

# Wpływ pola elektromagnetycznego na zmiany stężenia jonów wapnia w komórce

Ada Podwysocka, Mariusz Łapiński

Centrum Inżynierii Biomedycznej, Instytut Optoelektroniki, Wojskowa Akademia Techniczna, ul. gen. Sylwestra Kaliskiego 2, 00-908 Warszawa, e-mail: [ada.podwysocka@wat.edu.pl](mailto:ada.podwysocka@wat.edu.pl)

## Wstęp

Wapń należy do grupy makroelementów i jego fizjologiczne stężenie we krwi wynosi 2,15-2,6 mmol/l. Ponad 50% jonów wapnia występuje w postaci zjonizowanej - aktywnej metabolicznie, natomiast pozostała część związana jest z białkami osocza oraz grupy CaBP. Poziom wapnia w komórkach eukariotycznych wynosi około 100nM i odgrywa istotną rolę w procesach fizjologicznych. Jony wapnia wpływają na szereg procesów biochemicznych w organizmie. Należą do nich m.in.:

- zachowanie homeostazy – poprzez właściwą przepuszczalność błon komórkowych oraz prawidłowy proces krzepnięcia
- mineralizacja kości - prawie 99% tego pierwiastka znajduje się w szkielecie w postaci apatytów.
- pobudliwość tkanek - regulacja motoryki skurczu mięśni szkieletowych, gładkich oraz poprzecznie prążkowanych.
- wspomaganie uwalniania neuroprzebieżników przez regulację działania enzymów zależnych od stężenia wapnia.

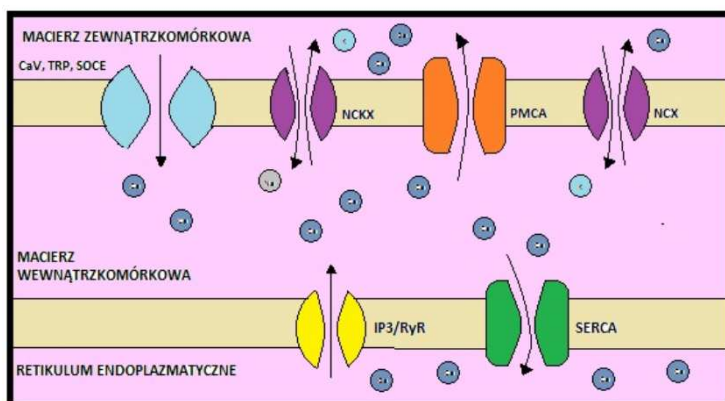
## Wpływ pola elektromagnetycznego na stężenie wapnia w komórce

Od ponad 20 lat ośrodki badawcze na świecie zajmują się badaniem wpływu pola elektromagnetycznego na zmiany stężenia wapnia w komórkach. Zainteresowanie tym tematem spowodowane jest rozwojem infrastruktury telekomunikacyjnej i w konsekwencji powstawaniem nowych źródeł PEM oddziałujących na ich użytkowników. Choć wyniki badań na temat wpływu PEM na stężenie wapnia w komórkach nie są jednoznaczne, to analizując dostępne dotychczas piśmiennictwo należy wysnuć wniosek iż istnieje zależność między ekspozycją na PEM a zaburzeniami w gospodarce wapniowej w obrębie komórki.

Pole elektromagnetyczne o określonych częstotliwościach wywołuje zmiany stężenia wapnia w komórce, powodując zaburzenia w obrębie transportu wewnątrz i zewnątrzkomórkowego wapnia a także mechanizmów działania magazynów wapniowym zlokalizowanych w retikulum endoplazmatycznym. Do najważniejszych funkcji, za które odpowiada stężenie jonów wapnia w komórce należy zaliczyć m.in.:

- ekspresję genów, czego przykład stanowi synteza parathormonu w komórkach przytarczyc zachodząca pod wpływem zwiększonego poziomu wapnia,
- stymulację mitochondrium w kierunku syntezy ATP, poprzez mechanizm oddziaływania wapnia na dehydrogenazy macierzy mitochondrialnej,
- kierowanie komórki na drogę apoptozy, poprzez nadmierne stężenie jonów wapnia w połączeniu kumulacją reaktywnych form tlenu w mitochondrium, powodując otwarcie porów PTP (*ang.* permeability transition pore). Skutkiem czego następuje pęcznienie mitochondrium i mechaniczne rozerwanie zewnętrznej błony. W wyniku tej reakcji następuje uwolnienie cytochromu C, endonukleazy G oraz inhibitorów białek anty-apoptotycznych Smac/DIABLO (second mitochondria-derived activator of caspases). Zmiany te prowadzą do wewnątrzpochođnej apoptozy.

## Mechanizm działania kanałów wapniowych



Stężenie wapnia w macierzy zewnątrzkomórkowej wynosi 1-2 mM. Stanowi to wartość czterokrotnie większą niż panująca wewnątrz komórki. Za utrzymanie takiego gradientu odpowiadają mechanizmy komórkowe opierające się na:

- działaniu kanałów wapniowych na błonie kom. wymieniających jony wapniowe między macierzą wewnątrz i zewnątrzkomórkową.
- aktywności receptorów oraz kanałów wapniowych gospodarujących jonami wapnia wewnątrz komórki.

Za usuwanie wapnia z macierzy wewnątrzkomórkowej odpowiadają pompy wapniowe wykorzystujące ATP. Należą do nich występujące na powierzchni błony komórkowej: pompa PMCA (*ang.* plasma membrane  $Ca^{2+}$  ATPase), pompa sodowo- wapniowa (NCX) wymieniająca jeden jon  $Ca^{2+}$  w zamian za trzy jony  $Na^{+}$ , pompa sodowa/wapniowa – potasowa (NCKX) transportująca jeden jon  $K^{+}$  za jeden jon  $Ca^{2+}$ . Natomiast wewnątrz komórki za usuwanie wapnia z cytoplazmy do retikulum endoplazmatycznego odpowiedzialna jest pompa wapniowa SERCA. W błonie ER znajdują się również receptory  $IP_3$  i  $RyR$  odpowiedzialne za wyrzut wapnia do macierzy wewnątrzkomórkowej. W procesie napływu wapnia do komórki biorą udział kanały wapniowe bramkowane napięciem VOCs (*ang.* voltage operated  $Ca^{2+}$  channels), kanały wapniowe zależne od ligandów TRP (*ang.* transient receptor potential) oraz kanały SOCE (*ang.* store operated  $Ca^{2+}$  channels), regulowane przez magazyn wapniowy. Oprócz wzajemnie uzupełniających swoją pracę pomp wapniowych w gospodarce jonem w macierzy komórkowej biorą udział białka posiadające domenę EF buforujące wapń oraz mitochondrium transportujące nadmiar jonów do macierzy mitochondrialnej poprzez mCu (*ang.* mitochondrial calcium uniporter).

## Plan eksperymentów realizowanych w Pracowni Pól Elektromagnetycznych



Rys. 2 Laserowy skaningowy system LSM 700 z mikroskopem konfokalnym Zeiss Axio Observer Z1



Rys. 3 Cytometr przepływowo Becton Dickinson BD FACS Aria Fusion

Plan badań nad wpływem pola elektromagnetycznego na stężenie wapnia w komórce, obejmuje ekspozycję linii komórek nowotworowych Hela, TD74 i DU145 na różne częstotliwości PEM oraz wykorzystanie metod badawczych umożliwiających dokładne zdefiniowanie zmian w obrębie transportu wewnątrz i zewnątrzkomórkowego wapnia. Eksperyment zakłada zastosowanie następujących metod badawczych:

- Metody wykorzystujące fluorescencyjne identyfikatory jonów wapnia, pozwalające na podstawie intensywności fluorescencji dla fal wzbudzenia oraz emisji określić wewnątrzkomórkowe stężenie. Pomiar dokonywany jest za pomocą mikroskopii fluorescencyjnej oraz cytometrii przepływowo.
- Metody oparte na detekcji oraz analizie ilościowej białek występujących w kanałach wapniowych. Badanie polega na rozdzieleniu zdenaturowanych peptydów na żelu poliakrylamidowym w trakcie procesu elektroforezy. Analiza wyników dokonywana jest za pomocą chemiluminescencji, polegającej na emisji fal świetlnych wytworzonych w wyniku reakcji chemicznych.
- Metody elektrochemii biologicznej polegające na badaniu transportu jonów wapnia przez błonę pojedynczej komórki, w tym potencjału kanałów wapniowych. Badanie wykonuje się pod mikroskopem połączonym z mikromanipulatorami, które umożliwiają precyzyjną pracę z komórką.