فیزیولوژی و فارماکولوژی ۱۵ (۳)، ۳۸۵ – ۳۹٤
پاییز ۱۳۹۰

فیزیولوژی و فارماکولوژی

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

طاهره السادات جوادی فر[۱]، امین الله بهاءالدینی[۱*]، 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

دریافت: ۱۱ بهمن ۸۹ پذیرش: ۲۶ شهریور ۹۰

چکیده

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

روش ها: موش های 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 حلقه های عرضی نای ایزوله شده به استیل کولین در غیاب و حضور L-NAME توسط سیستم Powerlab-AtoD ثبت گردید.

یافته ها: 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.

نتیجه گیری: بنابراین می توان چنین نتیجه گیری کرد که سیستم نیتررژیک 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 می گردد.

واژه‌های کلیدی: امواج الکترو مغناطیس، نای، سیستم نیتررژیک

مقدمه

زندگی مداوم ما در میدان مغناطیسی زمین واز طرف دیگر پیشرفت دانش علوم پایه برای استفاده از EMF در تکنیک های 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 وسائل الکتریکی ایجاد می شوند، 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 تسلااست، غیر یونیزان می‌باشند و انرژی آنها آنقدر زیاد نیست که قادر به شکستن پیوندهای

* نویسندهٔ مسئول مکاتبات: bahaodini@shirazu.ac.ir
وبگاه مجله: www.phypha.ir/ppj

Archive of SID
www.SID.ir

شیمیایی باشند، اما این امواج می‌توانند روی فعالیت‌های سلولی تأثیرگذار باشند [۱]. مطالعاتی وجود دارند که حاکی از تأثیر امواج بر سیستم تنفسی می‌باشند، از جمله Sadlonova وهمکاران معتقدند که استفاده از امواج الکترومغناطیس کم فرکانس باعث بهبود پارامترهای اسپیرومتری در بچه های مبتلا به آسم می گردد [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 می شود [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) وآنزیم القایی تولید کننده نیتریک اکساید (iNOS) می باشند [۱۲]. نتایج مطالعات بر روی بافتهای مختلف حاکی از افزایش تولید نیتریک اکساید تحت تأثیر امواج الکترومغناطیس می باشند. 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 می گردد، 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 باشدت ۱ میلی تسلا باعث کاهش بیان آنزیم القایی NOS در سطح mRNA ودر سطح پروتیین می‌گردد [۲۲]. ازطرف دیگر مطالعاتی هم برای تأیید تداخل اثر بین دو سیستم کولینرژیک و نیتررژیک مجاری هوایی وجود دارد [۴و۱۵و۱۶]. تحریک عصبی واگ که عصب دهی پاراسمپاتیک نای را به عهده دارد باعث تحریک انقباض موسکارینیک و شل شدگی غیرآدرنرژیک–غیرکولینرژیک می شود [۴و۱۶]. عصب واگ به عنوان عصب پاراسمپاتیک نای علاوه بر آزادسازی استیل‌کولین (ACh) به عنوان نوروترنسمیتر تحریکی، نوروترنسمیتر مهاری غیرآدرنرژیک–غیرکولینرژیک که در مجاری هوایی غالباً نیتریک اکساید (NO) می‌باشد را نیز آزاد می کند [۴و۱۶]. میزان پتانسیل تحریکی غشاء برای آزادسازی ACh وNO اغلب یکسان بوده و شاید همین تداخل اثر مابین ACh وNO را در محل پس سیناپسی نشان می‌دهد [۱۵]. فعالیت نیتریک اکساید به عنوان یک مهار کننده غیرآدرنرژیک در مجاری هوایی بزرگ و کوچک انسان ثابت شده است و تصور می شود که یکی از دلائل افزایش فعالیت انقباضی مجاری هوایی در بیماری آسم، عدم وجود این مکانیسم مهاری باشد [۱۲]. Kitsiopoulou و همکاران معتقدند اپیتلیوم مجاری هوایی با تعدیل فعالیت eNOS به انقباض مجاری هوایی در اثر استیل کولین پاسخ می دهد [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 نیتررژیک 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 ۲ ± ۲۲ 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 سلنوئید 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 سلنوئید خاموش قرار گرفتند.

۳- گروه کنترل که در شرایط معمول آزمایشگاه نگهداری

www.SID.ir
Archive of SID

شدند.

در طول مدت اعمال EMF دما به طور دائم کنترل می شد و در حد دمای اتاق ثابت نگه داشته می‌شد. 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 رسپتورها معمولاً از شدت ۱ میلی تسلا استفاده می شود [۳و۱۳]. 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 می‌کرد و ولتاژ جریان ورودی طوری تنظیم شد که شدت میدان ۱ میلی تسلا بر قرار گردد. قبل از شروع آزمایش، به وسیله دستگاه آمپرمتر، شدت جریان ورودی به دستگاه و همچنین توسط دستگاه تسلامتر شدت میدان مغناطیسی ایجاد شده اندازه گیری شد. بعد از گذشت ۱۳۵ روز رت ها با تزریق داخل صفاقی پنتوباربیتال 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. قسمت‌های 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:

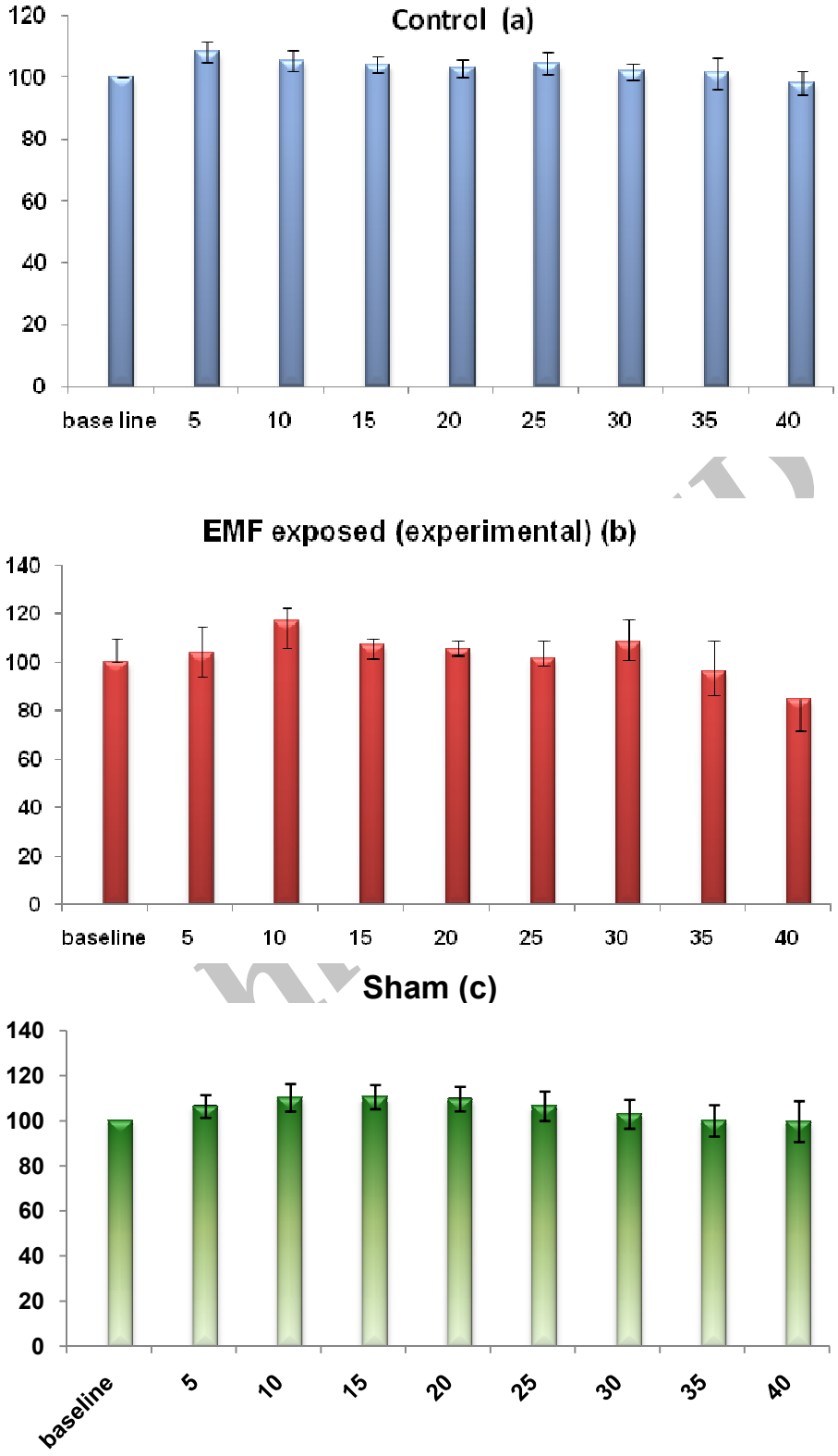
۱۱۸ NaCl , ۲۵ $NaHCO_3$, ۱/۲ $MgSo_4$, ۱/۲
۴/۷ KH_2Po_4 , ۲/۵ $CaCl_2$, ۱۱ glucose

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 ۳۰ml 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 تانسیون ۰/۵ گرم به عنوان تانسیون 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 اکسیدکربن هوادهی می‌شد [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- آلدریچ آلمان) به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفتند و پس از شستشوی بافت و رسیدن مجدد آن به حالت تانسیون پایه، یکی از حلقه ها به طور تصادفی تحت تأثیر ۳۰۰ میکرو مولار L-NAME (مهارگر تولید NO) (تهیه شده از شرکت سیگما- آلدریچ 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 تانسیون پایه بافت نای از زمان اعمال L-NAME تا مدت ۴۰ دقیقه به صورت هر ۵ دقیقه یک بار ارزیابی شد و درهر

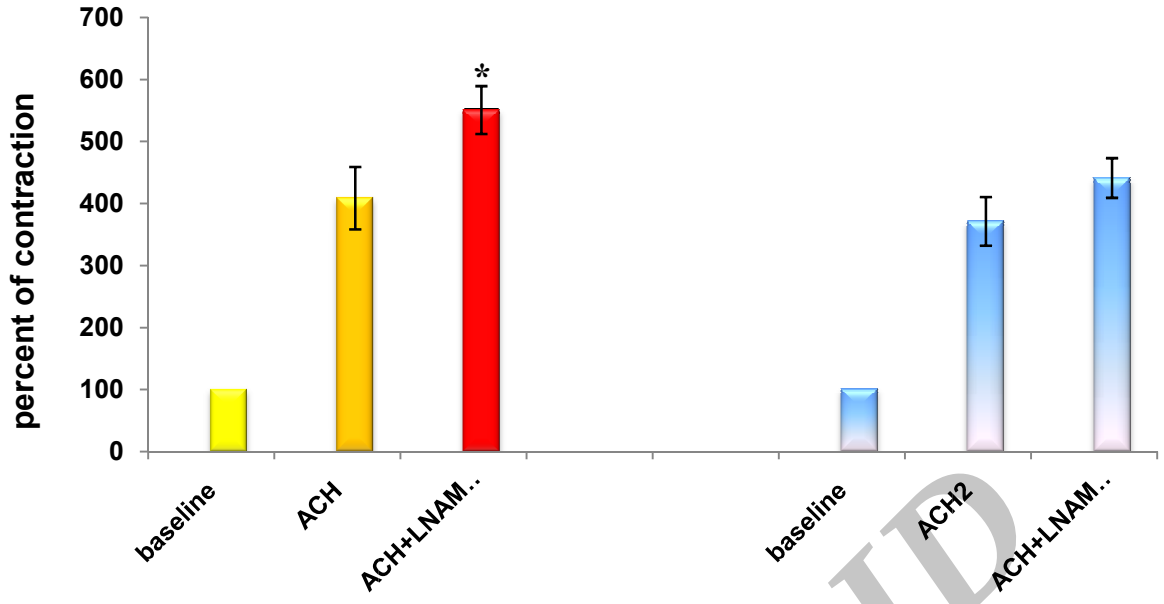
Archive of SID
www.SID.ir



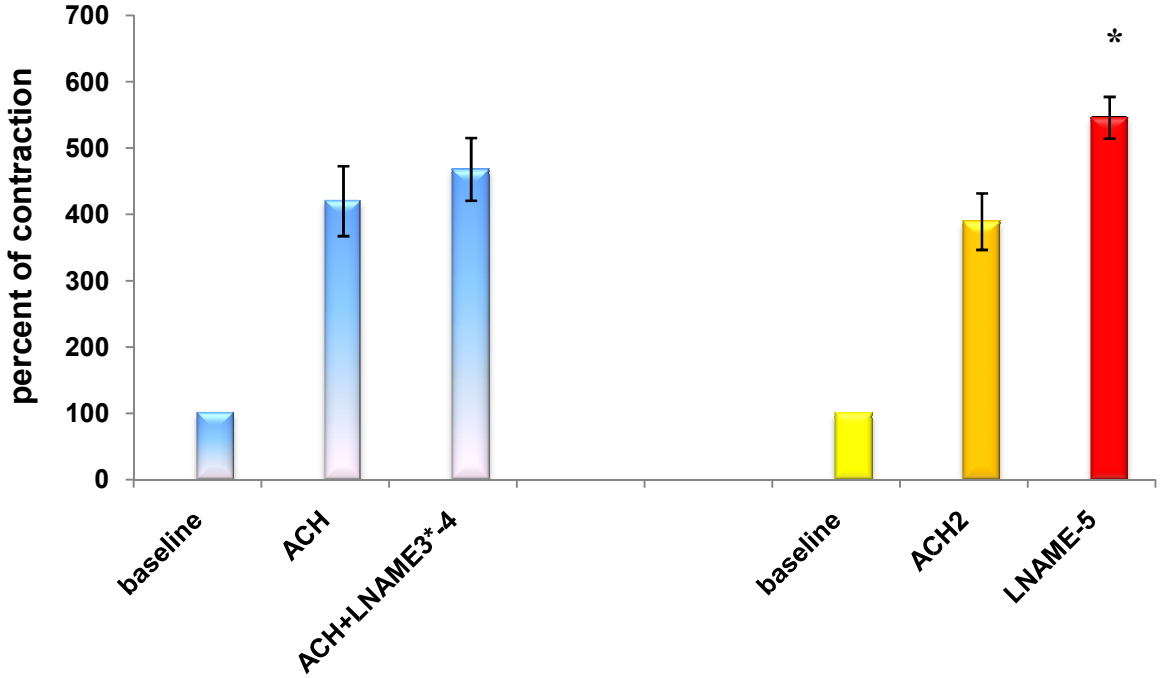
شکل۱ – تغییرات تانسیون پایه بافت در طول زمان کاربرد L-NAME در گروههای کنترل (a) و آزمایش (b) و شم (c)

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

www.SID.ir



شکل۲- 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)

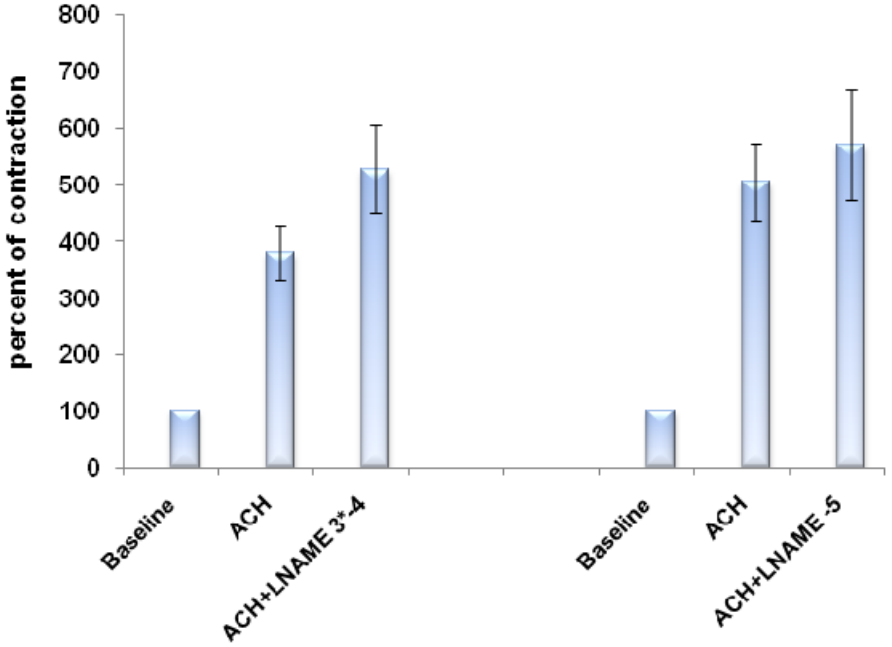


شکل۳- درصد انقباض نای(mean ± SEM) در پاسخ به استیل کولین در حضور نرمال سالین(NS) و L-NAME با دوزهای مختلف در گروه شم (n=۶)،
* P<۰/۰۵ دارای تفاوت معنی دار نسبت به حالت پایه (NS + Ach)

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 و۱۰ میکرومولار توام با استیل کولین را نمایش می دهد.

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

www.SID.ir



شکل٤- درصد انقباض نای (mean ± SEM) در پاسخ به استیل کولین در حضورنرمال سالین (NS) و L-NAME با دوزهای مختلف در گروه آزمایشی (n=۶)

جدول ۱- درصدانقباض نای (mean ± 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 ±52.75	379.14 ± 46.24	408.68 ± 50.33	**NS + ACH**
467.78 ± 47.34	528.13 ±76.94	550.89 ± 38.66 *	**ACH+L-NAME 300 µM**
389.03 ± 42.53	550.51 ± 67.62	371.91 ± 39.27	**NS + ACH**
545.68 ± 31.50 *	571.58 ± 97.53	441.27 ± 31.98	**ACH+L-NAME 10 µM**

* ۰/۰۵ >P دارای تفاوت معنی دار نسبت به حالت پایه (NS + Ach)

(P <۰/۰۵) 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<۰/۰۵) 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.

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 هوائی می شود. با توجه به اینکه NOS ساختمانی به وسیله افزایش غلظت کلسیم داخل سلولی

Archive of SID
www.SID.ir

فعال شده و باعث پیشرفت اتصال کالمادولین به NOS می‌شود، فعالسازی NOS نیز باعث آزادسازی NO می‌گردد [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 تانسیون پایه بافت تفاوت معنی داری ایجاد نشد که تایید کننده این مطلب است که احتمالا نیتریک اکساید در بافت نای در نتیجه القا استیل کولین سنتز می شود. تحقیقات دیگری نیز وجود دارند که تائید کننده نتایج تحقیق حاضر می باشند، از جمله این که Hatziefthimiou در سال ۲۰۰۵ نشان داد که اپیتلیوم مجاری هوائی باعث تعدیل حساسیت پذیری وابسته به استیل کولین در آغاز تانسیون در خرگوش می‌شود که این اثر در نهایت از طریق آزادسازی NO صورت می‌گیرد [۸]. بعلاوه Kitsiopoulou در سال ۲۰۰۷ پیشنهاد داد که اپیتلیوم مجاری هوائی با القاء فعالیت آنزیم eNOS در پاسخ انقباضی مجاری هوائی به استیل کولین مداخله نموده و با تولید NO و کاهش حساسیت پذیری مجاری هوائی نقش تعدیلی خود را ایفا می‌کند [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 هوائی 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 می‌باشد که علاوه بر سیستم موسکارینیک عوامل متعدد دیگری از جمله رسپتورهای هیستامینی در فرآیند انقباض مجاری هوایی مؤثر می باشند [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 باشدت ۱ میلی تسلا باعث کاهش بیان آنزیم القایی NOS در سطح mRNA و در سطح پروتیین می‌گردد [۲۲]. در عین حال در بعضی از تحقیقات تناقضاتی با تحقیق حاضر مشاهده می‌شود که شاید به علت استفاده آنها از شدت های متفاوتی از EMF و یا مطالعه بر سلولهای متعلق به بافتهای دیگر باشد [۶ و۲۰] 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 می‌گردد. برای مشخص شدن اینکه کدامیک از مکانیزم های یاد شده در این عملکرد دخالت داشته‌اند، 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, 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

Archive of SID
www.SID.ir

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 tracheobrobronchial 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 diffrentiation. ***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, Gourgoulianis 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, Gourhoulianis K.I, Molyvdas P.A, Resting tension affects eNOS activity in a calcium- dependent way in airway. ***Mediators of Inflamation*** 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 fild**.** ***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.

Archive of SID

www.SID.ir

[25] Simko M, Mattson M, Extremely Low frequency electromagnetic field as effectors of cellurar 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 A_3 adenosine receptors in human neutrophils and low frequency electromagnetic filds. ***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.

Archive of SID

www.SID.ir