



Effect of prolonged exposure to low-frequency electromagnetic fields on the interaction of nitrgergic and cholinergic systems in the isolated rat trachea

Tahereh Sadat javadifar¹, Aminollah Bahaoddini¹, Mohammad Ali Ketabi³, Firozeh Gholampour¹,
Hosein Mirkhanni²

1. Dept. biology, School of Sciences, Shiraz university, Shiraz, Iran

2. Dept. pharmacology, school of medicine, Shiraz university of medical sciences, Shiraz, Iran

3. Dept. endodontics, dental school, shahid Beheshti Medical university, Tehran, Iran

Received: 31 Jan 2011

Accepted: 17 Sept 2011

Abstract

Introduction: Nitric Oxide is an important endogenous compound that acts as bronchodilator in trachea. Electromagnetic fields (EMF) affect nitric oxide level in different tissues. The interaction of nitrgergic and cholinergic systems in airways has been reported. Therefore, the present study was performed to evaluate the interaction of cholinergic and nitrgergic systems in the trachea of rats that have been exposed to EMF.

Methods: Adult male rats were divided into 3 groups: experimental group was exposed to 1 mT (militesla) EMF for 135 days, sham group was kept in the same condition but in off solenoid and control group was kept in normal condition. After 135 days, the mechanical response of transverse rings of isolated trachea to acetylcholine in the absence and presence of L-NAME, an inhibitor of nitric oxide synthesis, were recorded using PowerLab-AD system.

Results: The results showed a significant increase in cholinergic contractions of trachea in the presence of L-NAME in control and sham groups ($P < 0.05$). However this enhancement of contraction was not detected in EMF exposed group.

Conclusion: It can be concluded that nitric oxide has a modulatory effect on the airway cholinergic contraction, however this modulation is inhibited by prolonged exposure to EMF.

Key words: electromagnetic field, trachea, nitrgergic system

* Corresponding author e-mail: bahaoddini@shirazu.ac.ir
Available online at: www.phypha.ir/ppj

بررسی تأثیر قرارگیری دراز مدت در معرض امواج الکترومغناطیس کم فرکانس بر تداخل اثر سیستم نیتروژیک و کولینرژیک در نای ایزوله در موش صحرایی

طاهره السادات جوادی فر^۱، امین الله بهاءالدینی^{۲*}، محمد علی کتابی^۳، فیروزه غلامپور^۱، حسین میرخانی^۲

۱. بخش زیست شناسی، دانشکده علوم دانشگاه شیراز، شیراز

۲. گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز

۳. بخش اندودانتیکس، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران

پذیرش: ۲۶ شهریور ۹۰

دریافت: ۱۱ بهمن ۸۹

چکیده

مقدمه: نیتریک اکساید یک ماده مهم درون‌زاد در مجاری هوایی است که باعث شل شدگی برونشها می‌گردد. امواج الکترومغناطیس (EMF) می‌توانند بر میزان نیتریک اکساید در بافتهای مختلف تأثیرگذار باشند. تداخل اثر سیستم های نیتروژیک و کولینرژیک در مجاری هوایی گزارش شده است. لذا در تحقیق حاضر تداخل دو سیستم نیتروژیک و کولینرژیک تحت اثر امواج الکترومغناطیس مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها: موش‌های صحرایی نر بالغ به سه گروه تقسیم شدند: گروه آزمایشی به مدت ۱۳۵ روز تحت تأثیر امواج الکترومغناطیس با شدت ۱ میلی تسلا قرار گرفتند، گروه شاهد در شرایط مشابه با گروه آزمایشی ولی در سلنوئید خاموش قرار گرفتند و گروه کنترل در شرایط معمولی نگهداری شدند. بعد از ۱۳۵ روز پاسخ مکانیکی حلقه‌های عرضی نای ایزوله شده به استیل کولین در غیاب و حضور L-NAME توسط سیستم Powerlab-AtoD ثبت گردید.

یافته‌ها: در گروههای کنترل و شاهد تأثیر L-NAME (داروی مهارگر تولید نیتریک اکساید) بر نای ایزوله به طور معناداری باعث تقویت انقباض کولینرژیک ناشی از استیل کولین شد، در حالیکه این تقویت انقباض کولینرژیک ناشی از L-NAME در گروه قرار گرفته در معرض امواج الکترومغناطیس مشاهده نگردید.

نتیجه‌گیری: بنابراین می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که سیستم نیتروژیک در مجاری هوایی اثر تعدیلی بر فعالیت انقباضی ناشی از تحریک کولینرژیک دارد که این اثر در نتیجه قرار گرفتن دراز مدت در معرض EMF مهار می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: امواج الکترو مغناطیس، نای، سیستم نیتروژیک

مقدمه

تکنیک‌های مختلف علمی و پزشکی موجب شده که همواره نگرانی عمومی در مورد خطرات احتمالی حاصل از میدانهای الکترومغناطیس، که در اثر استفاده روزانه ما از وسایل الکتریکی ایجاد می‌شوند، وجود داشته باشد [۱۸]. امواج کم فرکانس EMF که فرکانس آنها بین صفر تا ۳۰۰ هرتز و شدت آنها در حدود ۰/۱ تا ۱۰۰ میلی تسلاست، غیر یونیزان می‌باشند و انرژی آنها آنقدر زیاد نیست که قادر به شکستن پیوندهای

زندگی مداوم ما در میدان مغناطیسی زمین واز طرف دیگر پیشرفت دانش علوم پایه برای استفاده از EMF در

bahaodini@shirazu.ac.ir

www.phypha.ir/ppj

* نویسنده مسئول مکاتبات:

وبگاه مجله:

عنوان نوروترنسمیتر تحریکی، نوروترنسمیتر مهارى غیرآدرنژیک-غیرکولینرژیک که در مجاری هوایی غالباً نیتریک اکساید (NO) می‌باشد را نیز آزاد می‌کند [۱۶و۴]. میزان پتانسیل تحریکی غشاء برای آزادسازی ACh و NO اغلب یکسان بوده و شاید همین تداخل اثر مابین ACh و NO را در محل پس سیناپسی نشان می‌دهد [۱۵]. فعالیت نیتریک اکساید به عنوان یک مهار کننده غیرآدرنژیک در مجاری هوایی بزرگ و کوچک انسان ثابت شده است و تصور می‌شود که یکی از دلائل افزایش فعالیت انقباضی مجاری هوایی در بیماری آسم، عدم وجود این مکانیسم مهارى باشد [۱۲]. Kitsiopoulou و همکاران معتقدند اپیتلیوم مجاری هوایی با تعدیل فعالیت eNOS به انقباض مجاری هوایی در اثر استیل کولین پاسخ می‌دهد [۱۱]. از آنجایی که در این زمینه نظرات متناقض وجود دارد، لذا در مطالعه حاضر بر آن شدیم که تأثیر طولانی مدت امواج الکترومغناطیس کم فرکانس را بر نحوه تداخل اثر دو سیستم کولینرژیک و نیتروژنیک در مجاری هوایی بررسی نماییم.

مواد و روش ها

تعداد ۱۸ سر رت نر با محدوده وزنی ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم از نژاد ویستار به طور تصادفی انتخاب شدند. رت ها در دمای $22 \pm$ درجه سانتی گراد و شرایط محیطی ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شده و از نظر مصرف آب و غذا در تمام دوره آزمایش محدودیتی نداشتند. مسائل اخلاقی در مورد کار با حیوانات آزمایشگاهی نظیر بیهوشی در هنگام جراحی زیر نظر کمیته اخلاق زیستی بخش زیست شناسی کاملاً رعایت گردید. پس از گذشت یک هفته و حصول اطمینان از سلامت حیوانات رت ها به طور تصادفی به ۳ گروه ۶ تایی به شرح زیر تقسیم بندی شدند:

- ۱- گروه آزمایشی که به طور ۲۴ ساعته و به مدت ۱۳۵ روز در دستگاه سلنویید روشن در معرض امواج الکترومغناطیس با شدت ۱ میلی تسلا و فرکانس ۵۰ هرتز قرار گرفتند.
- ۲- گروه شاهد که به مدت ۱۳۵ روز در دستگاه سلنویید خاموش قرار گرفتند.
- ۳- گروه کنترل که در شرایط معمول آزمایشگاه نگهداری

شیمیایی باشند، اما این امواج می‌توانند روی فعالیت‌های سلولی تأثیرگذار باشد [۱]. مطالعاتی وجود دارند که حاکی از تأثیر امواج بر سیستم تنفسی می‌باشند، از جمله Sadlonova و همکاران معتقدند که استفاده از امواج الکترومغناطیس کم فرکانس باعث بهبود پارامترهای اسپیرومتری در بچه های مبتلا به آسم می‌گردد [۲۳].

Vernon و همکاران نیز نشان دادند که اعمال امواج کم فرکانس بر عضلات بازدمی سیستم تنفسی انسان موجب تقویت حجم باقیمانده تنفسی و نرخ جریان هوای تولیدی می‌شود [۲۸]. نیتریک اکساید یک ماده مهم درون‌زاد است که شل کننده برونشها می‌باشد. نیتریک اکساید توسط یکی از انواع ایزوفرمهای آنزیم تولید کننده NO (NOS) تولید می‌گردد. انواع آنزیم نیتریک اکساید سنتتاز شامل NOS نورونی (nNOS)، اندوتلیال یا اپیتلیال (eNOS) و آنزیم القایی تولید کننده نیتریک اکساید (iNOS) می‌باشند [۱۲]. نتایج مطالعات بر روی بافتهای مختلف حاکی از افزایش تولید نیتریک اکساید تحت تأثیر امواج الکترومغناطیس می‌باشند. مطالعه Patruno و همکاران نشان داد که قرارگیری طولانی مدت سلولهای کراتینوسیت در معرض EMF با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۱ میلی تسلا موجب افزایش سطح بیان iNOS و eNOS می‌گردد [۲۰].

همچنین Diniz و همکاران نیز معتقدند تحریک EMF با شدت ۰/۶ میلی تسلا باعث افزایش غلظت NO در سلولهای استئوبلاست می‌شود [۶]. برخی از محققین نیز پیشنهاد می‌دهند که EMF باعث کاهش میزان NO در سلولها می‌گردد، از جمله Real و همکاران با استفاده از آنالیزهای PCR و وسترن بلات نشان دادند که قرارگیری طولانی مدت سلولهای مونوسیت انسان در معرض EMF با شدت ۱ میلی تسلا باعث کاهش بیان آنزیم القایی NOS در سطح mRNA و در سطح پروتیین می‌گردد [۲۲]. از طرف دیگر مطالعاتی هم برای تأیید تداخل اثر بین دو سیستم کولینرژیک و نیتروژنیک مجاری هوایی وجود دارد [۱۶و۴و۱۵]. تحریک عصبی واگ که عصب دهی پاراسمپاتیک نای را به عهده دارد باعث تحریک انقباض موسکارینیک و شل شدگی غیرآدرنژیک-غیرکولینرژیک می‌شود [۱۶و۴]. عصب واگ به عنوان عصب پاراسمپاتیک نای علاوه بر آزادسازی استیل کولین (ACh) به

شدند.

در طول مدت اعمال EMF دما به طور دائم کنترل می شد و در حد دمای اتاق ثابت نگه داشته می شد. با توجه به اینکه میدان الکترومغناطیس با شدت بین ۰/۲ تا ۳/۵ میلی تسلا لازم است تا اثرات EMF را روی پارامترهای اتصال به گیرنده بسنجیم [۲۷]، و در مطالعات مشابه برای مشاهده اثرات سلولی EMF و به خصوص اثرات آن بر غشاء سلول و رستپورها معمولاً از شدت ۱ میلی تسلا استفاده می شود [۱۳ و ۳]. در مطالعه حاضر نیز از شدت ۱ میلی تسلا با فرکانس ۵۰ هرتز استفاده گردید. برای تولید امواج الکترومغناطیس از دستگاه سلنوئید استفاده شد که منبع تغذیه این دستگاه یک اتوترانس متغیر بوده که ورودی آن را برق شهر (۵۰ هرتز و ۲۲۰ ولت) تأمین می کرد و ولتاژ جریان ورودی طوری تنظیم شد که شدت میدان ۱ میلی تسلا بر قرار گردد. قبل از شروع آزمایش، به وسیله دستگاه آمپر متر، شدت جریان ورودی به دستگاه و همچنین توسط دستگاه تسلا متر شدت میدان مغناطیسی ایجاد شده اندازه گیری شد. بعد از گذشت ۱۳۵ روز رت ها با تزریق داخل صفاقی پنتوباریتال سدیم (۵۰ mg/kg) بیهوش شدند [۱۴]. پس از ایجاد برش در زیر ناحیه حنجره حیوان و کنار زدن فاشیا و عضله، بافت نای نمایان شد. قسمت های دیستال نای به خاطر بیشتر بودن مقدار عضله صاف مورد استفاده قرار گرفت. نای جدا شده به پتری دیش حاوی محلول کربس گرم (۳۷ درجه سانتی گراد) منتقل گردید و بدون آن که آسیبی به اپیتلیوم و عضله نای وارد شود، حلقه های عرضی با طول ۳ میلی متر از بافت نای تهیه شد [۱۹]. محلول کربس - هنسلیت با استفاده از ترکیبات زیر و بر حسب واحد میلی مولار تهیه گردید:

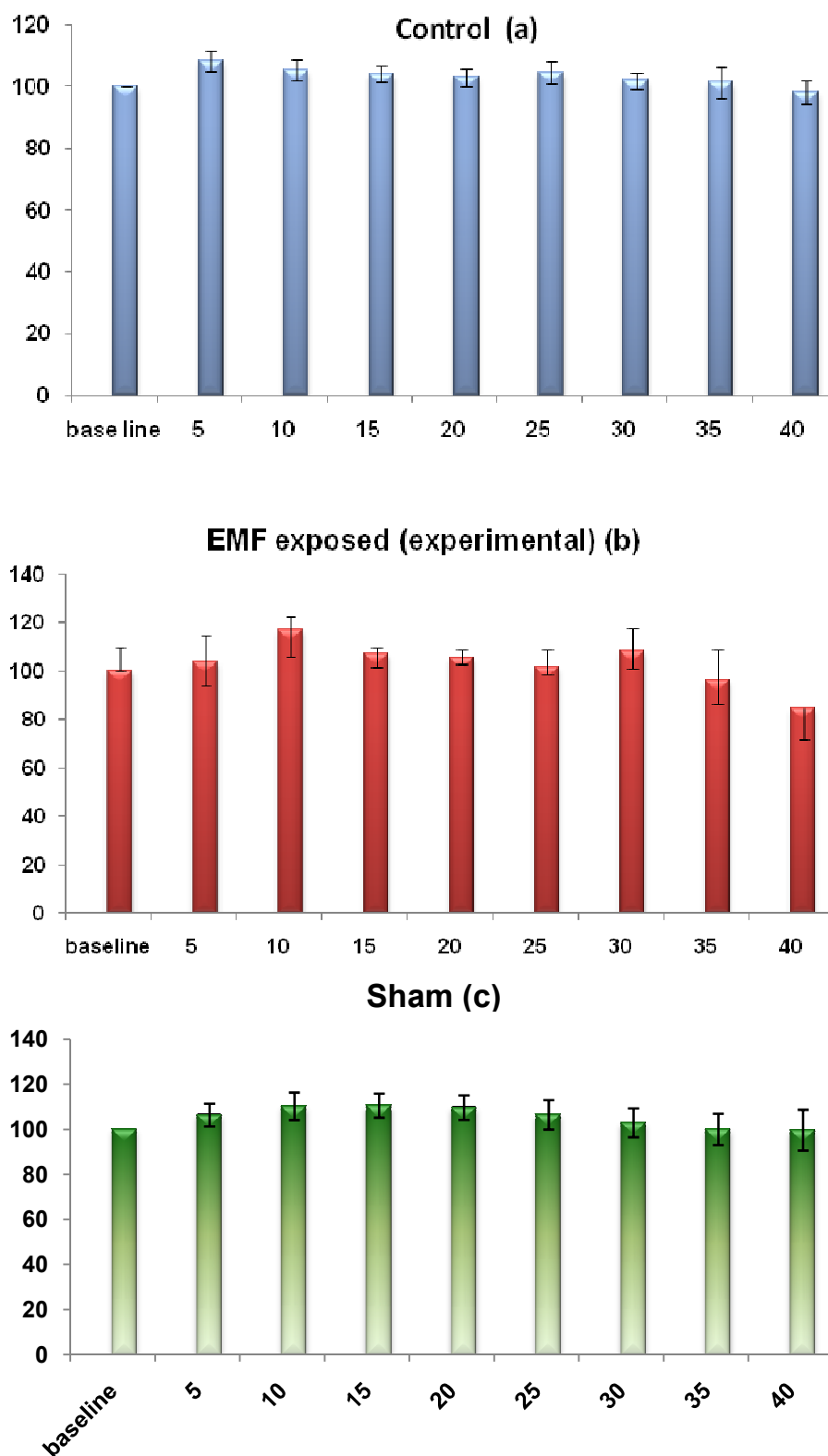
۱۱۸ NaCl, ۲۵ NaHCO₃, ۱/۲ MgSO₄, ۱/۲, ۱۱ glucose, ۲/۵ CaCl₂, ۴/۷ KCL, ۱۱ KH₂PO₄

درضمن PH محلول کربس قبل از استفاده توسط دستگاه PH متر کنترل می شد تا در حد ۷/۴ و خنثی باشد [۹]. دو حلقه عرضی نای به طور همزمان به دو حمام بافتی حاوی ۳۰ ml محلول کربس منتقل شده و هر حلقه نای توسط دو قلاب در محلول کربس معلق نگهداشته شد، یک قلاب نای را در حمام بافتی ثابت نگهداشته و قلاب دیگر بافت را به ترانسدیوسر نیرو متصل می کرد. تغییرات انقباضی عضله نای به ترانسدیوسر

نیرو منتقل شده و ترانسدیوسر نیز به دستگاه bridge Amplifier و سیستم Powerlab A to D متصل بود و به این ترتیب تغییرات مکانیکی انقباض بافت به سیگنالهای الکتریکی تبدیل شده و توسط مانیتور کامپیوتر قابل مشاهده و ارزیابی بود. در ابتدا حلقه های نای به مدت ۶۰ دقیقه تحت تانسینون ۰/۵ گرم به عنوان تانسینون پایه (baseline) قرار گرفته و در طول این مدت هر ۱۵ دقیقه یک بار توسط محلول کربس شستشو داده شد [۲۶]. در حالیکه بافت در محلول کربس غوطه ور بود، توسط دستگاه Water Circulator و ترموستات مربوطه دمای ۳۷ درجه سانتی گراد برقرار بود و به طور دائم با ۹۵ درصد اکسیژن و ۵ درصد دی اکسید کربن هوادهی می شد [۹]. دو آزمایش موازی و همزمان با یکدیگر بر روی یک جفت حلقه عرضی از نای یک حیوان و با طول مشابه ۳ میلی متر در دو حمام بافتی صورت گرفت. ابتدا هر دو حلقه تحت تأثیر استیل کولین ۱ میلی مولار (تهیه شده از شرکت سیگما - آلد ریچ آلمان) به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفتند و پس از شستشوی بافت و رسیدن مجدد آن به حالت تانسینون پایه، یکی از حلقه ها به طور تصادفی تحت تأثیر ۳۰۰ میکرو مولار L-NAME (مهارگر تولید NO) (تهیه شده از شرکت سیگما - آلد ریچ آلمان) و حلقه دیگر تحت تأثیر حجم مشابه از نرمال سالین (۰/۹ NaCl درصد) قرار گرفت و به مدت ۴۰ دقیقه به صورت همزمان به هر دو بافت زمان داده شد [۲۶]. سپس به طور همزمان به هر دو بافت استیل کولین ۱ میلی مولار اضافه گردید و به مدت ۱۰ دقیقه فعالیت انقباضی آن ثبت گردید. همچنین همین آزمایش یک بار دیگر با L-NAME به غلظت ۱۰ میکرومولار تکرار گردید تا اثر دوز L-NAME نیز بررسی گردد [۲۴]. جهت تجزیه و تحلیل داده ها در ابتدا نرمال بودن توزیع داده های بدست آمده با استفاده از آزمون one-sample Kolmogorov-Smirnov تایید شد و سپس برای مقایسه بین گروهها از تست ANOVA یک طرفه و LSD post test استفاده شد.

یافته ها

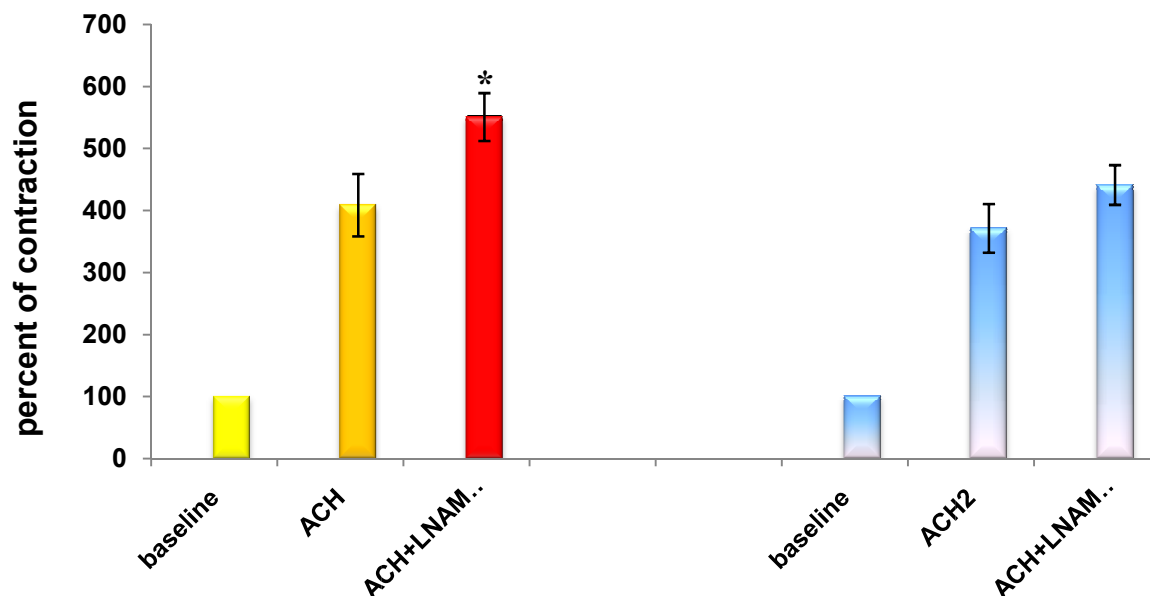
تغییرات تانسینون پایه بافت نای از زمان اعمال L-NAME تا مدت ۴۰ دقیقه به صورت هر ۵ دقیقه یک بار ارزیابی شد و در هر



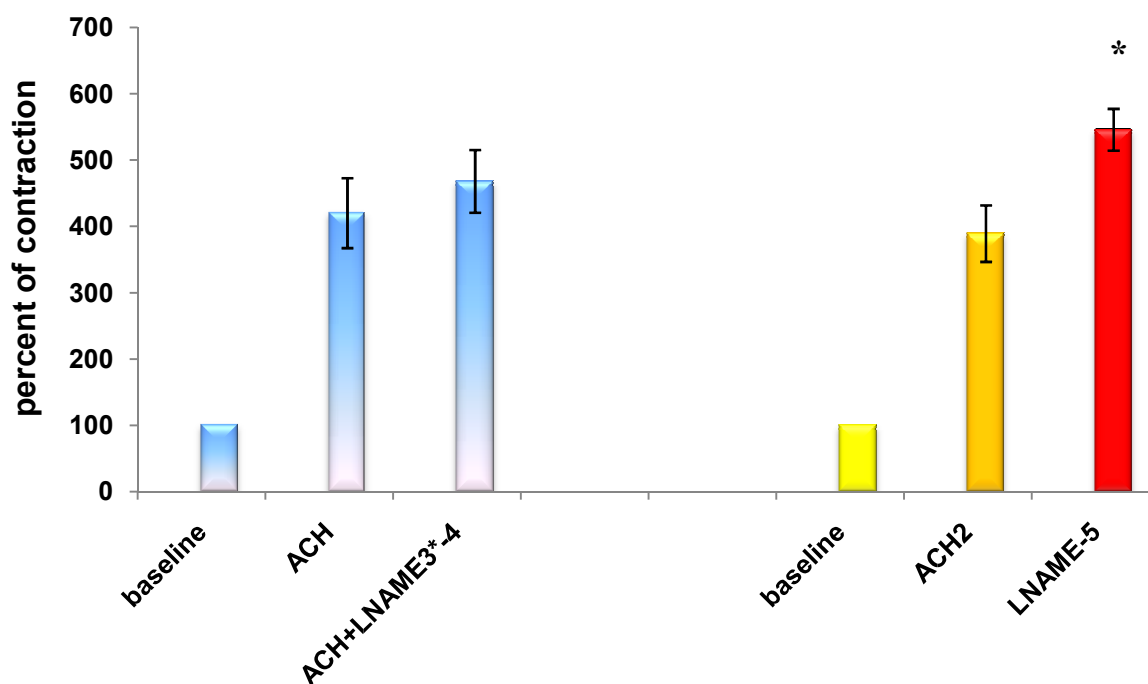
شکل ۱- تغییرات تانسیون پایه بافت در طول زمان کاربرد L-NAME در گروههای کنترل (a) و آزمایش (b) و شم (c)

گروه مورد آزمایش میزان تانسیون پایه بافت در زمان صفر (baseline) با دقایق بعدی کاربرد L-NAME مقایسه شد. در

همه گروههای آزمایشی در طول مدت زمان کاربرد L-NAME در تانسیون پایه بافت تفاوت معنی داری ایجاد



شکل ۲- درصد انقباض نای (mean ± SEM) در پاسخ به استیل کولین در حضور نرمال سالین (NS) و L-NAME با دوزهای مختلف در گروه کنترل (n=۶)، * P<۰/۰۵ دارای تفاوت معنی دار نسبت به حالت پایه (NS + Ach)

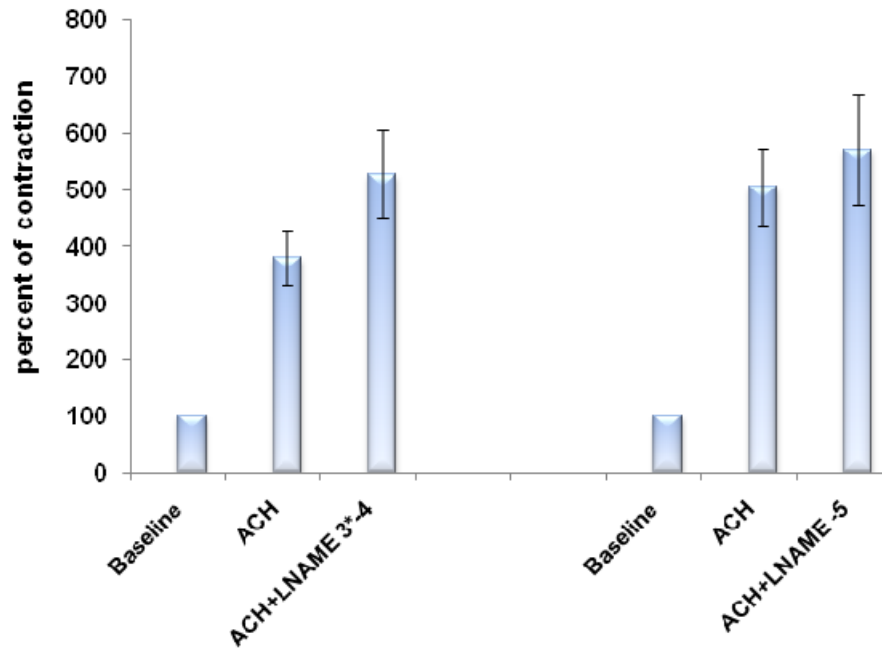


شکل ۳- درصد انقباض نای (mean ± SEM) در پاسخ به استیل کولین در حضور نرمال سالین (NS) و L-NAME با دوزهای مختلف در گروه شم (n=۶)، * P<۰/۰۵ دارای تفاوت معنی دار نسبت به حالت پایه (NS + Ach)

کولین را نمایش می دهد.

با توجه به جدول ۱ و شکل ۲ مشاهده می شود که در گروه کنترل L-NAME با دوز ۳۰۰ میکرومولار به طور معنی داری

نشد (شکل ۱). جدول (۱) میانگین درصد انقباض نای در حضور نرمال سالین و استیل کولین و همچنین در حضور L-NAME با دوزهای ۳۰۰ میکرومولار و ۱۰ میکرومولار توام با استیل



شکل ۴- درصد انقباض نای (mean $\pm$ SEM) در پاسخ به استیل کولین در حضور نرمال سالین (NS) و L-NAME با دوزهای مختلف در گروه آزمایشی (n=6)

جدول ۱- درصد انقباض نای (mean $\pm$ SE) در پاسخ به استیل کولین (ACh) ۱ میلی مولار در حضور نرمال سالین (NS) و یا L-NAME

Percent of tracheal contractin			Drug
Sham (n= 6)	Experimental (n=6)	(n=6) Control	
419.97 $\pm$ 52.75	379.14 $\pm$ 46.24	408.68 $\pm$ 50.33	NS + ACH
467.78 $\pm$ 47.34	528.13 $\pm$ 76.94	550.89 $\pm$ 38.66 *	ACH+L-NAME 300 μ M
389.03 $\pm$ 42.53	550.51 $\pm$ 67.62	371.91 $\pm$ 39.27	NS + ACH
545.68 $\pm$ 31.50 *	571.58 $\pm$ 97.53	441.27 $\pm$ 31.98	ACH+L-NAME 10 μ M

* $P < 0.05$ دارای تفاوت معنی دار نسبت به حالت پایه (NS + Ach)

بحث

نتایج تحقیق ما نشان داد که L-NAME در میزان تونوس پایه بافت نای در هیچ یک از گروههای آزمایشی تغییر معناداری ایجاد نکرد، در حالیکه در تقویت انقباض کولینرژیک در دو گروه کنترل و شاهد اثر چشمگیری داشت. بنابراین می توان نتیجه گرفت که NO باعث تعدیل اثرات انقباضی سیستم کولینرژیک در مجاری هوایی می شود. با توجه به اینکه NOS ساختمانی به وسیله افزایش غلظت کلسیم داخل سلولی

($P < 0.05$) باعث تقویت انقباض ناشی از استیل کولین نسبت به حالت پایه (استیل کولین + نرمال سالین) گردید. همچنین در گروه شاهد نیز همانطور که در جدول ۱ و شکل ۳ مشاهده می شود، L-NAME با دوز ۱۰ میکرومولار نیز به طور معنی داری ($P < 0.05$) باعث تقویت انقباض ناشی از استیل کولین نسبت به حالت پایه آن (استیل کولین + نرمال سالین) گردید. اما در گروه آزمایشی با توجه به جدول ۱ و شکل ۴ تقویت انقباضی L-NAME در هیچ یک از دوزهای به کار رفته آن تفاوت معنی داری را با حالت پایه نشان نداد.

مجاری هوایی مؤثر می باشد [۱۴]. نتایج بدست آمده با نتایج Real و همکاران در سال ۲۰۰۶ مطابقت دارد. آن ها با استفاده از آنالیزهای PCR و وسترن بلات نشان دادند که قرارگیری طولانی مدت سلولهای مونوسیت انسان در معرض EMF با شدت ۱ میلی تسلا باعث کاهش بیان آنزیم القایی NOS در سطح mRNA و در سطح پروتیین می گردد [۲۲]. در عین حال در بعضی از تحقیقات تناقضاتی با تحقیق حاضر مشاهده می شود که شاید به علت استفاده آنها از شدت های متفاوتی از EMF و یا مطالعه بر سلولهای متعلق به بافتهای دیگر باشد [۶ و ۲۰] با توجه به اینکه نوع پاسخ به این میدان ها بستگی به فرکانس، شدت میدان و مدت در معرض قرارگیری و ویژگی های مختص گونه و میزان حساسیت آن به امواج الکترومغناطیس دارد، این تناقضات قابل توجیه است [۲۵]. با توجه به نتایج حاصل می توان نتیجه گیری کرد که در شرایط معمولی نیتریک اکساید دارای نقش تعدیل کنندگی بر فعالیت های انقباضی کولینرژیک در مجاری هوایی است. همچنین می توان پیشنهاد داد که قرارگیری دراز مدت در معرض امواج الکترومغناطیس موجب ایجاد تغییراتی در میزان نیتریک اکساید بافت ها از جمله نای می گردد. برای مشخص شدن اینکه کدامیک از مکانیزم های یاد شده در این عملکرد دخالت داشته اند، پیشنهاد می شود در مطالعات آتی، سطح انواع مختلف NOS در بافت نای قرار گرفته در معرض EMF ارزیابی گردد.

سپاسگزاری

از بخش زیست شناسی دانشگاه شیراز که با حمایت های مالی خود ما را در انجام این مطالعه یاری نمودند، قدر دانی می شود. از همکاریهای آقای دکتر حیدری از بخش آمار زیستی دانشگاه علوم پزشکی شیراز سپاسگزاریم.

References

- [1] Aldinucci C, Carretta A, Maiorca SM, Leoncini S, Signorini C, Ciccoli L, Pessina, GP, Effect of 50 Hz electromagnetic fields on rat cortical synaptosomes. *Toxicol Indust Health* 25 (2009) 249- 252.
- [2] Alymkulov DA, Toichieva F.M, Saralinova G.M,

فعال شده و باعث پیشرفت اتصال کالمادولین به NOS می شود، فعالسازی NOS نیز باعث آزادسازی NO می گردد [۱۷]، این احتمال وجود دارد که استیل کولین از طریق افزایش کلسیم سلولی، به صورت سیگنالی جهت فعال شدن نیتریک اکساید سنتاز و افزایش تولید نیتریک اکساید عمل کند. با توجه به نتایج ما در طول مدت زمان کاربرد L-NAME در تانسپون پایه بافت تفاوت معنی داری ایجاد نشد که تایید کننده این مطلب است که احتمالاً نیتریک اکساید در بافت نای در نتیجه القا استیل کولین سنتز می شود. تحقیقات دیگری نیز وجود دارند که تأیید کننده نتایج تحقیق حاضر می باشند، از جمله این که Hatziefthimiou در سال ۲۰۰۵ نشان داد که اپیتلیوم مجاری هوایی باعث تعدیل حساسیت پذیری وابسته به استیل کولین در آغاز تانسپون در خرگوش می شود که این اثر در نهایت از طریق آزادسازی NO صورت می گیرد [۸]. بعلاوه Kitsiopoulou در سال ۲۰۰۷ پیشنهاد داد که اپیتلیوم مجاری هوایی با القاء فعالیت آنزیم eNOS در پاسخ انقباضی مجاری هوایی به استیل کولین مداخله نموده و با تولید NO و کاهش حساسیت پذیری مجاری هوایی نقش تعدیلی خود را ایفا می کند [۱۱].

از طرفی طبق نتایج حاصله در تحقیق حاضر مشخص شد که قرار گیری دراز مدت در معرض EMF با شدت ۱ میلی تسلا باعث شده تا اثر تقویت کنندگی L-NAME بر فعالیت انقباضی مجاری هوایی ظاهر نگردد. که احتمالاً به این دلیل است که تحت تأثیر امواج الکترومغناطیس میزان آنزیم NOS تقلیل پیدا کرده و یا این که حساسیت به سیستم نیتریک اکساید در نای کاهش یافته است. علت اینکه در انقباض حاصل از استیل کولین تفاوت چندانی بین سه گروه مشاهده نمی شود به این دلیل می باشد که علاوه بر سیستم موسکارینیک عوامل متعدد دیگری از جمله رسپتورهای هیستامینی در فرآیند انقباض Leikina L.F, The rehabilitative treatment of children

with bronchial asthma. *Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult* 2(1996) 5- 13.

- [3] Antonini R.A, Benfante R, Gotti C, Moretti M, Kuster N, Schuderer J, Clementi F, Fornasari D, Extremely low- frequency electromagnetic field (ELF- EMF) does not affect the expression of α_3 , α_5 and α_7 nicotinic

- receptor subunit genes in SH- SY5Y neuroblastoma cell line. *Toxicol lett* 164(2006) 268- 277.
- [4] Ben-Jebria A, Marthan R, Rossetti M, Savineau J-P, Effect of passive sensitization on the mechanical activity of human isolated bronchial smooth muscle induced by substance P, neurokinin A and VIP. *Br J Pharmacol* 109 (1993) 131-136.
- [5] Dallas M, Qutayba H, Charles G, Anatomy, pathology, and physiology of the tracheobronchial tree: emphasis on the distal airways, *J Allergy Clin Immunol* 124(2009) S72-S77.
- [6] Diniz P, Soejima K, Ito G, Nitric oxide mediates the effects of pulsed electromagnetic field stimulation on the osteoblast proliferation and differentiation. *Nitric Oxide* 7 (2002) 18- 23.
- [7] Gosens R, Zaagsma J, Meurs H, Halayko A, Muscarinic receptor signaling in the pathophysiology of asthma and COPD, *Respir Res* 7 (2006) 73- 88.
- [8] Hatziefthimiou AA, Karetsi E, Pratzoudis E, Gourgoulanis KI, Molyvdas P.A, Resting tension effect on airway Smooth muscle: The involvement of epithelium. *Respir Physiol Neurobiol* 145 (2005) 201-208.
- [9] Kao CH, Chu YH, Wang HW, Effects of Lidocaine on rat's isolated tracheal smooth muscle. *Eu Arch Otorhinolaryngol* 9 (2009) 1075-1078.
- [10] Katzung B.G, editor. *Basic & Clinical pharmacology*. California: Mc Grawhill, 2001.
- [11] Kitsiopoulou E, Hatziefthimiou A.A, Gourhoulanis K.I, Molyvdas P.A, Resting tension affects eNOS activity in a calcium- dependent way in airway. *Mediators of Inflammation* 10 (2007) 1- 6.
- [12] Maarsingh H, Leusink J, Bos I.T, Zaagsma, J, meurs, H, Arginase strongly impairs neuronal nitric-oxide mediated airway smooth muscle relaxation in allergic asthma. *Respir Res* 7(2005) 6-12.
- [13] Masuda H, Gannes FP, Haro E, Billaudel B, Ruffie G, Lagroye T, Veyret B, Lack of effect of 50 Hz magnetic field exposure on the binding affinity of serotonin for the 5-HT 1B receptor subtype. *Brain Res* 10(2010) 1- 25.
- [14] Matsunaga S, Shibata O, Nishioka, K, Tsuda A, Makita T, Somikawa K, Effect of amitriptyline , a tricyclic antidepressant , on smooth muscle reactivity in isolated rat trachea. *J Anesthesia* 23 (2009) 385- 91.
- [15] Moffatt J.D, Dumsday B, Mclean J.R, Characterization of non-adrenergic, non-cholinergic inhibitory responses of the isolated guinea-pig trachea: differences between pre- and post- ganglionic nerve stimulation. *Br J Pharmacol* 128 (1999) 458- 64.
- [16] Monache S.D, Alessandro R, Iorio R, Gualtieri G, Colonna R, Extremely Low Frequency Electromagnetic Fields (ELF-EMFs) Induce InVitro Angiogenesis Process in Human Endothelial Cells. *Bioelectromagnetics* 29 (2008) 640-648.
- [17] Mothet J. P, Fossier P, Tauc L, Baux G, NO decreases decreases evoked quantal ACh release at a synapse of Aplysia by a mechanism independent of Ca^{2+} influx and protein kinase G, *J Physiol* 493(3) (1996) 769-784.
- [18] Neumann E, Digression on chemical electromagnetic field effect in membrane signal transduction-cooperativity paradigm of the acetylcholine receptor. *Bioelectrochemistry* 52 (2000) 43-9.
- [19] Ojewole JAO, Olayiwola G, Nyinawumuntu A, Bronchorelaxant property of African potato *Hypoxis hemerocallidas* corm aqueous extract in vitro. *J Smooth Muscle Res* 45(5) (2009) 241-8.
- [20] Patruno A, Amerio P, Pesce M, Vianale G, Diluzio S, Tulli A, Franceschelli S, Grilli A, Extremely low frequency electromagnetic fields modulate expression of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in the human keratinocyte cell line Hacat: Potential therapeutic effects in wound healing. *Br J Dermatol* 162 (2009) 258-66.
- [21] Proskocil BJ, Fryer AD, β_2 -Agonist and Anticholinergic drugs in the treatment of lung disease, *Proc Am Thoracic Soci* 2(2005) 305-10.
- [22] Reale M, Delutiis M.A, Patruno A, Speranza, L, Felaco M, Grilli A, Marci M.A, Comani S, Conti P, Luzio S.D, Modulation of MCP-1 and iNOS by 50-Hz Sinusoidal electromagnetic field. *Nitric Oxide* 15 (2006) 50-57.
- [23] Sadlonova J, Korpas J, Salat D, Miko L, Kodlicka J, The effect of the pulsatile electromagnetic field in children suffering from bronchial asthma. *Acta Physiol Hung* 90(4) (2003) 327-34.
- [24] Sekizawa K, Fukushima T, Ikarashi Y, Maruyama Y, Sasaki H, The role of nitric oxide cholinergic neurotransmission in rat trachea, *Br J Pharmacol* 110 (1993) 816- 20.

- [25] Simko M, Mattson M, Extremely Low frequency electromagnetic field as effectors of cellular responses *invitro*: possible immune cell activation, *J Cell Biochem* 93 (2004) 83- 92.
- [26] Usta C, Sadan G, The effect of chronic ethanol administration on nitric oxide- mediated responses in rat isolated trachea preparation, *Auton Autac Pharmacol* 23 (2003) 73-8.
- [27] Varani K, Gessi S, Merighi S, Iannotta V, Cattabriga E, Pancaldi C, Cadossi R, Borea P.A, Alternation of A₃ adenosine receptors in human neutrophils and low frequency electromagnetic fields. *Biochem Pharmacol* 66 (2003) 1897- 1906.
- [28] Vernon WH, Caleb H, Ian N, Canfield HJ, Functional magnetic stimulation of expiratory muscles: a noninvasive and new method for restoring cough. *J Appl Physiol* 84 (1998) 1144-50.