrowego, poddawane ekspozycji w zmiennym polu magnetycznym o indukcji 10 μT (aplikator przestrzenny),

Podgrupa 3 – 24 szczury z wywołanym eksperymentalnie stanem zapalnym stawu biodrowego, poddawane ekspozycji w zmiennym polu magnetycznym o indukcji 60 μT (aplikator przestrzenny),

Podgrupa 4 – 24 szczury z wywołanym eksperymentalnie stanem zapalnym stawu biodrowego, poddawane ekspozycji w zmiennym polu magnetycznym o indukcji 120 μT (aplikator przestrzenny).

Zwierzęta w trakcie eksperymentu przebywały w pomieszczeniu o optymalnych warunkach środowiskowych (stała wilgotność, temperatura powietrza 20°C oraz 12-godzinny cykl zmiany oświetlenia), karmione były standardową paszą laboratoryjną Murigran (Motycz, Polska) oraz otrzymywały wodę *ad libitum*.

Metodyka wywoływania stanu zapalnego

W przeddzień rozpoczęcia cyklu ekspozycji w zmiennym polu magnetycznym u wszystkich szczurów z grupy III i IV, w celu indukcji stanu zapalnego w okolicę prawego stawu biodrowego podawano 5-procentowy roztwór formaliny w ilości 50 μl .

Metodyka ekspozycji w zmiennym polu magnetycznym

Zmienne pole magnetyczne o niskich wartościach indukcji użyte w doświadczeniu, generowane przez urządzenie do magnetostymulacji Viofor JPS (Med&Life, Polska), składające się z generatora pola magnetycznego, wyposażonego w sterownik umożliwiający wybór programu terapeutycznego oraz elektronicznej regulacji indukcji pola magnetycznego i czasu trwania ekspozycji, oraz pierścieniowego aplikatora zmodyfikowanego dla potrzeb badań doświadczalnych (przekrój kwadratowy).

Częstotliwość impulsów podstawowych stosowanego zmiennego pola magnetycznego mieściła się w przedziale 180-195 Hz, częstotliwość paczek impulsów w przedziale 12,5-29 Hz, grup paczek 2,8-7,6 Hz i serii 0,08-0,3 Hz. Impulsy podstawowe miały przebieg zbliżony do piłokształtnego. W trakcie ekspozycji stosowano program terapeutyczny M2P2, w którym wykorzystywana jest opcja cyklotronowego rezonansu jonowego, a stopień intensywności pola narasta cyklicznie w czasie aplikacji co 10 lub 12 sekund, do osiągnięcia wybranego poziomu.

W trakcie ekspozycji zwierzęta umieszczano po 6 sztuk równocześnie w specjalnie skonstruowanej plastikowej komorze wypełniającej wnętrze cewki aplikatora, umożliwiającej swobodne poruszanie się i odizolowanie od fekalii. Podczas ekspozycji zapewniono wymuszony nawiew powietrza, pozwalający na utrzymywanie stałej temperatury we wnętrzu komory.

Ekspozycję na zmienne pola magnetyczne prowadzono codziennie przez 36 minut (o tej samej porze dnia, w godzinach popołudniowych) przez 14 dni.

Szczury z podgrup 1 grupy II i IV (48 szczurów) eksponowano w zmiennym polu magnetycznym o indukcji 360 μ T generowanym za pomocą aplikatora płaskiego – komora ekspozycyjna umieszczona była na powierzchni aplikatora umieszczonego na podłożu w pozycji horyzontalnej. Szczury z podgrup 2 grupy II i IV eksponowano w zmiennym polu magnetycznym o indukcji 10 μ T generowanym za pomocą aplikatora cylindrycznego – komora ekspozycyjna wypełniała wnętrze aplikatora umieszczonego na podłożu, w pozycji horyzontalnej, z osią ustawioną prostopadle do podłoża. Szczury z podgrup 3 grupy II i IV eksponowano w zmiennym polu magnetycznym o indukcji 60 μ T, natomiast szczury z podgrup 4 grupy II i IV w zmiennym polu magnetycznym o indukcji 120 μ T. W obu przypadkach zastosowano aplikator cylindryczny. Zwierzęta kontrolne z grup I i III poddawano ekspozycji pozorowanej w identycznej komorze ekspozycyjnej. Pole magnetyczne nie było generowane.

Pobieranie stawu biodrowego do badań patomorfologicznych

W 7. i 14. dobie cyklu ekspozycji na działanie zmiennego pola magnetycznego lub ekspozycji pozorowanej oraz w 7. i 14. dniu po jej zakończeniu, szczury poddawano eutanazji w narkozie ketaminowej, a następnie pobierano prawy staw biodrowy z przylegającymi kośćmi miednicy oraz fragmentem kości udowej do badania patomorfologicznego.

Przygotowanie preparatów do badania histologicznego

Pobrany materiał utrwalano w roztworze 10-procentowej zubożonej formaliny. Po uprzedniej ocenie makroskopowej pobierano wycinki z mięśni i kości, z których następnie sporządzano skrawki tkankowe metodą parafinową.

Wycinki uprzednio odwapnione w aparacie DECALCIFIER II firmy Surgipath, obejmowały w jednym przekroju panewkę, kość udową oraz tkanki miękkie okołostawowe. Skrawki te barwiono w sposób rutynowy metodą H&E i oceniano w mikroskopie świetlnym AX 70 firmy OLYMPUS.

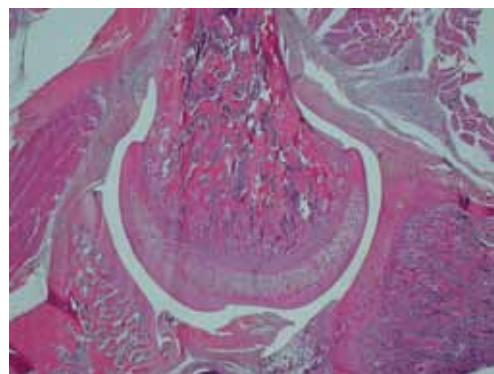
Badanie makroskopowe obejmowało ocenę barwy i architektury tkanek okołostawowych, zawartości jamy stawowej, powierzchni błony maziowej i chrząstki stawowej oraz głowy kości udowej. Badanie mikroskopowe miało na celu ocenę histoarchitektoniki mięśni szkieletowych, torebki stawowej, błony maziowej, głowy kości udowej i panewki stawowej.

Ocenę patomorfologiczną wykonano w Zakładzie Patomorfologii Wojskowego Instytutu Medycznego Centralnego Szpitala Klinicznego MON w Warszawie, kierowanym przez prof. dr. hab. n. med. Wojciecha Kozłowskiego.

Wyniki

Badanie makroskopowe nie wykazało istotnych różnic morfologii badanych narządów u zwierząt z indukowanym eksperymentalnie stanem zapalnym, eksponowanych na działanie pola magnetycznego, w porównaniu z grupą kontrolną poddawaną ekspozycji pozorowanej, bez względu na wartość indukcji stosowanego pola magnetycznego. Mięśnie w przekroju posiadały prawidłowo utrzymaną architekturę i były barwy brązowoczerwonej. Nie stwierdzono również różnic architektury pomiędzy preparatami szczurów grupy z indukowanym miejscowym stanem zapalnym, poddawanych ekspozycji pozorowanej, a grupą kontrolną bez indukowanego stanu zapalnego.

Również badanie mikroskopowe nie wykazało istotnych różnic między grupami doświadczalnymi i porównawczymi. Błona maziowa, torebka stawowa, panewka oraz chrząstki stawowe i głowa kości udowej posiadały prawidłowo utrzymaną histoarchitekturę. W jamie stawowej nie stwierdzono patologicznej wydzieliny, a układ przestrzenny, w tym więzadłowy, był prawidłowo utrzymany (rys. 1).



Rys. 1 Obraz histologiczny prawidłowo utrzymanych struktur histoarchitektonicznych stawu biodrowego u szczura z indukowanym ostrym, miejscowym stanem zapalnym, poddanego ekspozycji na działanie zmiennego pola magnetycznego o niskich wartościach indukcji. Barwienie H&E. Powiększenie ok. 16x

Dyskusja

Wyniki badania dowodzą, że miejscowy stan zapalny wywołany za pomocą modelu eksperymentalnego nie powoduje widocznych makroskopowo ani w mikroskopie świetlnym patologicznych zmian struktury kostnej i mięśniowej stawu biodrowego, w okolicy którego toczy się proces zapalny. Ostry przebieg stanu zapalnego uzyskiwany w stosowanym modelu powoduje jedynie zmiany w otaczających staw strukturach łącznotkankowych. Wyniki eksperymentu, w którym szczury z doświadczalnie wywołanym zapaleniem ścięgna Achillesa poddano ekspozycji w impulsowym polu magnetycznym o częstotliwości 17 i 50 Hz, prowadzonej 15 minut dziennie przez 28 dni, potwierdzają, że lokalne efekty przeciwzapalny i przeciwobrzękowy związane są z oddziaływaniem na struktury łącznotkankowe, przejawiającym się zmniejszeniem zawartości wody w tkance ścięgna, a także bardziej regularnym ustawieniem względem siebie włókien kolagenu, prowadzącym do szybszej normalizacji obrazu histologicznego w porównaniu z grupą kontrolną, nie poddawaną ekspozycji w polu magnetycznym [9].

Wydaje się zatem, że korzystne efekty terapeutyczne magnetostymulacji u chorych z przewlekłymi zmianami zapalnymi układu kostno-stawowego wynikają głównie z działania przeciwzapalnego i przeciwobrzękowego na łącznotkankowe struktury okołostawowe, co prowadzi do zmniejszenia nasilenia dolegliwości bólowych u chorych. Potwierdzenie tej tezy stanowią wyniki doświadczenia na modelu zwierzęcym szczurów Lewisa – imitującym reumatoidalne zapalenie stawów, w którym wykazano, że długotrwała ekspozycja w zmiennym polu magnetycznym powoduje zmniejszenie nasilenia obrzęku stawu oraz zmniejszenie stężenia a2-makroglobuliny, będącej markerem nasilenia procesu zapalnego [10].

K. Ganesan i in., analizując liczne badania prowadzone na modelach zwierzęcych i hodowlach komórkowych, potwierdzili, że zmienne pola magnetyczne o wyższych niż w przedstawionym eksperymencie wartościach indukcji powodują w przypadku przewlekłych procesów zapalnych stawów nie tylko złagodzenie dolegliwości bólowych, ale także działają chondroprotekcynie, pobudzają miejscowe mechanizmy przeciwzapalne i korzystnie wpływają na remodelling kości [11]. W innym doświadczeniu, w którym świnki morskie rasy Hartley ze spontanicznie powstałym stanem zapalnym stawu udowo-piszczelowego poddawano długotrwałej ekspozycji (1 godzinę dziennie przez 6 miesięcy) w zmiennym polu magnetycznym o wartościach indukcji przekraczających stosowane w prezentowanym doświadczeniu wykazano, że ekspozycja w polu magnetycznym powoduje zwolnienie rozwoju zmian zapalnych w chrząstce stawowej w ocenie histologicznej oraz działa chondroprotekcynie poprzez pobudzenie wydzielania TGF- β , zwiększenie syntezy inhibitorów metaloproteaz oraz zmniejszenie aktywności enzymów degradujących chrząstkę (kolagenaza i stromelizyna) [12].

Uwzględniając wyniki powyższych badań, nie można jednoznacznie wykluczyć potencjalnego wpływu zmiennego pola magnetycznego o niskich wartościach indukcji na przebieg procesów patologicznych w strukturach kostnych i chrzęstnych stawów w przypadku długotrwałego procesu zapalnego o charakterze przewlekłym, jednak ocena takiego efektu wymaga stosowania innego modelu doświadczalnego.

Wniosek

Ekspozycja w zmiennym polu magnetycznym o niskich wartościach indukcji, stosowanych w magnetostymulacji, nie powoduje istotnych zmian w architektonice mięśni oraz w strukturze stawu biodrowego i głowy kości udowej szczurów z indukowaną eksperymentalnie miejscową, ostrą reakcją zapalną. ■

Literatura

1. A. Sieroń, G. Cieśla, A. Kawczyk-Krupka, T. Biniszkiwicz, A. Bilska-Urban, M. Adamek: *Zastosowanie pól magnetycznych w medycynie*, α -medica press, Bielsko-Biała 2002.
2. G. Fischer, R.B. Pelka, J. Barovic: *Adjuvant treatment of knee osteoarthritis with weak pulsing magnetic fields. Results of a placebo-controlled trail prospective clinical trial*, *Z Orthop Ihre Grenzgeb*, vol. 143(5), 2005, s. 544-550.
3. P. Nicolakis, J. Kollmitzer, R. Crevenna, C. Bittner, C.B. Erdogmus, J. Nicolakis: *Pulsed magnetic field therapy for osteoarthritis of the knee – a double-blind sham-controlled trial*, *Wien Klin Wochenschr*, vol. 114(15-16), 2002, s. 678-684.
4. N. Pipitone, D.L. Scott: *Magnetic pulse treatment for knee osteoarthritis: a randomised, double-blind, placebo-controlled study*, *Curr Med Res Opin*, vol. 17(3), 2001, s. 190-196.
5. A. Sieroń, T. Biniszkiwicz, K. Sieroń, M. Głowacka, K. Biniszkiwicz: *Subiektywna ocena efektów leczniczych słabych pól magnetycznych*, *Inżynieria Biomedyczna – Acta Bio-Optica et Informatica Medica*, vol. 4, 1998, s. 133-137.
6. A. Sieroń, K. Sieroń-Stołtny, T. Biniszkiwicz, A. Stanek, T. Stołtny, K. Biniszkiwicz: *Analiza skuteczności terapeutycznej magnetostymulacji systemem Vioform JPS w wybranych jednostkach chorobowych*, *Inżynieria Biomedyczna – Acta Bio-Optica et Informatica Medica*, vol. 7, 2001, s. 1-8.
7. P. Vavken, F. Arrich, O. Schuhfried, R. Dorotka: *Effectiveness of pulsed electromagnetic field therapy in the management of osteoarthritis of the knee: a meta-analysis of randomized controlled trials*, *J Rehabil Med*, vol. 41(6), 2009, s. 406-411.
8. M. Woldańska-Okońska, J. Czernicki, M. Hyż: *Ocena skuteczności przeciwbólowej pól magnetycznych o różnej charakterystyce*, *Balneologia Polska*, vol. 41(1-2), 1999, s. 57-62.
9. E.W. Lee, N. Maffulli, C.K. Li, K.M. Chan: *Pulsed magnetic and electromagnetic fields in experimental Achilles tendonitis in the rat: a prospective randomized study*, *Arch Phys Med Rehabil*, vol. 78(4), 1997, s. 399-404.
10. A.B. Dortch, M.T. Johnson: *Characterization of pulsed magnetic field therapy in a rat model for rheumatoid arthritis*, *Biomedical Sciences Instrumentation*, vol. 42, 2006, s. 302-307.
11. K. Ganesan, A.C. Gengadharan, C. Balachandran, B.M. Manohar, R. Puvanakrishnan: *Low frequency pulsed electromagnetic field – a viable alternative therapy for arthritis*, *Indian J Exp Biol*, vol. 47(12), 2009, s. 939-948.
12. D.M. Ciombor, R.K. Aaron, S. Wang, B. Simon: *Modification of osteoarthritis by pulsed electromagnetic field – a morphological study*, *Osteoarthritis Cartilage*, vol. 11(6), 2003, s. 455-462.

otrzymano / received: 26.10.2011
zaakceptowano / accepted: 05.01.2012