

ՀՀ ԿՐԹՈՒԹՅԱՆ ԵՎ ԳԻՏՈՒԹՅԱՆ ՆԱԽԱՐԱՐՈՒԹՅՈՒՆ
ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

ԴԱԴԱՍՅԱՆ ԷՌՆԱ ՀՈՎԻԿԻ

ՄՐՏԱՄԿԱՆԻ ԿԾԿԵԼԻՈՒԹՅԱՆ ՎՐԱ 4 Հց ՄԵԽԱՆԻԿԱԿԱՆ ՏԱՏԱՆՈՒՄՆԵՐԻ
ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆ ՄԵԽԱՆԻԶՄՆԵՐԸ

Գ.00.02 – Կենսաֆիզիկա մասնագիտությամբ կենսաբանական գիտությունների
թեկնածուի զիտական աստիճանի հայցման ատենախոսության

ՍԵՂՄԱԳԻՐ

Երևան 2013

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РА
ЕРЕВАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

ДАДАСЯН ЭРНА ОВИКОВНА

МЕХАНИЗМЫ БИОЛОГИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ 4 ГЦ МЕХАНИЧЕСКОЙ
ВИБРАЦИИ НА СОКРАТИМОСТЬ СЕРДЕЧНОЙ МЫШЦЫ

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени кандидата
биологических наук по специальности 03.00.02-Биофизика

Ереван 2013

Ատենախոսության թեման հաստատվել է ՀՀ ԿԳՆ Բժշկականսարանական միջազգային հետրուհական ուսումնական կենտրոնում:

Գիտական ղեկավար՝

կենս. գիտ. դոկտոր, պրոֆեսոր

Ս.Ն. Հայրապետյան

Պաշտոնական ընդդիմախոսներ՝

ֆիզ.մաթ. գիտ. դոկտոր, պրոֆեսոր

Ա.Թ. Կարապետյան

կենս.գիտ. թեկնածու

Ա.Գ. Առաքելյան

Առաջատար կազմակերպություն՝

ՀՀ ԱՆ Կուրորտոլոգիայի և

ֆիզիկական բժշկության

գիտահետազոտական ինստիտուտ

Ատենախոսության պաշտպանությունը տեղի կունենա 2013թ. սեպտեմբերի 10-ին, ժամը 14⁰⁰-ին Երևանի պետական համալսարանում գործող ՀՀ ԲՈՀ-ի Կենսաֆիզիկայի 051 մասնագիտական խորհրդի նիստում (0025, Երևան, Ալեք Մանուկյան փ. 1, ԵՊՀ, կենսաբանության ֆակուլտետ):

Ատենախոսությանը կարելի է ծանոթանալ Երևանի պետական համալսարանի գրադարանում:

Ատենախոսության սեղմագիրն առաքված է 2013թ. հուլիսի 4-ին:

051 մասնագիտական խորհրդի գիտական

քարտուղար, կենս. գիտ. դոկտոր, պրոֆեսոր

Լ.Հ. Նավասարդյան

Тема диссертации утверждена в Медико-биологическом международном поствузовском учебном центре при МОН РА

Научный руководитель:

доктор биол. наук, профессор

С.Н. Айрапетян

Официальные оппоненты:

доктор физ.-мат. наук, профессор

А.Т. Карапетян

кандидат биол. наук

А.Г. Аракелян

Ведущая организация:

Научно-исследовательский институт

курортологии и физической медицины

МЗ РА

Защита диссертации состоится 10-ого сентября 2013г. в 14⁰⁰ часов на заседании Специализированного совета Биофизики 051 ВАК РА при Ереванском государственном университете (0025, Ереван, ул. Алека Манукяна 1, ЕГУ, биологический факультет). С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Ереванского государственного университета.

Автореферат диссертации разослан 4-ого июля 2013г.

Ученый секретарь специализированного совета 051,

доктор биол. наук, профессор

Л.А. Навасардян

ՆԵՐԱՏՈՒԹՅՈՒՆ

Հիմնախնդրի արդիականությունը: Ներկայումս օրըստօրե ավելանում են տեխնածին և անթրոպոգեն ինֆրաձայնային տիրույթում մեխանիկական տատանումների (ՄՏ) տարաբնույթ աղբյուրների թիվը, որոնք կենդանի օրգանիզմներում մի շարք պաթոլոգիկ գործընթացների հարուցման պատճառ կարող են հանդիսանալ: Այդ պատճառով այդ ազդակների կենսաբանական մեխանիզմների պարզաբանումը մեծ հետաքրքրություն է ներկայացնում և էկոլոգիական և բժշկագիտական տեսանկյուններից:

Ներկայումս ամբողջ մարմնի վիբրացիոն՝ տատանողական թերապիան կիրառվում է ցածր խտությամբ ոսկրերի և օստեոպորոզի բուժման նպատակով:

Ցույց է տրվել նաև, որ տատանողական թերապիան կարգավորում է օրգանիզմի ռեպրոդուկտիվ ֆունկցիան, խթանում է լիմֆատիկ և արյունատար համակարգերի աշխատանքը, արագացնում վնասվածքների վերականգնումը՝ ռեգեներացիան, ինչպես նաև այն խթանում է գլյուկոզի և առհասարակ օրգանիզմի նյութափոխանակությունը:

Մեխանիկական տատանումները բացի կենդանի օրգանիզմների վրա անմիջական ներգործությունից, մոդուլացնում են նաև այլ գործոնների կենսաբանական ազդեցությունը (Ayrapetyan, Markov, 2001):

Մեխանիկական տատանումները իրենց բնույթով ոչ իոնացնող բնույթի ֆիզիկական գործոններ են համարվում: Չնայած որ կենդանի համակարգերի վրա այդ գործոնների կենսաբանական ազդեցության առկայությունն ակնհայտ է, բայց դեռևս պարզաբանված և հստակցված չեն այն մեխանիզմները (Adey 2004, Ayrapetyan et al. 1999, Chaplin 2013), որոնց շնորհիվ էլ տեղի է ունենում վերը նշված կենսաբանական ազդեցությունը:

Հայտնի է, որ ինֆրաձայնային տիրույթում ՄՏ-ն ունի հաճախությունից կախված ազդեցություն ջրի և ջրային լուծույթների ֆիզիկաքիմիական հատկությունների վրա, որն առավել արտահայտված է 4 Հց ՄՏ-ով մշակման ժամանակ (Adrian 1956, Ayrapetyan 2006, Stepanyan et al. 1999): Միաժամանակ ցույց է տրված, որ 4 Հց ՄՏ-ով մշակված ջուրն ազդում է բույսերի մոտ սերմերի ծղունկույթյան (Amyan, Ayrapetyan 2004), միկրոօրգանիզմների աճի (Ayrapetyan et al. 2001) վրա: Բջջիների և օրգանիզմների վրա ոչ իոնացնող գործոնների ազդեցության մեխանիզմը բացատրող բազմաթիվ հիպոթեզներ են առաջարկվում, որոնցից ամենաընդունվածը այսպես կոչված «Ջրի հիպոթեզն» է: Քանի որ ջուրը հանդիսանում է կենսաբանական համակարգերի և շրջակա միջավայրի դոմինանտ բաղադրիչ մաս և ջրի իոնացումը շատ զգայուն պարամետր է շրջակա միջավայրի տարբեր գործոնների նկատմամբ, ապա այն համարվում է որպես ոչ իոնացնող գործոնների սենսոր, որի միջոցով իրականացվում է այդ գործոնների այդ թվում և ՄՏ-ի ազդեցությունը կենսաբանական համակարգերի վրա (Ayrapetyan et al. 1994, Szent-Gyorgyi 1960, Класен 1968):

Այսպիսով հայտնի է, որ ոչ իոնացնող գործոնները կարող են անուղղակի ճանապարհով փոփոխել ջրի մոլեկուլների իոնների քանակությունը (Ayrapetyan et

al., 2009a,b, 2005, 2006, 2008, Domrachev 1992, Gudkova et al., 2005), որի արդյունքները թթվածնի մոլեկուլների հետ բախվելով կարող են բերել թթվածնային ակտիվ ձևերի՝ O_2 , գոյացմանը և ջրածնի պերօքսիդի սինթեզին ջրում (Chaplin 2013): Դրա հիման վրա առաջ է քաշվել վարկած, համաձայն որի O_2 -երի պարունակության փոփոխությունը հանդիսանում է միջանկյալ և առանցքային օղակ՝ ոչ իոնացնող ֆիզիկական գործոնների (US) կենսաբանական ազդեցությունների դրսևորման գործում:

Աշխատանքի նպատակը և ուսումնասիրվող խնդիրները: Ատենախոսական աշխատանքի նպատակն է ուսումնասիրել 4 Հգ US-ի ազդեցությունը խաղողի խխունջի (*Helix pomatia*) սրտամկանի կծկելիության վրա և պարզել այդ ազդեցության կենսաբանական մեխանիզմները: Այդ նպատակով ուսումնասիրվել է 4 Հգ US-ի ազդեցությունը ֆիզիոլոգիական լուծույթի (ՖԼ) ֆիզիկաքիմիական հատկությունների վրա, ջրածնի պերօքսիդի (H_2O_2)՝ որպես US-ի ազդեցության միջնորդ, նանոմոլյար կոնցենտրացիաների և US-ի ազդեցությունների համեմատական ուսումնասիրությունները մեկուսացված սրտամկանի կծկելիության վրա ինչպես նաև պարզաբանել այն նյութափոխանակային ուղիները, որոնց միջոցով իրականացվում են վերը նշված գործոնների ազդեցությունները:

Աշխատանքի նպատակին համապատասխան լուծվել են հետևյալ խնդիրները.

- Ուսումնասիրվել է US-ի ազդեցությունը 3, 4, 5 Հգ տիրույթում ՖԼ-ի H_2O_2 -ի կոնցենտրացիայի և բյուրեղների հալման տևողության՝ FZS -ի վրա,
- Ցույց է տրվել 4Հգ US-ի ազդեցությունը սրտամկանի կծկելիության վրա, ինչպես նաև ջրածնի պերօքսիդի կոնցենտրացիայի փոփոխությունը ՖԼ-ում կախված սրտամկանի առկայությունից:
- Ուսումնասիրվել է ՖԼ-ում ավելացված H_2O_2 -ի նանոմոլյար կոնցենտրացիաների (10^{-9} - 10^{-8} Մ) ազդեցությունը սրտամկանի կծկելիության վրա՝ Na^+/K^+ -ական պոմպի ակտիվ և ինակտիվ վիճակներում, ինչպես նաև H_2O_2 -ի չափաբաժնից կախված ազդեցությունը Na^+/K^+ -ական պոմպով պայմանավորված սրտամկանի կծկելիության կարճատև արգելակման վրա,
- Ուսումնասիրվել է 4Հգ US-ի և ՖԼ-ում ավելացված H_2O_2 նանոմոլյար կոնցենտրացիայի ազդեցությունը ներբջջային $^{45}\text{Ca}^{2+}$ -ի դուրս մղման, ինչպես նաև 4 Հգ US-ի ազդեցությունը gUF -ի, $\text{gF}\text{U}\text{F}$ -ի ներբջջային պարունակության, հյուսվածքի հիդրատացման, բջջաթաղանթի հետ H^3 -ուաբաինի կապվածության վրա:

Աշխատանքի գիտական նորությունը:

- Պարզաբանվել է, որ 4Հգ US-ը հարևան հաճախությունների համեմատ ցուցաբերում է «պատուհանային» ազդեցություն, որի դեպքում առավելագույնս փոփոխվում են ՖԼ-ի ֆիզիկաքիմիական ցուցանիշները՝ ջրածնի պերօքսիդի կոնցենտրացիան, FZS -ն:

- Պարզաբանվել է ՄՏ-ի կենսաբանական ազդեցությունը խաղողի խխունջի (*Helix pomatia*) մեկուսացված սրտամկանի վրա, և այն հնարավոր նյութափոխանակային ուղին, որի միջոցով ՄՏ-ի ազդեցությունը ՖԼ-ից փոխանցվում է բջջի նյութափոխանակային կասկադին:
- Պարզաբանվել է, որ ՄՏ-ի ազդեցությանը ենթարկված ֆիզիոլոգիական լուծույթում տեղի է ունենում H_2O_2 -ի կոնցենտրացիայի նվազում սրտամկանի առկայության և բացակայության պայմաններում:
- Պարզաբանվել է նաև ՖԼ-ում ավելացված նանոմոլյար կոնցենտրացիաներով H_2O_2 -ի ազդեցության մեխանիզմները մեկուսացված սրտամկանի կծկելիության վրա:

Աշխատանքի գործնական նշանակությունը:

- Ատենախոսական աշխատանքում ստացված տվյալները հնարավորություն են ստեղծում գիտական և հիմնավոր բացատրություն տալ կենդանի համակարգերի վրա ինֆրաձայնային տիրույթի մեխանիկական տատանումների ազդեցության հետևանքով օրգանիզմներում տեղի ունեցող մի շարք փոփոխությունների առաջացման պատճառներին և խնդիրներին, ինչպես նաև որոշակի լույս սփռել այդ գործոնների կենսաբանական ազդեցության մեխանիզմների պարզաբանման ուղղված հիմնախնդիրների վրա:
- Աշխատանքի արդյունքները կարող են կիրառվել նաև մեխանիկական տատանումների անվտանգ չափաբաժինների հաստատման խնդիրներում, թույլատրելի սահմանների որոշման և կենդանի համակարգերում զանազան պաթոլոգիական փոփոխությունների կանխարգելման նպատակով:
- Աշխատանքի արդյունքները կարող են կիրառվել բժշկագիտության ոլորտում, մասնավորապես վիբրացիոն և ինֆրաձայնային թերապիայում՝ ավշային շրջանառության բարելավման, մկանային և նյարդային համակարգերի բուժման, այտուցների և բորբոքումների բուժման, ինչպես նաև բուժիչ մերսման նպատակով:

Պաշտպանությանն առաջադրված հիմնադրույթները:

- 3, 4, 5 Հց հաճախականային տիրույթում ՄՏ-ով մշակված ՖԼ-ի ֆիզիկաքիմիական հատկությունները (ԲՀՏ-ն, H_2O_2 -ի կոնցենտրացիա) առավել ակնհայտ են փոփոխվում 4 Հց ՄՏ-ի կիրառման դեպքում՝ դրսևորելով «պատուհանային» ազդեցություն:
- Ֆիզիոլոգիական լուծույթում ընկղմված սրտամկանը նվազեցնում է H_2O_2 -ի կոնցենտրացիան (ՄՏ-ի ազդեցության թիրախ և միջնորդ), սակայն այդ ազդեցությունն իր տոկոսային արժեքով զիջում է 4Հց ՄՏ-ով հարուցված H_2O_2 -ի կոնցենտրացիայի նվազմանը այդ լուծույթում:
- ՖԼ-ում ավելացված նանոմոլյար կոնցենտրացիայով ջրածնի պերօքսիդը և 4Հց մեխանիկական տատանումներով մշակված ֆիզիոլոգիական լուծույթները թողնում են հակառակ ազդեցություններ Na^+/K^+ -ական

պումպով պայմանավորված սրտամկանի կծկելիության կարճատև արգելակման վրա:

- ՖԼ-ի մեջ ավելացված 10^{-9} Մ H_2O_2 -ը և 4Հց ՄՏ-ով մշակված (որը հանգեցնում էր H_2O_2 -ի քանակի նվազման) ֆիզիոլոգիական լուծույթները իզոլացված սրտամկանի մոտ Ca^{2+} -ի փոխանակության վրա ևս թողնում են հակառակ ազդեցություն:
- 4Հց ՄՏ-ով մշակված ֆիզիոլոգիական լուծույթը բերում է ցԳՄՖ-ի մեծացմանը, որն էլ հանգեցնում է սրտամկանի հյուսվածքի հիդրատացիայի մեծացմանը:
- 4Հց ՄՏ-ով մշակված ՖԼ-ով պայմանավորված բջջի հիդրատացիայի արդյունքում մեծանում է թաղանթի ֆունկցիոնալ ակտիվ մակերեսը ի հաշիվ նրանում առկա խոռոչների բացման (որի գնահատման մարկեր կիրառվում է օուաբախի կապված մոլեկուլների քանակը), որը հանգեցնում է սրտամկանի կծկելիության ամպլիտուդի մեծացման:

Ստենսխոսության փորձաքննությունը: Աշխատանքի հիմնական արդյունքները քննարկվել են ՀՀ ԿԳՆ Բժշկականսաբանական միջազգային հետբուհական ուսումնական կենտրոնի պարբերական սեմինարներում և հետևյալ միջազգային գիտաժողովներում, բանավոր կամ ստենդային “Biophysical Society 57th Annual Meeting” (Ֆիլադելֆիա, ԱՄՆ, փետրվար 2-6, 2013), “Seventh annual conference on the physics, chemistry and biology of water” (Վերմոնտ, ԱՄՆ, հոկտեմբերի 18-21, 2012), PIERS “Progress in Electromagnetics Research Symposium” (Քեմբրիջ, ԱՄՆ, Հունիս 5-8) , “2nd World Conference of Magic Bullets - Ehrlich II” (Նյուրնբերգ, Գերմանիա, հոկտեմբեր 3-5, 2008), “Electromagnetic field: mechanisms of action and health effects” (Երևան, Հայաստան, հոկտեմբեր 24-26, 2008), “International Conference on Molecular Recognition” (Pecs, Հունգարիա, Օգոստոս 15-18, 2007), “Mechanisms of Mecanotransduction in Living Cells” (Երևան, Հայաստան, Օգոստոս 1-4, 2006), “4th International Workshop on Biological Effects of Electromagnetic Fields” (Կրիս, Հունաստան, 16-20 Հոկտեմբեր 2006):

Հրատարակված աշխատանքները: Հետազոտության հիմնական արդյունքները արտացոլված են 14 գիտական հրատարակություններում, որոնցից 10 հոդված՝ տեղական և արտասահմանյան գրախոսվող գիտական ամսագրերում:

Աշխատանքի կառուցվածքը և ծավալը: Ստենսխոսական աշխատանքը կազմված է ներածությունից, գրական ակնարկից, փորձարարական մասից, ստացված արդյունքներից և դրանց քննարկումից, վերջաբանից, եզրակացությունից, օգտագործված գրականության ցանկից, որի մեջ ներառված են 102 անուն հղումներ: Աշխատանքում ներկայացված են 26 նկարներ: Այն շարադրված է 100 մեքենագրական էջերի վրա:

ԱՇԽԱՏԱՆՔԻ ՀԻՄՆԱԿԱՆ ԲՈՎԱՆԴԱԿՈՒԹՅՈՒՆԸ

Ներածության մեջ սեղմ ձևով նկարագրվում է ատենախոսական աշխատանքի կառուցվածքը, ընտրված թեմայի հիմնախնդրի արդիականությունը: Նշված է աշխատանքի նպատակն ու ուսումնասիրվող խնդիրները: Ձևակերպված են գիտական նորույթը, գործնական նշանակությունը և պաշտպանությանն առաջադրված հիմնադրույթները:

Առաջին գլխում շարադրված են գիտական գրականության մանրակրկիտ տվյալներ, նվիրված մեխանիկական տատանումներին, նրանցով պայմանավորված պայթուղիական ազդեցություններին կենդանի օրգանիզմների վրա և նրանց թերապևտիկ նշանակությանը:

Դիտարկվել են ջուրն ու ջրի ֆիզիկաքիմիական հատկությունները, շարադրվել են աշխատանքներ նվիրված սրտամկանին և աշխատանքի գործընթացում մեծ տեղ գտած Na^+/K^+ -ական պոմպին, Na:Ca -ական փոխանակչին, Ca -ական անցուղիներին: Ներկայացվել են գիտական աշխատություններ սրտամկանի կծկելիության վրա H_2O_2 -ի ազդեցության վերաբերյալ: Գրականության գլխում ներկայացվել են նաև ընդհանուր տեղեկություններ իզոտոպների, ցիկլիկ նուկլեոտիդների և օուբաֆինի վերաբերյալ:

Երկրորդ գլխը նվիրված է հետազոտության նյութերին և մեթոդներին:

Աշխատանքի կատարման ժամանակ օգտագործվել է ՖԼ, *Helix pomatia* խաղողի խիտունջի մեկուսացված սիրտ: Սրտի կծկումները գրանցվել են իզոտոնիկ ազդակի փոխանակչի միջոցով «Biophys-2» (Արտադրված է Հայաստանի Ռադիոֆիզիկայի և էլեկտրոնիկայի ինստիտուտում) և համապատասխանաբար տատանումները գրանցվել են Digita 1322A-ի (Axon Instruments, USA) միջոցով, որը կապ է հաստատում սիրտը գրանցող սարքի և համակարգչի միջև:

Որպես մեխանիկական տատանումների աղբյուր օգտագործվել է հատուկ սարքավորում, որն ապահովում է ֆիզիոլոգիական լուծույթի մշակումը մեխանիկական տատանումներով 1-20 Հց հաճախականային տիրույթում: Վիբրատորը գործի է դրվում սինուսիդային ալիքի բազմահաճախականային գեներատորով (4) (PASCO, CA, USA) և հոսանքի ուժեղարարի միջոցով (ՀՀ ԳԱԱ Ռադիոֆիզիկայի և էլեկտրոնիկայի ինստիտուտ):

ՖԼ-ի ԲՀՏ-ն գրանցելու նպատակով լուծույթը տեղափոխվել է 1 մլ տարողությամբ հերմետիկ փակվող պլաստիկ տարրայի մեջ: Այն ունի ջերմաընկալիչ՝ միացված Biophys-TT գերզգայուն ջերմաչափին (արտադրված՝ ՀՀ ԳԱԱ Ռադիոֆիզիկայի և էլեկտրոնիկայի ինստիտուտում), որն էլ թվայնացուցչի միջոցով միացված է համակարգչին: Տարրան ընկղմվել է հեղուկ ազոտով լցված Դյուարի անոթի մեջ՝ խորը սառեցման նպատակով (մինչև 75°C): Սառելուց հետո տարրան դրվել է թերմոստատ՝ $22 \pm 0.5^\circ\text{C}$ ջերմաստիճանային պայմաններում և բյուրեղների հալման ողջ ընթացքում գերզգայուն Biophys-TT ջերմաչափի միջոցով շարունակաբար գրանցվել է ջերմաստիճանը:

Ջրածնի պերօքսիդի կոնցենտրացիան չափվել է քեմիլյումինեսցենտ անալիզի մեթոդով: Նմուշների քեմոլյումինեսցենցիան գնահատվել է Wallac-1450

հեղուկ սցինտիլյացիոն և լյումինեսցենտ հաշվիչ սարքի միջոցով (Wallac Oy, Ֆինլանդիա): Քեմիլյումինեսցենցիայի մեթոդով նմուշներնում առկա H_2O_2 -ի քանակի որոշման համար անհրաժեշտ «հաշվիչ» լուծույթը պարունակել է 0,5 Մ Տրիս-HCl բուֆեր (Sigma, ԱՄՆ), $pH=8,5$; 10 մկՄ 4-յոդոֆենոլ (Aldrich, Գերմանիա), 10 մկՄ լյումինոլ (Sigma, ԱՄՆ), 1 նանոմոլ կոնցենտրացիայով ծովաբողկի պերօքսիդազ (Sigma, ԱՄՆ):

Սրտամկանի կողմից ^{45}Ca -ի փոխանակության գնահատումը իրականացվել է նշակիր ատոմների մեթոդով կիրառելով ^{45}Ca (սպեցիֆիկ ակտիվությունը՝ 0.185 Բք/մգ $^{45}Ca^{2+}$ կամ 5 մԳի/մգ, արտադրությունը՝ Amersham International plc, Անգլիա):

Ցիկլիկ ԱՄՖ-ի (gԱՄՖ) և ցիկլիկ ԳՄՖ-ի (gԳՄՖ) ներբջջային մակարդակների որոշումն իրականացվել է ռադիոիմունոանալիզի մեթոդով, համապատասխանաբար cyclic AMP (H^3) assay system և cyclic GMP (H^3) assay system հավաքածուների կիրառմամբ (Amersham International plc, Անգլիա):

Սրտամկանի բջջաթաղանթում օուաբախի ռեցեպտորների քանակական որոշումն իրականացվում է կիրառելով H^3 -օուաբախ: Ստուգիչ ($n=10$) և փորձական ($n=10$) սրտամկանները 15 րոպեով ինկուբացվել են H^3 -օուաբախ պարունակող ՖԼ-ում (10^{-9} Մ կոնցենտրացիա), որն ունի 12 Գի/մՄ սպեցիֆիկ ակտիվություն (Amersham International plc, Անգլիա): Այս ցածր կոնցենտրացիան ընտրվել է որպեսզի այն չճնշի Na^+/K^+ -ական պոմպի ակտիվությունը:

Սրտամկանում ջրի քանակության որոշումն իրականացվել է համաձայն «հյուսվածքի չորացման» ավանդական մեթոդի: Չափվել է 1գ չոր հյուսվածքին բաժին ընկած ջրի քանակությունը (V) հետևյալ հավասարման միջոցով: $V=(A-B)/B$ որտեղ, A-ն հյուսվածքի թաց քաշն է, B-ն հյուսվածքի քաշն է չորացնելուց հետո:

Տվյալների վերլուծությունը կատարվել է Sigma-Plot (Version 8.02A) և SPSS Statistics 17.0 համակարգչային ծրագրերով, որոշվել են միջին արժեքները և ստանդարտ շեղումները: Վիճակագրական հավաստիությունը որոշվել է Student's paired T Test-ով Sigma-Plot (Version 8.02A)-ի դեպքում ու T Test-ով SPSS Statistics 17.0-ի դեպքում և ներկայացվել է գրաֆիկներում աստղիկների միջոցով (*), * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$:

ԱՐԴՅՈՒՆՔՆԵՐ ԵՎ ՔՆՆԱՐԿՈՒՄ

Երրորդ գլխում շարադրված են փորձական արդյունքներն ու նրանց քննարկումը:

Ջրի մոլեկուլի դիսոցումը հանդիսանում է նրա գերզգայուն հատկություններից մեկը, ինչի հիման վրա կարելի է ենթադրել, որ այն կարող է ծառայել որպես ունիվերսալ թիրախ, որի միջոցով շրջակա միջավայրի թույլ ազդակները, ներառյալ ինֆրաձայնային հաճախության մեխանիկական տատանումները կարող են ազդել ջրի կառուցվածքի վրա: Գրականությունից հայտնի է, որ ջրի մոլեկուլների դիսոցման հետևանքով առաջացած պրոդուկտները, փոխազդելով լուծված թթվածնի հետ, կարող են առաջացնել թթվածնային ակտիվ ձևեր՝ ԹՍՁ (Chaplin 2013, Domrachev 1992, Klassen 2006), որոնք բջջի

նյութափոխանակային ակտիվության վրա թողնում են մոդուլացնող ազդեցություն: ԹԱԶ-ի օրինակ է ջրածնի պերօքսիդը (H_2O_2):

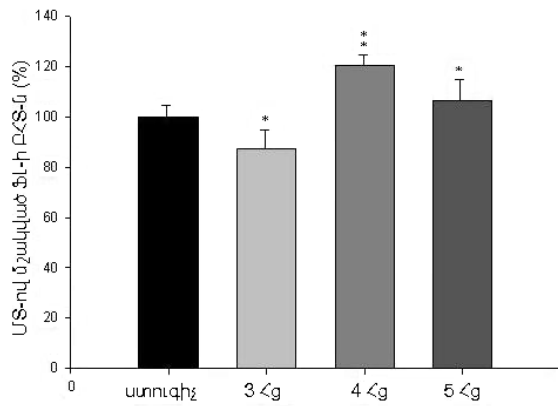
Ելնելով վերը նշվածից կարելի է ենթադրել, որ լուծույթում H_2O_2 -ի կոնցենտրացիայի փոփոխությունը կարող է հադիսանալ այն ուղիներից մեկը, որի միջոցով մեխանիկական տատանումները ներգործում են տարբեր տեսակի օրգանիզմների տարաբնույթ բջիջների նյութափոխանակային գործընթացների վրա:

ՄՏ-ի 3, 4 և 5 Հց հաճախությունների համեմատական ուսումնասիրությունները ՖԼ-ի ֆիզիկաքիմիական հատկությունների վրա (FZS , H_2O_2) և մեկ անգամ ապացուցում են 4 Հց-ի «պատուհանային» ազդեցության բնույթը և թույլ տալիս հետևություն անել, որ 4Հց ՄՏ-ով մշակված ՖԼ-ն հանգեցնում է ՖԼ-ում FZS -ի մեծացմանն ու H_2O_2 -ի կոնցենտրացիայի նվազմանը (նկար 1, 2):

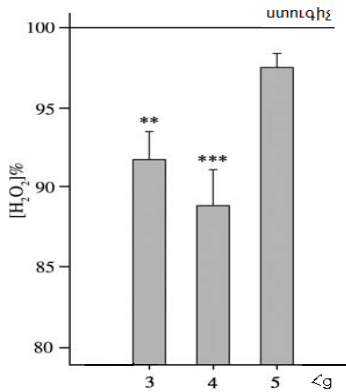
Քանի որ 4Հց ՄՏ-ը բերում էն H_2O_2 -ի կոնցենտրացիայի նվազմանը ՖԼ-ում այդ նպատակով ՄՏ-ի ազդեցության կենսաբանական մեխանիզմները պարզաբանելու նպատակով ուսումնասիրվել է ՖԼ-ի մեջ ավելացված նանոմոլյար կոնցենտրացիաներով H_2O_2 -ի և 4 Հց ՄՏ-ով մշակված ՖԼ-ի ազդեցությունները սրտամկանի կծկելիության, սրտամկանի ներբջջային ^{45}Ca -ի փոխանակության վրա, ինչպես նաև 4Հց ՄՏ-ի ազդեցությունը ցիկլիկ նուկլեոտիդների (gԱՄՖ) և (gԳՄՖ) ներբջջային քանակների, բջջի հիդրատացիայի և թաղանթների կողմից H^3 -օուաբայինի կապման քանակների վրա:

Ստուգիչ (չմշակված) ՖԼ-ը 4Հց մեխանիկական տատանումներով մշակված ՖԼ-ով փոխարինելու արդյունքում տեղի է ունեցել սրտամկանի կծկելիության ամպլիտուդի նկատելի մեծացում: Սրտամկանի կծկումները ներկայացված են նկար 3-ում: Այդ իսկ պատճառով, նույն փորձերը կրկնվել են ցուրտ ($+10^\circ C$) (նկար 3b) և Na^+/K^+ -ական պոմպի արգելակիչ՝ օուաբաինի ($10^{-4}M$) ներկայությամբ (նկար 3c) ցույց տալու համար սրտամկանի կծկելիության կախվածությունը նյութափոխաբակությունից և Na^+/K^+ -ական պոմպի ակտիվությունից (Azatian et al.1997):

Ստացված տվյալներից պարզվել է, որ ՄՏ-ով մշակված ՖԼ-ի ազդեցությունը սրտամկանի վրա կախած չէ Na^+/K^+ -ական պոմպի ակտիվությունից:

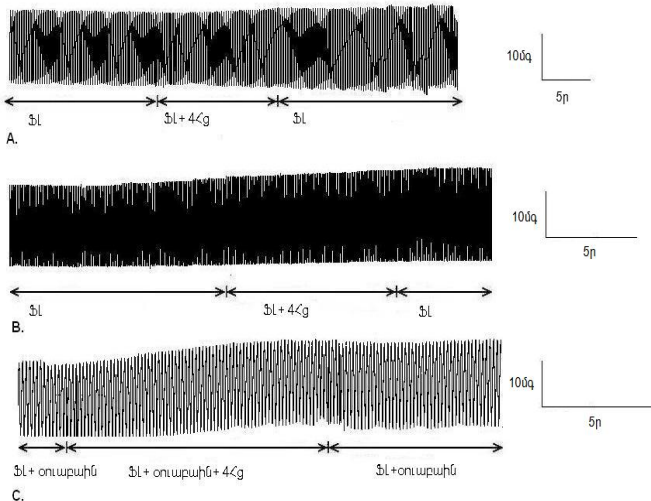


Նկար 1: 3, 4, 5Հց հաճախությամբ ՄՏ-ով մշակված և հեղուկ ազոտում սառեցված ՖԼ-ի ԲՀՏ-ն սենյակային ջերմաստիճանում՝ $22 \pm 0.5^\circ C$: Հալման տևողությունը ներկայացված է %-ով, փորձնական նմուշը համեմատված է ստուգիչի հետ, ** $P < 0.001$

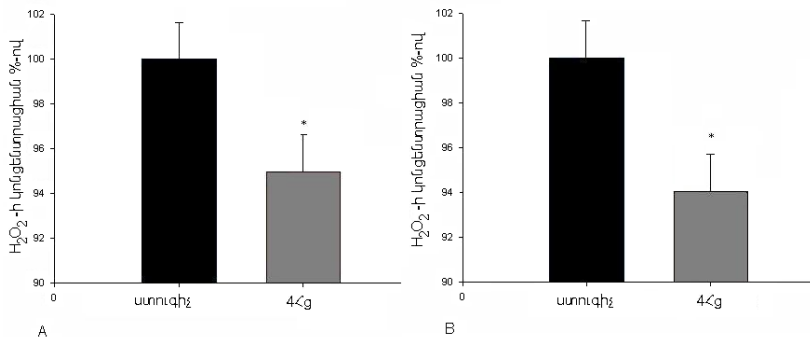


Նկար 2: 3, 4, 5 շգ ՄՏ-ի ազդեցությունը ՖԼ-ում H_2O_2 -ի կոնցենտրացիայի փոփոխության վրա արտահայտված %-ով

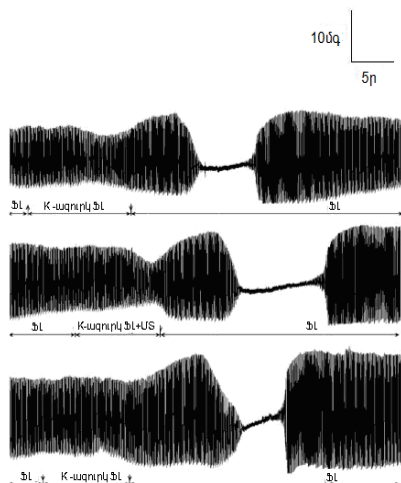
Պարզաբանելու համար կենսաբանական հյուսվածքների H_2O_2 քայքայող ֆերմենտների դերը H_2O_2 -ի նվազման գործընթացում ուսումնասիրվել է 4շգ ՄՏ-ի ազդեցությունը սրտամկան պարունակող և սրտամկանից գուրկ ՖԼ-երում H_2O_2 -ի կոնցենտրացիայի փոփոխության վրա (նկար 4): Տվյալներից պարզվել է, որ 4 շգ ՄՏ-ն ավելի ակնհայտորեն է քչացնում H_2O_2 -ի քանակությունը հյուսվածք պարունակող ՖԼ-ում քան հյուսվածք չպարունակողում:



Նկար 3: 15 րոպե տևողությամբ 4շգ ՄՏ-ի ազդեցությունը սրտամկանի կծկելիության վրա սենյակային ջերմաստիճանում ($+22^\circ C$) (a), սառը միջավայրում ($+10^\circ C$) (b) և օււարահն պարունակող ՖԼ-ում (c)

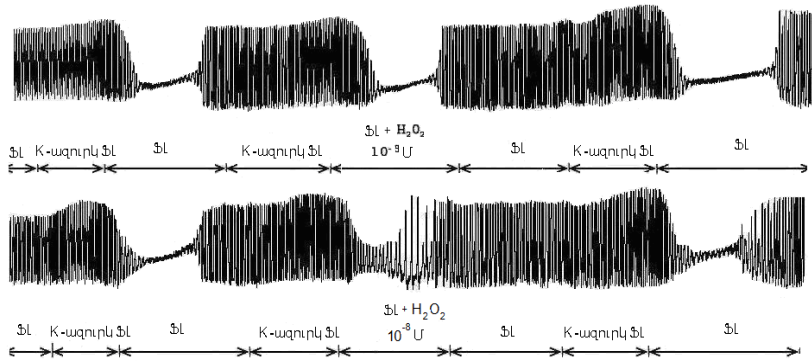


Նկար 4: 4 չց հաճախականությամբ ՄՏ-ով մշակված ֆիզիոլոգիական լուծույթում (A) և սրտամկան պարունակող ֆիզիոլոգիական լուծույթում (B) H₂O₂-ի պարունակությունը (արտահայտված %-ով) ստուգիչի հետ համեմատած *P<0.05



Նկար 5: 4չց ՄՏ-ով մշակված կալիումազորել ՖԼ-ի ազդեցությունը Na⁺/K⁺-ական պոմպով պայմանավորված սրտամկանի կծկելիության կարճատև արգելակման վրա:

Չնայած այն փաստին, որ նախորդ շարք փորձերում ցույց տրվեց, որ ՄՏ-ի ազդեցությունը կախված չէ Na⁺/K⁺-ական պոմպի ակտիվությունից, տվյալներից պարզ դարձավ, որ ՄՏ-ով մշակված K-ազորել ՖԼ-ն ցուցաբերել է ակտիվացնող ազդեցություն ուսումնասիրվող 10 սրտամկանների Na⁺/K⁺-ական պոմպով պայմանավորված կծկելիության կարճատև արգելակման ժամանակահատվածի վրա, որը ենթադրվում է, որ կարող է պայմանավորված լինել կամ Na/K-ական պոմպի էլեկտրոգենության մեծացմամբ կամ Na⁺/K⁺-ական ԱԵՖ-ազների քանակության փոքրացմամբ (նկար 5):

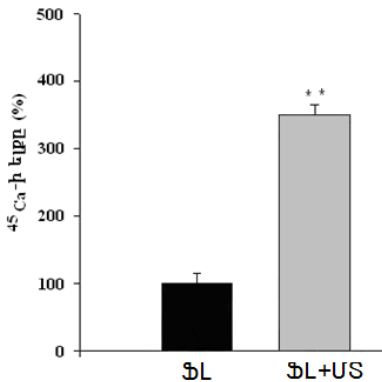


Նկար 6: Նորմալ ՖԼ-ում ավելացված տարբեր կոնցենտրացիաներով H_2O_2 -ի ազդեցությունները Na^+/K^+ -ական պոմպով պայմանավորված սրտամկանի կծկելիության կարճատև արգելակման վրա: Մաշտաբը ներկայացնող հորիզոնական առանցքը ցույց է տալիս մշակման տևողությունը արտահայտված բուպեներով, իսկ ուղղահայաց առանցքը՝ սրտամկանի կծկելիության ուժը արտահայտված մգ-երով

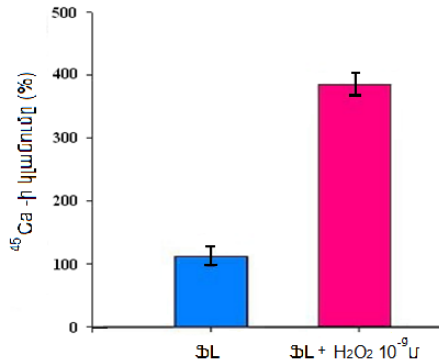
Մյուս փորձերի շարքում ուսումնասիրվել է H_2O_2 -ի նանոմոլյար կոնցենտրացիաների հարուցած կենսաբանական էֆեկտը *Helix pomatia* խաղողի խիտունջի Na^+/K^+ -ական պոմպով պայմանավորված սրտամկանի կծկելիության կարճատև արգելակման վրա: Ստացված արդյունքներից պարզվել է, որ Na^+/K^+ -ական պոմպով պայմանավորված սրտամկանի կծկելիության կարճատև արգելակումը ճնշվում է, երբ H_2O_2 -ը լրացուցիչ ավելացվում է նորմալ ՖԼ-ին (նկար 6) ի տարբերություն 42ց ՄՏ-ով մշակված ՖԼ-ի ազդեցությանը, երբ տեղի է ունենում Na^+/K^+ -ական պոմպով պայմանավորված սրտամկանի կծկելիության կարճատև արգելակման ժամանակահատվածի մեծացում:

Ներբջջային Ca^{2+} իոնները կարևոր դեր են խաղում մկանային կծկման կարգավորման գործընթացում: Այդ նպատակով փորձերի մյուս շարքում ուսումնասիրվեց 42ց ՄՏ-ով մշակված ՖԼ-ի և ՖԼ-ի մեջ ավելացված 10^{-9} Մ H_2O_2 -ի համեմատական ազդեցությունները սրտամկանի ներբջջային Ca^{2+} իոնների փոխանակության վրա:

Ստացված տվյալներից պարզվել է, որ ՄՏ-ով մշակված ՖԼ-ն և H_2O_2 պարունակող ՖԼ-ն թողնում են հակառակ ազդեցություններ ^{45}Ca -ի կլանման գործընթացում, առաջինը ակտիվացնում է ^{45}Ca -ի դուրս մղումը (ՄՏ) (նկար 7), այն դեպքում երբ երկրորդը ակտիվացնում է նրա կլանումը (H_2O_2) (նկար 8):



Նկար 7: 4Հց US-ով մշակված ՖԼ-ի ազդեցությունը խաղողի խխունջի սրտամկանի բջիջներից ⁴⁵Ca-ի ելքի վրա **P<0.001

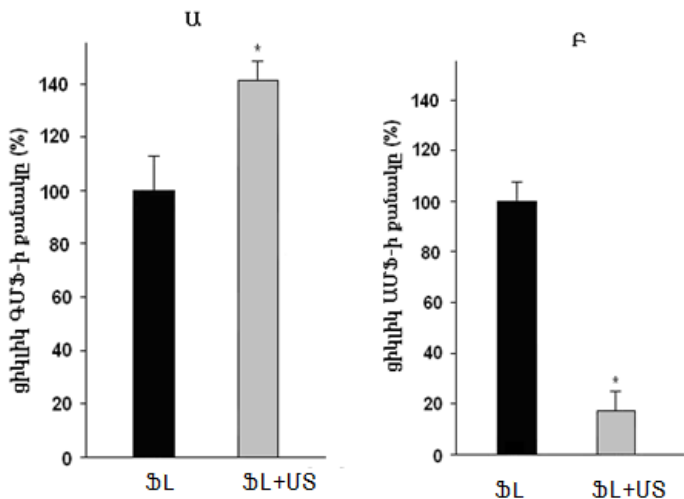


Նկար 8: ՖԼ-ի մեջ ավելացված 10⁻⁹ M H₂O₂-ի ազդեցությունը խաղողի խխունջի սրտամկանի բջիջների կողմից ⁴⁵Ca-ի կլանման վրա:

Հայտնի է, որ առկա է 2 մեխանիզմ, որոնք պատասխանատու են բջիջ Ca²⁺-ի դուրս բերման համար, դրանք են՝ Na:Ca-ական փոխանակիչը և պլազմային թաղանթներում Ca²⁺-ԱԵՖազ պոմպը (Blaustein et al. 1999): Երկուսն էլ հանդիսանում են ներբջջային ցԳՄՖ-կախյալ մեխանիզմներ (Azatian et al. 1998): Na:Ca-ական փոխանակիչը գործում է 1Ca²⁺ ին մղելով դեպի բջիջ և 3Na⁺ ին բջիջ դուրս ուղղությամբ:

Հետագա ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ US-ով մշակված ՖԼ-ի ազդեցությունը ցԱՄՖ և ցԳՄՖ ներբջջային մակարդակների վրա խիստ օրինաչափության մեջ է գտնվում Ca²⁺-ի փոխանակության հետ:

Ինչպես երևում է նկար 9Ա-ում, US-ով ՖԼ-ի մշակման արդյունքում ցԳՄՖ-ի ներբջջային մակարդակը սրտամկանում մեծացել է, այն դեպքում, երբ ցԱՄՖ-ի մակարդակը նվազել է (*նկար 9Բ*) չմշակված տարբերակների համեմատ: Քանի որ Na:Ca-ական փոխանակիչը աշխատում է էլեկտրածին ռեժիմով 1Ca²⁺/3Na⁺ (Blaustein 1999, Dipolo, Beaugq 2006), և ունի հզոր մոդուլացնող էֆեկտ բջիջի հիդրատացիայի վրա (Baumgarten 2005, Takeuchi et al., 2006), հետևաբար ենթադրվում է, որ 4 Հց US-ով մշակված ՖԼ-ով պայմանավորված, ցԳՄՖ-ից կախված Na:Ca-ական փոխանակիչի ակտիվացումը հակադարձ ռեժիմով, կարող է բերել սրտամկանի հյուսվածքի հիդրատացիայի: Այս ենթադրությունը ստուգելու համար ուսումնասիրվել է 4 Հց US-ով մշակված ՖԼ-ի ազդեցությունը սրտամկանի հիդրատացիայի վրա:



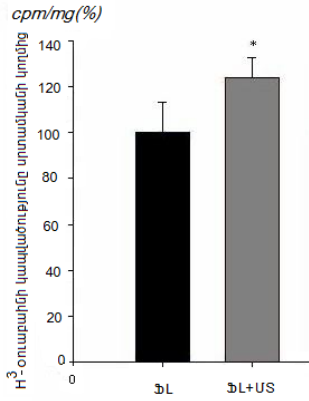
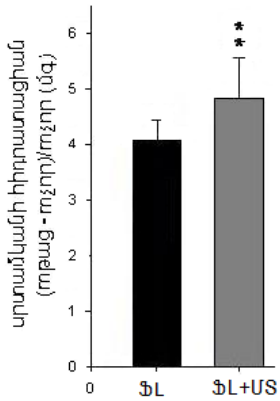
Նկար 9Ա և 9Բ: 4շ ՄՏ-ով մշակված ՖԼ-ի ազդեցությունը սրտամկանում *ցիկլիկ ԳՄՖ-ի (9Ա)* և *ցիկլից ԱՄՖ-ի (9Բ)* ներբջջային քանակների վրա * $P < 0.05$

Ստացված արդյունքներից պարզ է դառնում (*նկար 10*), որ ՄՏ-ով մշակված ՖԼ-ն համեմատած չմշակված ՖԼ-ի մեծացնում է սրտամկանի հիդրատացիան $18.64 \pm 3\%$ -ով:

Յույց տալու նպատակով, թե արդյոք Na:Ca-ական փոխանակչով պայմանավորված բջջի հիդրատացիան է այն մեխանիզմը, որի միջոցով ՄՏ-ով մշակված ՖԼ-ն կարող է մեծացնել սրտամկանի կծկելիության ամպլիտուդը, ուսումնասիրվեց ՄՏ-ով մշակված ՖԼ-ի ազդեցությունը բջջաթաղանթում օուաբախի նեցեպտորների քանակի վրա: Օուաբախի նեցեպտորներն ընտրվել են որպես բջջաթաղանթի ֆունկցիոնալ ակտիվ սպիտակուցների քանակության որոշման մարկեր:

Ուսումնասիրության արդյունքները ցույց են տվել, որ ՄՏ-ով մշակված ՖԼ-ն մեծացնում է բջջաթաղանթում օուաբախի կապման տեղամասերը $25 \pm 4\%$ -ով համեմատած չմշակված ՖԼ-ի հետ (*նկար 11*): Ենթադրվում է, որ հենց սպիտակուցային ակտիվ մոլեկուլների քանակության մեծացումն էլ հանգեցնում է խիունջի սրտամկանի կծկելիության ամպլիտուդի մեծացմանը:

Ամփոփելով ստացված տվյալները, պարզաբանվել է որ 4 շց մեխանիկական տատանումների ազդեցության հետևանքով արտաբջջային հեղուկում H_2O_2 -ի կոնցենտրացիայի նվազումը, որը կարող է հանդիսանալ ՄՏ-ի ազդեցության թիրախ և միջնորդ, բերում է սրտամկանի ներբջջային ցիկլիկ նուկլեոտիդների քանակության փոփոխությանը (ցԳՄՖ-ի մեծացում, ցԱՄՖ-ի փոքրացում):



Նկար 10: 15 րոպե տևողությամբ 4 Հց US-ով մշակված 5L-ի ազդեցությունը սրտամկանի հիդրատացիայի վրա չմշակված 5L-ի համեմատ ****P < 0.001**

Նկար 11: 15 րոպե 4Հց US-ով մշակված 5L-ի ազդեցությունը 10^{-9} U H^3 -օուարաինի սրտամկանային բջիջների բջջաթաղանթի հետ կապվածության վրա (արտահայտված %-ով համեմատած ստուգիչի հետ):

Ընդ որում, ցԳՄՖ-ի ներբջջային քանակության մեծացումն իր հերթին ակտիվացնում է Ca-ական պոմպը և Na:Ca-ական փոխանակիչը հակադարձ ռեժիմով ($1Ca^{2+}$ դուրս, $3Na^{+}$ ներս), ինչի արդյունքում էլ տեղի է ունենում բջջի հիդրատացման աստիճանի մեծացում և բջջաթաղանթում սպիտակուցային ակտիվ մոլեկուլների քանակության ավելացում, ինչն էլ հանգեցնում է խխունջի սրտամկանի կծկելիության ամպլիտուդի մեծացմանը:

ԵԶՐԱՀԱՆԳՈՒՄՆԵՐ

- Հաստատվել է ՖԼ-ի ֆիզիկաքիմիական հատկությունների վրա 4Հց ՄՏ-ի ազդեցության պատուհանային բնույթը հարևան հաճախությունների համեմատ;
- 4Հց ՄՏ-ով հարուցված ջրածնի պերօքսիդի կոնցենտրացիայի նվազումը, որը հանդիսանում է ՄՏ-ի ազդեցության թիրախ և միջնորդ, առավել ցայտուն է դրսևորվում սրտամկան պարունակող ՖԼ-ում, առանց սրտամկանի ՄՏ-ի ազդեցությանը ենթարկված ՖԼ-ի համեմատ, որը կարող է պայմանավորված լինել և՛ արտաքինից տրվող ֆիզիկական ազդակի և՛ սրտամկանում առկա ֆերմենտների համատեղ ներգործությամբ;
- Ջրածնի պերօքսիդ պարունակող ֆիզիոլոգիական լուծույթի ազդեցությունը Na^+/K^+ -ական պոմպով պայմանավորված սրտամկանի կծկելիության կարճատև արգելակման տեղամասի վրա ունի ճնշող ազդեցություն ի տարբերություն 4 Հց մեխանիկական տատանումներով մշակված ֆիզիոլոգիական լուծույթի;
- 10^9Մ կոնցենտրացիայով H_2O_2 պարունակող և 4Հց ՄՏ-ով մշակված (որը հանգեցնում էր H_2O_2 -ի քանակի նվազման) ֆիզիոլոգիական լուծույթները իզոլացված սրտամկանի մոտ Ca^{2+} -ի փոխանակության վրա թողնում են հակառակ ազդեցություն, որը պայմանավորված է $\text{Na}:\text{Ca}$ -ական փոխանակչի ակտիվացմամբ համապատասխանաբար ուղիղ (ԳԱՄՖ-կախյալ) և հակադարձ (ԳԳՄՖ-կախյալ) ռեժիմներով;
- 4Հց ՄՏ-ով մշակված ֆիզիոլոգիական լուծույթի ազդեցության հետևանքով ԳԳՄՖ-կախյալ $\text{Na}:\text{Ca}$ -ական փոխանակչի ակտիվացումը պատճառ է հանդիսանում հյուսվածքի հիդրատացիայի աստիճանի մեծացման;
- 4Հց ՄՏ-ով պայմանավորված բջջի հիդրատացիան հանգեցնում է բջջաթաղանթում ֆունկցիոնալ ակտիվ սպիտակուցային մոլեկուլների քանակի մեծացմանը (օուաբաինի ռեցեպտորները հանդիսանում են որպես մարկեր), որոնցով պայմանավորված է բջջաթաղանթի ֆունկցիոնալ ակտիվությունը և սրտամկանի կծկելիության ամպլիտուդի մեծացումը:

ԳԻՏԱԿԱՆ ՏՊԱԳԻՐ ԱՇԽԱՏԱՆՔՆԵՐԻ ՑԱՆԿ

1. Erna Dadasyan. The hydrogen peroxide as a possible messenger for 4 Hz mechanical vibration treatment of heart muscle contractility. Biological Journal of Armenia, 2(65):47-51, 2013
2. Erna Dadasyan, Gayane Ayrapetyan, Naira Baghdasaryan, Yerazik Mikayelyan, Sinerik Ayrapetyan. *"The metabolic pathway of 4Hz infrasound effect on snail heart muscle contractility"*, The Environmentalist, 32(2): 166-174, 2012
3. Naira S. Baghdasaryan, Yerazik R. Mikayelyan, Sedrak V. Barseghyan, E. Dadasyan, Sinerik N. Ayrapetyan. *"The modulating impact of illumination and background radiation on 8Hz-induced infrasound effect on physicochemical properties of physiological solution"*, Electromagnetic Biology and Medicine, 31 (4): 310-319, 2012
4. Anush Deghoyan, Armenuhi Heqimyan, Anna Nikoghosyan, Erna Dadasyan, and Sinerik Ayrapetyan. *"Cell bathing medium as a target for non thermal effect of millimeter waves"* Electromagnetic biology and medicine, 31(2): 132-142, 2012
5. Naira Baghdasaryan, Yerazik Mikayelyan, Sedrak Barseghyan, Erna Dadasyan, Ph., Sinerik Ayrapetyan. *"The density-dependency of dark and low background radiation effects on water and water solution properties"*, Electromagnetic biology and medicine, 31(01): 87-100, 2012
6. Erna Dadasyan, Sinerik Ayrpetyan. *The Comparative Study of Magnetized Physiological Solution-induced and Hydrogen Peroxide-induced Stimulation Effect on Heart Muscle Contractility* (PIERS, Cambridge, USA) p.312, 2010
7. Gayane Ayrapetyan, Hovik Hayrapetyan, Erna Dadasyan, Sedrak Barseghyan, Naira Baghdasaryan, Erazik Mikayelyan, Sinerik Ayrapetyan *"THE NON THERMAL EFFECT OF WEAK INTENSITY MILLIMETER WAVES ON PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES OF WATER AND WATER SOLUTIONS "*, Electromagnetic Biology and Medicine, 28 (4):331-341, 2009
8. G. S. Ayrapetyan, E. H. Dadasyan, E. R. Mikayelyan, S. V. Barseghyan, and Sinerik Ayrapetyan *Cell Bathing Medium as a Target for Non-thermal Effect of MMW on Heart Muscle Contractility*, (PIERS Proceedings, Moscow, RUSSIA), pp. 1057 – 1060, 2009
9. Dadasyan E., Ayrapetyan G. *"The influence of Infrasound at 4 Hz (30dB) on heart muscle contractility"*. 2-nd World Conference of Magic Bullets (Ehrlich II) (Nurnberg, Germany). p.67A, 2008.

10. Dadasyan E., Ayrapetyan G. 2007. *The nature of the metabolic pathway of the biological effect of 4 Hz 30 Db mechanical vibration on heart muscle contractility*. Proceedings of IV International Conference on Molecular Recognition (Pecs Hungary), pp: 56, 2007
11. Ayrapetyan G, Grigoryan A, Dadasyan E., Ayrapetyan S. *The comparative study of the effects of 4 Hz Electromagnetic Fields- , Infrasound- treated and Hydrogen Peroxide containing physiological solutions on Na pump-induced inhibition of heart muscle contractility*. The Environmentalist. 27: 483-488, 2007
12. Ayrapetyan G., Dadasyan E., Hayrapetyan H., Ayrapetyan S. Exogenous Hydrogen Peroxide as a messenger for stimulation effect of magnetized physiological solution on heart contractility, *Bioelectromagnetics* 29: 549-558, 2007
13. Dadasyan E., Ayrapetyan G. 2006. *The Effects of 4 Hz 30Db Mechanical Vibrations on Heart Muscle Contractility and ⁴⁵Ca Uptake by Heart Muscle*. Proceedings of ONRG/EOARD/IUPAB Seminar "Mechanisms of Mecanotransduction in Living Cells" (Yerevan, Armenia), pp: 125-127, 2006
14. Ayrapetyan G., Grigoryan A., Hayrapetyan H., Dadasyan E. 2006. *The Hydrogen Peroxide as a Possible Messenger for Magnetized Physiological Solution-Induced Stimulation of Heart Muscle Contractility*. Proceedings of the 4th International Workshop on Biological Effects of Electromagnetic Fields (Crete Greece), pp: 1323-1328, 2006

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ ВЛИЯНИЯ МЕХАНИЧЕСКОГО КОЛЕБАНИЯ С ЧАСТОТОЙ 4 Гц НА СОКРАТИМОСТЬ СЕРДЕЧНОЙ МЫШЦЫ

Дадасян Эрна Овиковна

РЕЗЮМЕ

Ключевые слова: пероксид водорода, механическое колебание, сократимость сердечной мышцы, цАМФ, цГМФ, H^3 -уабаин

Диссертация посвящена исследованию влияния механического колебания /МК/ с частотой 4Гц на сократимость сердечной мышцы виноградной улитки (*Helix pomatia*) и выявлению механизмов ее биологического воздействия. С целью выявления частотных “окон” было изучено влияние механических колебаний с частотами 3, 4, 5 Гц на физико-химические свойства физиологического раствора /ФР/ (длительность плавления кристаллов, изменение концентрации пероксида водорода / H_2O_2 /). Для изучения механизмов биологического воздействия на сократимость сердечной мышцы и на транспорт внутриклеточных ионов кальция были проведены исследования связи изменений наномолярных концентраций H_2O_2 и влияния МК с частотой 4Гц.

В рамках диссертационной работы было также показано влияние механического колебания с частотой 4Гц на изменение концентрации внутриклеточных циклических нуклеотидов цАМФ и цГМФ, степени гидратации сердечной ткани и изменение числа молекул уабаина, связанных с клеточной мембраной.

В результате исследований выяснилось, что при воздействии МК с частотами 3, 4, 5 Гц на длительность плавления кристаллов ФР наибольший эффект был получен под воздействием МК с частотой 4Гц ($21.33 \pm 4\%$). Такой же результат был получен при воздействии тех же МК на изменение уровня концентрации H_2O_2 : синтез H_2O_2 подавлялся под действием 3, 4, 5 Гц, но особенно это четко наблюдалось при частоте 4Гц ($13 \pm 0.5\%$).

Таким образом, было выявлено 4Гц-ое частотное “окно” МК, наиболее сильно влияющее на физико-химические свойства ФР.

Было также исследовано влияние МК с частотой 4Гц на изменение концентрации H_2O_2 в ФР. В ФР, в котором была инкубирована сердечная мышца, под влиянием МК 4Гц концентрация H_2O_2 была ниже по сравнению с ФР без сердечной мышцы.

Показано, что пероксид водорода наномолярной концентрации, добавленный в ФР и ФР, обработанный МК с частотой 4Гц по-разному влияют на кратковременное торможение сократимости сердечной мышцы, вызванное Na/K насосом. В отличие

от второго, в первом случае наблюдается подавление кратковременного торможения сократимости сердечной мышцы.

Результаты исследований показали, что H_2O_2 10^{-9} М концентрации, дабавленный в **ФР** и **ФР**, обработанный **МК** с частотой 4Гц по-разному влияют на транспорт ионов кальция изолорованной сердечной мышцы, что является следствием активации Na:Ca обменника в прямом (цАМФ-зависимом) и обратном (цГМФ-зависимом) режимах, соответственно.

Экпериментально подтвердилось предположение, что активация цГМФ-зависимого Na:Ca обменника, при воздействии **ФР**, обработанного **МК** с частотой 4Гц, является причиной увеличения степени гидратации ткани, что в свою очередь приводит к увелечению числа функционально-активных белковых мелекул (рецепторы уабаина являются своего-рода маркерами), чем и обуславливается функциональная активность клеточной мембраны и увелечение амплитуды сократимости сердечной мышцы.

Суммируя полученные данные, было сделано заключение, что в результате воздействия **МК** с частотой 4Гц уменьшается концентрация H_2O_2 во внеклеточной среде, что приводит к изменению внутриклеточной концентрации циклических нуклеотидов (увелечению цГМФ, уменьшению цАМФ). Увеличение внутриклеточной концентрации цГМФ в свою очередь активирует кальциевый насос и работу Na:Ca обменника в обратном режиме (1Ca²⁺ выходит, 3Na⁺ входят), вследствие чего происходит увелечение степени гидратации клетки и увелечение числа функционально-активных белковых молекул, что и приводит к увелечению амплитуды сократимости сердечной мышцы улитки.

THE MECHANISMS OF 4 Hz MECHANICAL VIBRATION-INDUCED BIOLOGICAL
EFFECT ON HEART MUSCLE CONTRACTILITY

SUMMARY

Key words. Hydrogen peroxide, mechanical vibration, heart muscle contractility, cAMP, cGMP, H³-ouabain.

The following thesis is dedicated to the study of 4 Hz mechanical vibration **MV** effect on snail's heart muscle contractility of *Helix pomatia* and the mechanisms of **MV**-induced biological effect. For this reason the influence of 3, 4, 5 Hz **MV** on physicochemical properties (hydrogen peroxide **H₂O₂**, heat fusion) of physiological solution **PS** was studied to find out the "window" frequency. To elucidate the mechanisms of the biological effect the influence of nanomolar concentration of **H₂O₂** and 4 Hz **MV** on isolated heart muscle contractility and transport of intracellular Ca²⁺ ions were comparatively studied. The obtained results of the current thesis have also shown the influence of 4 Hz mechanical vibration on intracellular level changes of cyclic nucleotides (cAMP and cGMP), heart muscle tissue hydration level and binding of H³-ouabain molecules by the cell membrane.

From the obtained data of the thesis it becomes clear that maximum effect of heat fusion was observed after 4 Hz treatment of **PS** (21.33±4 %), comparing to the heat fusion of 3, 5 Hz **MV**-treated **PS**. The same results were obtained on **H₂O₂** concentration changes in **PS** after the influence of 3, 4, 5 Hz **MV**. In all three cases there was inhibition of **H₂O₂** formation in **PS**. However, the effect was much more significant after treatment of **PS** by 4 Hz **MV**(13±0.5%).

From the results of the thesis it becomes clear that 4 Hz **MV** is the "window" frequency which effects on the physicochemical properties of **PS** more obviously compared to the neighbour frequencies.

It was shown that 4Hz **MV** treatment decreases the **H₂O₂** concentration in **PS**, which can serve as the **MV** influence target and messenger. By the way, the obtained data indicated that 4 Hz **MV**-induced depression effect on **H₂O₂** contents in heart containing **PS** was more pronounced than in heart free of **PS**.

From the results of the thesis it becomes obvious that nanomolar concentrations of **H₂O₂** added into **PS** and 4 Hz **MV**-treated **PS** have the opposite effects

on Na/K pump-induced transient inhibition of heart muscle contractility. In the first case there was a depression of the Na/K pump-induced transient inhibition of heart muscle contractility, compared to the second case.

From the obtained data it was shown that 10^{-9} M H_2O_2 added into **PS** and 4Hz **MV**-treated **PS** had the opposite effects on transport of intracellular Ca^{2+} ions too, which was accompanied by the activation of Na:Ca exchanger in forward (cAMP dependent) and opposite (cGMP dependent) regimes, respectively.

It was experimentally established that 4 Hz **MV**-treated **PS** brings to the cGMP-dependent Na:Ca exchanger's activation which increases the tissue hydration level the number of the active protein molecules in membrane (ouabain receptors as a marker). The latter determines the functional activity of cell membrane and increases the amplitude of heart muscle contractility.

To summarize the obtained data it was established that the influence of 4 Hz mechanical vibration decreases the H_2O_2 level in cell bathing aqua medium, which changes the intracellular levels of cyclic nucleotides (increases cGMP, decreases cAMP). The increasing of the intracellular cGMP level in its turn activates Ca pump and Na:Ca exchanger in opposite regime (1 Ca^{2+} efflux, 3 Na^+ influx), in the result of which it increases cell hydration level and the number of active protein molecules of cell membrane, which in its turn brings to the increasing of the amplitude of heart muscle contractility.