

ՀՀ ԿՐԹՈՒԹՅԱՆ ԵՎ ԳԻՏՈՒԹՅԱՆ ՆԱԽԱՐԱՐՈՒԹՅՈՒՆ
ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

ՇԱՀԻՆՅԱՆ ՍԱՐԻԱՄ ԱՇՈՏԻ

ՄԻԼԻՄԵՏՐԱՅԻՆ ԱԼԻՔՆԵՐԻ *in vitro* և *in vivo* ՆԵՐԳ-ՈՐԾՈՒԹՅԱՆ
ՈՒՍՈՒՄՆԱՄԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ ՈՐՈՇ ԿԵՆՍԱՀԱՄԱԿԱՐԳԵՐԻ ՎՐԱ

Գ.00.02 - Կենսաֆիզիկա մասնագիտությամբ
կենսաբանական գիտությունների թեկնածուի
գիտական աստիճանի հայցման ատենախոսությամբ

ՄԵՂՍԱԳԻՐ

ԵՐԵՎԱՆ 2012

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РА
ЕРЕВАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

ШАГИНЯН МАРИАМ АШОТОВНА

ИЗУЧЕНИЕ *in vitro* и *in vivo* ВЛИЯНИЯ МИЛЛИМЕТРОВЫХ ВОЛН НА
НЕКОТОРЫЕ БИОСИСТЕМЫ

АВТОРЕФЕРАТ

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

ЕРЕВАН 2012

Ատենախոսության թեման հաստատվել է Երևանի պետական համալսարանում

Գիտական ղեկավար՝	կենս. գիտ. դոկտոր, պրոֆեսոր Պ.Հ. Վարդևանյան
Պաշտոնական ընդդիմախոսներ՝	կենս. գիտ. դոկտոր, պրոֆեսոր Հ.Ռ. Վարդապետյան Ֆիզմաթ. գիտ. թեկնածու, դոցենտ Վ.Պ. Զալանթարյան
Առաջատար կազմակերպություն՝	ՀՀ ԱՆ Ճառագայթային բժշկության և այրվածքների գիտական կենտրոն

Ատենախոսության պաշտպանությունը տեղի կունենա 2012թ. սեպտեմբերի 28-ին ժամը 14⁰⁰-ին, Երևանի պետական համալսարանում գործող 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 2012թ. օգոստոսի 27-ին:

051 Մասնագիտական խորհրդի գիտական
քարտուղար, կենս. գիտ. դոկտոր, պրոֆեսոր
Լ.Հ. Նավասարդյան

Тема диссертации утверждена в Ереванском государственном университете

Научный руководитель:	доктор биол. наук, профессор П.О. Вардеванян
Официальные оппоненты:	доктор биол. наук, профессор Р.Р. Вардапетян кандидат физ.-мат. наук, доцент В.П. Калантарян
Ведущая организация:	Научный центр радиационной медицины и ожогов МЗ РА

Защита диссертации состоится 28-ого сентября 2012г. в 14⁰⁰ часов на заседании Специализированного совета Биофизики 051 при Ереванском государственном университете (0025, Ереван, ул. Алека Манукиана 1, ЕГУ, биологический факультет).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Ереванского государственного университета.
Автореферат диссертации разослан 27-ого августа 2012г.

Ученый секретарь Специализированного совета 051,
доктор биол. наук, профессор
Л.А. Навасардян

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы. Многие физические факторы окружающей среды, в том числе электромагнитное излучение, играют важную роль в процессах жизнедеятельности живых организмов. В частности, электромагнитные волны природного происхождения в биосфере играют роль носителя и передатчика разнообразной информации. Электромагнитные волны искусственного происхождения с различными частотами могут непосредственно или опосредовано воздействовать на живые организмы.

Одним из направлений современной электромагнитной биологии является исследование физико-химических механизмов воздействия электромагнитного излучения (ЭМИ) на биологические системы, находящихся на различных уровнях организации. Например, электромагнитные волны ультравысоких (УВЧ), сверхвысоких (СВЧ) частот, а также инфракрасные (ИК) и ультрафиолетовые (УФ) волны применяются в промышленности, клинической практике и быту. ЭМИ крайне высоких частот (КВЧ) или электромагнитные волны миллиметрового диапазона (ММ волны) исследовались и получили прикладное значение позже [Петросян В.И. и др., 2001].

Многочисленные исследования показывают, что ЭМИ КВЧ может практически влиять на биологические объекты на любых уровнях организации, при этом, физико-химические механизмы воздействия этого фактора обусловлены поглощением излучения данного интервала со стороны молекул воды. Более того, имеется достаточное количество фактов, указывающих на то, что первичным звеном воздействия ЭМИ КВЧ является вода, изменение структуры которой *in vitro* и *in vivo* влияет на важнейшие процессы, происходящие в биологических системах [Хургин Ю.И., 1995].

Цель и задачи исследования: Целью диссертационной работы являлось исследование влияния ММ волн на биосистемы, находящихся на разных уровнях организации, при различных термодинамических состояниях. С этой целью были выбраны прорастающие семена пшеницы, которые находятся вдали от равновесия и на организменном уровне, эритроциты крови крыс, которые являются клеточными системами, находящиеся в стационарном состоянии, а также ДНК и ДНК-лиганд комплексы, являющиеся молекулярными системами, находящиеся в равновесном состоянии.

Для осуществления поставленной цели нами были приняты к разрешению следующие задачи:

- выявление роли воды при воздействии ММ волн на отмеченные системы;
- исследование воздействия ЭМИ КВЧ на рост и развитие семян пшеницы, общую пероксидазную активность и изоферментный состав пероксидазы в клетках проростков пшеницы;
- исследование воздействия ММ волн на электрокинетический потенциал эритроцитов крови крыс;
- изучение изменения термодинамических параметров ДНК и ДНК-лиганд комплексов под воздействием ЭМИ КВЧ.

Научная новизна: Впервые исследовано влияние ЭМИ КВЧ на биологические объекты, находящиеся на разных – in vivo организменном (прорастающие семена пшеницы), клеточном (эритроциты), субклеточном (пероксидаза) и in vitro молекулярном (ДНК и ДНК-лиганд комплексы) уровнях и выявлено, что:

- первичным звеном воздействия ЭМИ КВЧ является вода;
- при воздействии ММ волн на семена пшеницы изменяются рост и развитие проростков, а также имеет место изменение общей активности пероксидазы за счет стимулирования синтеза последней, и перераспределение количественного соотношения молекулярных форм пероксидазы;
- воздействие ЭМИ КВЧ изменяет электрокинетический потенциал эритроцитов как в организме, так и вне организма, при этом показано, что это воздействие ярко выражено при облучении суспензии эритроцитов, поскольку кровь и в целом организм обладают стабилизирующим влиянием;
- в результате воздействия ЭМИ КВЧ на водно-солевые растворы ДНК и ДНК-лиганд комплексов меняются их термодинамические параметры.

Основные положения выносимые на защиту:

- Значение воды в формировании ответа организма под воздействием ММ волн;
- Влияние ЭМИ КВЧ на рост и развитие пшеницы;
- Влияние ЭМИ КВЧ на пероксидазную активность в клетках проростков пшеницы;
- Изменение количественного соотношения изоферментного состава пероксидазы в клетках проростков пшеницы под воздействием ММ волн;
- Влияние ЭМИ КВЧ на изменение электрокинетического потенциала эритроцитов крови крыс;
- Влияние ЭМИ КВЧ на изменение термодинамических параметров ДНК и ДНК-лиганд комплексов.

Практическая ценность работы: Практическая ценность диссертационной работы заключается в том, что полученные результаты носят фундаментальный характер и направлены на выявление механизмов воздействия ЭМИ КВЧ на организменном, клеточном и молекулярном уровнях. Анализ полученных данных выявляет новые особенности отклика биологической системы на воздействие ММ волн.

Полученные в данной работе результаты открывают новые возможности для дальнейших исследований в этой области. Полученные данные могут быть использованы в специальных лекционных курсах для студентов соответствующих кафедр ЕГУ, а также в научных лабораториях, занимающихся исследованием воздействия ММ волн на биологические объекты.

Апробация работы: Материалы диссертации докладывались и обсуждались на семинаре кафедры биофизики ЕГУ и на следующих научных конференциях: International Conference & DAAD Alumni Seminar “Biotechnology and Health-3”, Ереван, Армения, Октябрь 15-17, 2009;

International Symposium on Solvation and Ionic Effects in Biomolecules: Theory to Experiment, Цахкадзор, Армения, Май 17-21, 2010; International Conference & DAAD Alumni Seminar "Biotechnology and Health-4", Ереван, Армения, Октябрь 28-30, 2010; Международная конференция "Радиобиологические и агроэкологические исследования", Тбилиси, Грузия, 2012; International Conference "Radiation Safety Challenges in the 21st Century", Ереван, Армения, Июнь 20-21, 2012.

Публикации: По теме диссертации опубликованы 11 научных работ.

Структура и объем диссертации: Диссертационная работа состоит из введения, трех глав, заключения, выводов и списка литературы, насчитывающего 137 наименований. Диссертация изложена на 117 страницах, включает 23 рисунка и 4 таблицы.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во Введении кратко описывается структура диссертационной работы, обсуждаются ее цель, актуальность и научное значение.

Первая глава посвящена обсуждению существующих в настоящее время в литературе основных вопросов, связанных с действием электромагнитных волн миллиметрового диапазона на биологические системы и возможными гипотезами воздействия этих волн. Обсуждаются состояние воды в биологических системах, а также взаимодействие лигандов с ДНК.

Вторая глава посвящена материалам и методам исследования.

Использованные препараты. В работе были использованы сверхчистая ДНК тимуса теленка, фирмы «Sigma» (США), бромистый этидий (БЭ) и Hoechst 33258 (H33258), фирмы «Serva» (Германия), NaCl, Na-цитрат. Все препараты были использованы без дополнительной очистки. Концентрации ДНК, БЭ и H33258 были определены абсорбционным методом, используя следующие коэффициенты экстинкции: для ДНК тимуса теленка - $\epsilon_{260}=6600\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, БЭ - $\epsilon_{480}=5850\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, H33258 - $\epsilon_{343}=42000\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Растворы были приготовлены в буферах с ионной силой 0.002; 0.01; 0.02; 0.05 и 0.1M Na⁺ (1×SSC содержит 0.15M NaCl, 0.015M Na-цитрат и 10⁻²M ЭДТА (этилендиаминтетраацетат)).

Влияние ММ волн на прорастание было исследовано на семенах пшеницы сорта «Безостая». Семена были облучены, затем проращивались. В другой части экспериментов семена смачивались и в дальнейшем поливались облученной ММ волнами водой. Для исследования изменения общей пероксидазной активности был получен растительный экстракт в 0.15M трис-НСl буфере, который содержал 0.01M DTT. Полученная масса была центрифугирована 15мин, со скоростью 18000g. В экспериментах использовалась надосадочная жидкость. Активность пероксидазы была определена в окислительной реакции пирогаллола перекисью, основываясь на изменении оптической плотности реакционной смеси при длине волны 430 нм [Baden D.G. and Corbett M.D., 1979]. Количество белка определялось методом Лоури [Lowry O.H. et al., 1951]. Электрофоретическое разделение изоферментов проводилось в 5.5%

полиакриламидном геле по методу диск-электрофореза [Dietz A.A. and Lubran I., 1967]. В каждой трубочке с гелем был добавлен растительный экстракт по 0.6мг. Окрашивание гелей после электрофореза осуществлялось по методу [Сафонов В.И. и Сафонова М.П., 1969], затем определялась активность пероксидазы.

Для определения электрокинетического потенциала (ЭКП, ξ -потенциал) эритроцитов крови крыс были облучены животные породы «Vestag» и суспензия эритроцитов их крови. Для получения суспензии несколько капель крови крыс добавляли в физиологический раствор. Значение ξ -потенциала определялось согласно [Вардеванян П.О., 1990].

Использованные приборы. Спектрофотометрические измерения проводились на спектрофотометре PVE Unicam-100 (Англия). Нагрев растворов препаратов осуществлялся с помощью программного устройства SP 876 Series 2, со скоростью 0.25°C/мин. Для спектрофотометрических измерений использовались герметически закрытые тефлоновыми пробками кварцевые кюветы, длиной оптического пути 10 мм и объемом 3 мл. Кривые плавления ДНК и ее комплексов с лигандами строились, как описано в [Vardevanyan P.O. et al., 2001]. Спектры поглощения были выведены на монитор компьютера в программной среде LabVIEW 8.5 (National Instruments) с помощью программы разработанной доцентом кафедры оптики ЕГУ В.Л. Элбакяном. Длина волны, соответствующей максимуму поглощения для H33258, равна 343 нм, для БЭ – 480 нм.

В качестве облучателей применялись генератор Г4-141 (СССР), с рабочим интервалом частот 37.50-53.57ГГц и плотностью потока мощности 0.6мВт/см² и генератор Г4-142 (СССР), с рабочим интервалом частот 53.57-78.33ГГц и плотностью потока мощности 50мкВт/см². Стабильность частоты сигнала составляла $\pm 0.05\%$, и отклонение частоты выходного сигнала в непрерывном режиме генерации не превышало 6МГц.

Облучение образцов ДНК и ДНК-лиганд комплексов проводилось в чашках Петри, покрытых целлофаном во избежание испарения воды, в течение 60 мин, с частотами 50.3ГГц, 51.8ГГц и 64.5ГГц. Толщина облучаемого раствора составляла ~1 мм.

Проращивание семян пшеницы проводилось при 25°C. Прорастающие семена и вода, которой далее были обработаны эти семена, были облучены ЭМИ частотами 49ГГц, 50.3ГГц, 51.8ГГц, 53ГГц и 64.5ГГц в течение 20, 30 и 60 мин.

Облучение крыс проводилось в течение 20 мин (однократно и многократно), а суспензии эритроцитов их крови - однократно, с частотами 49ГГц, 50.3ГГц, 51.8ГГц и 64.5ГГц. Облучение проводилось в течение четырех дней.

Во всех проведенных экспериментах величина статистической ошибки не превышала 5%.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние ММ волн на рост и развитие проростков пшеницы.

Полученные данные последних лет указывают на то, что влияние электромагнитных волн на биосистемы обусловлено их резонансным

поглощением. При этом выявлено, что вода и живые организмы откликаются на одни и те же резонансные частоты. На основании этого факта для изучения влияния ММ волн были выбраны резонансные для воды частоты - 50.3ГГц, 51.8ГГц и 64.5ГГц.

С целью исследования влияния ММ волн на системы, находящиеся вдали от равновесия, были облучены прорастающие семена пшеницы тремя указанными выше и двумя не резонансными – 49ГГц и 53ГГц частотами. В табл. 1 приведены значения массы и длины облученных семян при указанных частотах. Из табличных данных видно, что имеет место увеличение массы, при этом, этот эффект более выражен при резонансных для воды частотах. Из табличных данных выявляется также, что интенсивность роста проростков семян, обработанных облученной водой с соответствующей продолжительностью и частотой, больше, по сравнению с интенсивностью роста облученных проростков.

Таблица 1
Изменение массы (мг) и длины (см) проростков облученных ММ волнами с продолжительностью 20 мин и обработанных облученной соответствующей продолжительностью и частотами водой семян

Частота облучения, ГГц	2 день прорастания		3 день прорастания		4 день прорастания	
	Облученные семена	Семена обработанные облученной водой	Облученные семена	Семена обработанные облученной водой	Облученные семена	Семена обработанные облученной водой
Масса проростков пшеницы (мг)						
0	13.0±1.0	13.0±1.0	32.1±2.6	32.1±2.6	45.0±3.8	45.0±3.8
49	14.1±1.1	18.9±1.3	32.9±2.7	33.3±2.6	48.3±3.9	53.9±4.3
50.3	15.2±1.2	22.7±1.8	33.3±2.6	33.1±2.6	51.6±4.1	58.6±4.5
51.8	14.6±1.1	19.2±1.3	33.6±2.6	33.9±2.7	50.8±4.1	61.0±4.7
53	16.2±1.2	19.0±1.3	33.1±2.6	32.6±2.6	47.0±3.9	54.1±4.3
64.5	15.3±1.2	21.0±1.4	33.4±2.6	34.1±2.8	49.1±4.1	58.2±4.5
Длина проростков пшеницы (см)						
0	1.40±0.05	1.40±0.05	3.40±0.13	3.40±0.13	5.95±0.24	5.95±0.24
49	1.58±0.06	2.10±0.09	3.53±0.14	3.50±0.14	6.31±0.25	6.00±0.24
50.3	1.76±0.07	2.40±0.09	3.70±0.15	3.60±0.15	6.34±0.25	6.90±0.28
51.8	1.60±0.06	2.70±0.10	3.70±0.15	4.10±0.16	6.70±0.27	7.10±0.28
53	1.46±0.05	2.20±0.09	3.50±0.14	3.50±0.14	5.70±0.23	6.10±0.24
64.5	1.68±0.06	2.50±0.10	3.80±0.15	3.80±0.15	6.50±0.26	6.51±0.26

Исследовано также влияние ММ волн на длину проростков семян в зависимости от частоты и продолжительности облучения. Из представленных в табл. 1 данных видно также, что ответная реакция на облучение прорастающих семян меньше по сравнению с ответной реакцией проросших семян, обработанных облученной водой.

Это указывает на то, что при формировании первичного ответа биосистемы на воздействие ММ волн, главную роль играет вода, и наблюдаемый эффект больше при облучении резонансными частотами воды. Фактически, вода является медиатором, который обеспечивает перенос информации из внешней среды во внутрь клетки.

Влияние ММ волн на общую активность пероксидазы в клетках проростков пшеницы. Известно, что во время прорастания семян активность пероксидазы в клетке увеличивается, следовательно, изучение влияния ММ волн на общую активность пероксидазы является важным для понимания механизмов активации внутриклеточных процессов.

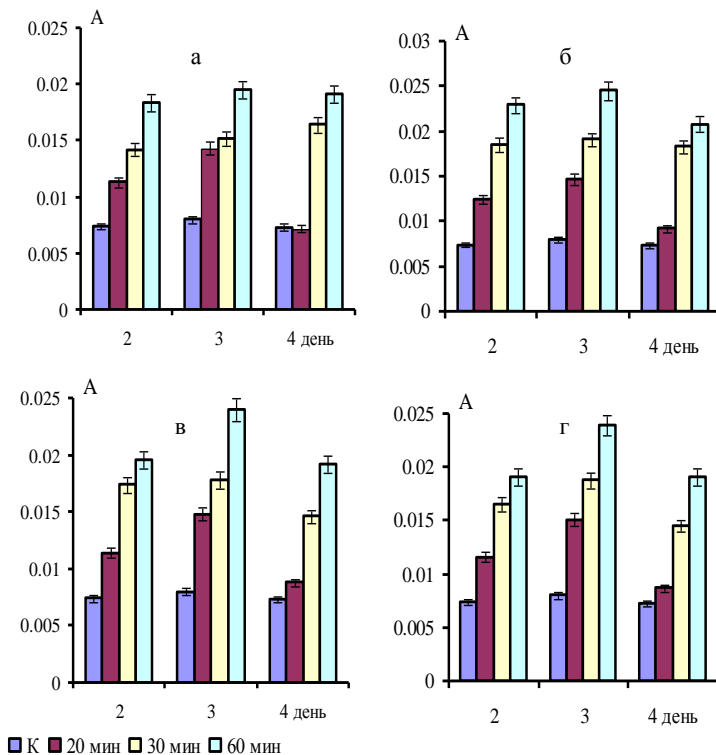


Рис. 1. Зависимость общей активности (А) пероксидазы в проростках семян от продолжительности облучения ЭМИ КВЧ частотами 49ГГц (а), 50.3ГГц (б), 51.8ГГц (в) и 64.5ГГц (г).

Выявлено, что облучение прорастающих семян индуцирует увеличение активности пероксидазы проростков, и величина изменения зависит от продолжительности облучения: при облучении с продолжительностью 20 мин активность пероксидазы в облученных проростках увеличивается на

второй и третий дни, в то время как на четвертый день активность уменьшается, оставаясь незначительно больше, по сравнению с контрольными образцами. При облучении с продолжительностью 30 и 60 мин на четвертый день активность пероксидазы хоть и уменьшается, но остается значительно больше по сравнению с контрольным образцом (рис. 1). По всей вероятности, этот факт связан с тем, что, при коротких продолжительностях облучения, организму удается на четвертый день вырабатывать ответную реакцию, направленную на уменьшение воздействия ММ волн, в то время как при более продолжительных облучениях организму уже не удается нейтрализовать это воздействие. Как видно из рис. 1, при облучении не резонансными частотами ответная реакция меньше, чем при резонансных частотах. В результате обработки семян облученной водой также индуцируется увеличение активности пероксидазы. Следует отметить, что и в этом случае наблюдается та же закономерность, но увеличение активности пероксидазы больше, чем при облучении прорастающих семян и величина ответа биологической системы опять зависит от продолжительности облучения.

Тот факт, что при облучении семян, а также обработке семян облученной водой большей ответ наблюдается в тех вариантах, которые были облучены резонансными для воды частотами – 50.3ГГц, 51.8ГГц и 64.5ГГц, указывает на то, что энергия облучения проникает в клетку резонансно-колебательным механизмом.

Для выяснения причины увеличения общей активности пероксидазы проростков, индуцированной облучением, изучался изоферментный состав пероксидазы. Полученные результаты свидетельствуют о том, что происходит количественное увеличение некоторых изоферментов, что свидетельствует о том, что возможно происходит активация соответствующих генов контролирующих синтез пероксидазы. Таким образом, результаты свидетельствуют о том, что под воздействием миллиметровых волн в открытых системах активируются те процессы, в результате которых происходит прорастание семян, то есть увеличение неравновесного состояния, что стимулирует структурообразование и формирование организма.

Влияние ММ волн на электрокинетический потенциал эритроцитов крови крыс. Одним из характеристических параметров функционального состояния эритроцитов является электрокинетический потенциал (ЭКП, ξ -потенциал), величина которого зависит от физических условий внешней среды, следовательно, разнообразные физические факторы могут воздействовать на этот параметр. На основании этого нами изучено влияние ММ волн на ξ -потенциал эритроцитов крови крыс. Обнаружено, что этот фактор вызывает разнонаправленное влияние на ξ -потенциал эритроцитов, находящихся в суспензии и в организме животных, при этом, изменения в значениях ЭКП зависят от частоты облучения. На рис. 2а представлены значения ξ -потенциала эритроцитов при однократном облучении суспензии эритроцитов крови крыс и однократном облучении крыс. Из приведенного рисунка видно, что уже при однократном облучении суспензии индуцируются изменения в значениях ξ -потенциала, при этом, величина ответа зависит от частоты

облучения, в то время как однократное облучение животных не приводит к видимым изменениям значений ξ -потенциала. При неоднократном же облучении крыс также выявляются изменения ξ -потенциала эритроцитов крови (рис. 2б). В результате многократных облучений изменения значения ξ -потенциала обусловлены иницированием в организме таких процессов, которые направлены на ослабление влияния внешнего физического фактора. Эти результаты обусловлены тем, что при непосредственном облучении суспензии, эффект обнаруживается за счет резонансного поглощения ММ волн водой, вследствие чего система выходит из характерного стационарного состояния и переходит в новое стационарное состояние.

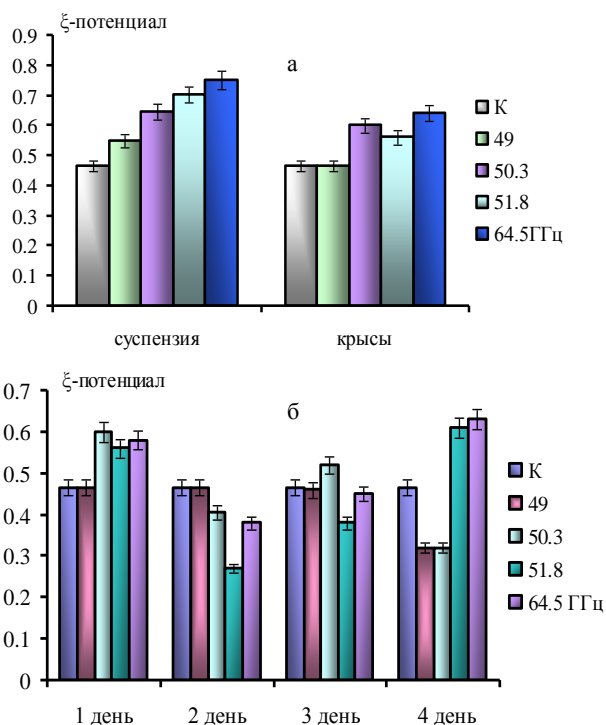


Рис. 2. Зависимость значения ξ -потенциала эритроцитов крови крыс от частоты и продолжительности ЭМИ КВЧ при однократном облучении суспензии эритроцитов и крыс (а) и при многократном облучении крыс (б).

При облучении же животных энергия облучения должна проникать через кожу, поэтому только многократные облучения в организме индуцируют изменения, которые приводят к переходу в новое стационарное состояние и наблюдается общее увеличение значения ξ -потенциала. Таким образом,

полученные результаты указывают на то, что воздействие внешнего физического поля сильнее проявляется в случае облучения суспензии, по сравнению с облучением эритроцитов, находящихся в организме животных. Этот факт может быть связан с тем, что кровь и в целом организм проявляют стабилизирующее влияние.

Влияние ММ волн на связывание лигандов с ДНК. Как отмечалось выше, увеличение активности некоторых изоферментов пероксидазы может быть обусловлено активацией соответствующих генов, контролирующих синтез этих изоферментов, то есть энергия облучения может воздействовать и на геномном уровне. В этой связи важным становится изучение влияния ММ волн на ДНК и ее комплексов с различными соединениями. Структура ДНК и ДНК-лиганд комплексов зависит от степени их гидратации, поэтому изменения состояния воды могут влиять на ДНК и ее взаимодействие с разными соединениями. Ранее было показано, что облучение ММ волнами воды и водно-солевых растворов с резонансными частотами приводит к структурным изменениям [Kalantaryan V.P. et al., 2010]. Для подтверждения этого предположения получены кривые плавления ДНК и ее комплексов с БЭ и Н33258 при разных ионных силах раствора под воздействием ММ волн. Из кривых плавления ДНК и ее комплексов с БЭ и Н33258 были получены значения температуры T_m и ширины интервала плавления ΔT . На рис. 3 представлены кривые зависимостей δT_m и $\delta \Delta T$ ($\delta T_m = T_m - T_0$, $\delta \Delta T = \Delta T - \Delta_0 T$, где T_0 и T_m температура, а $\Delta_0 T$ и ΔT ширина интервала плавления необлученного и облученного образцов соответственно) ДНК и ее комплексов с лигандами от ионной силы раствора (μ). Как видно из приведенного рисунка (рис. 3а), поведение кривых зависимости δT_m от μ ДНК (кривая 1) и ДНК-лиганд комплексов (кривая 2 и 3) почти одинаково: они монотонно уменьшаются до $\mu \approx 2 \cdot 10^{-2} M Na^+$, затем не меняются. Из приведенных данных выявляется, что облучение стабилизирует двойную спираль ДНК, поскольку T_m облученных образцов больше по сравнению с необлученными образцами. Этот факт обусловлен тем, что облучение водно-солевых растворов влияет на кластерную структуру воды как в присутствии, так и в отсутствие ДНК и ДНК-лиганд комплексов. Вследствие этого увеличивается степень их гидратации, что, в свою очередь, приводит к возрастанию T_m ДНК и ДНК-лиганд комплексов, поскольку имеет место ослабление электростатического отталкивания между отрицательно заряженными цепями ДНК из-за высокой диэлектрической проницаемости воды. Из полученных данных выявляется, что значение δT_m ДНК-лиганд комплексов как в случае Н33258, так и БЭ уменьшается по сравнению с δT_m чистой ДНК. Значение $\delta \Delta T$ в случае ДНК уменьшается до величины ионной силы раствора $0.02 M Na^+$, затем практически не меняется. Это обусловлено тем, что при облучении, при относительно больших ионных силах раствора, происходит увеличение степени гидратации ДНК особенно в АТ-богатых участках, в результате чего температура плавления этих участков увеличивается, а ΔT ДНК уменьшается. В случае ДНК-Н33258 комплексов (кривая 2), при низких ионных силах – 0.002 и $0.01 M Na^+$ значения $\delta \Delta T$ близки, поскольку в этих условиях степень гидратации ДНК высокая и в результате облучения

практически не меняется. В этих условиях Н33258 связывается с ДНК интеркаляционным способом, в результате чего ΔT комплексов увеличивается, и значения $\delta\Delta T$ положительные. Необходимо отметить, что в случае необлученных комплексов при аналогичных условиях увеличение ионной силы раствора вызывало уменьшение $\delta\Delta T$ ДНК-Н33258 комплексов, как это было ранее показано [Vardevanyan P.O. et al., 2008].

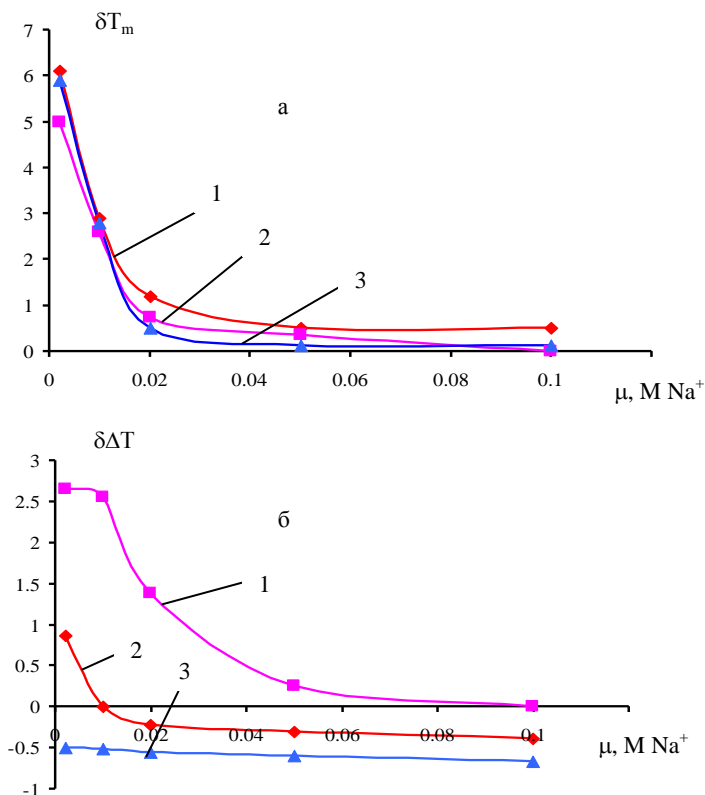


Рис. 3. Зависимости δT_m (а) и $\delta\Delta T$ (б) от μ для ДНК (1) и ее комплексов с Н33258 (2) и БЭ (3).

Вследствие облучения, с увеличением ионной силы раствора, значение $\delta\Delta T$ уменьшается, однако остается положительным вплоть до $\mu \approx 0.1 M Na^+$. Это обусловлено тем, что с увеличением ионной силы раствора начинает проявляться АТ-специфическое связывание Н33258 с ДНК, в результате чего ширина интервала плавления начинает уменьшаться. По сравнению с комплексами ДНК-Н33258 в случае комплексов ДНК-БЭ (кривая 3) значение $\delta\Delta T$ остается практически неизменным. БЭ не проявляет

выраженную специфичность к определенным типам пар оснований, вследствие чего изменение ширины интервала плавления комплексов ДНК-БЭ под воздействием облучения почти одинаково при исследованных ионных силах раствора. Таким образом, облучение комплексов ДНК-Н33258 приводит к исчезновению специфичности к АТ-последовательностям при высоких ионных силах за счет того, что происходят изменения в водном окружении этих последовательностей в малом желобке ДНК, что отсутствует в необлученных образцах. Следовательно, специфичность таких соединений к определенным последовательностям ДНК может меняться не только за счет изменения ионной силы раствора, а также при облучении ММ волнами. В отличие от не интеркаляторов, в случае интеркаляторов (особенно БЭ) изменения способа связывания не наблюдаются, но облучение ММ волнами оставляет такое воздействие на структуру комплексов, что значительно меняются термодинамические параметры.

Исследованы также параметры связывания – константа K и число мест n при связывании лигандов с ДНК в координатах Скотчарда (рис. 4).

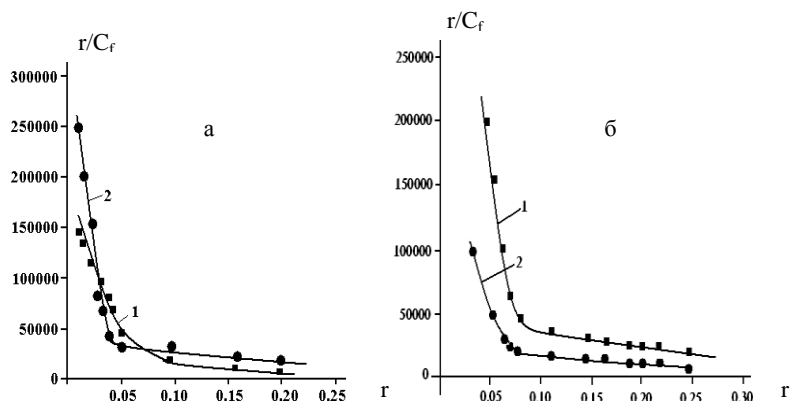


Рис. 4. Кривые связывания ДНК с БЭ (а) и Н33258 (б) в координатах Скотчарда при ионной силе раствора $0.002M Na^+$. Кривая 1 соответствует необлученным, кривая 2 – облученным образцам.

На рис. 4а приведены кривые связывания БЭ с ДНК при ионной силе $0.002M Na^+$ (при ионных силах 0.005 и $0.02M Na^+$ кривые имеют то же самое поведение, поэтому не приведены). Кривые 1 соответствуют необлученным образцам, кривые 2 – облученным. Из рис. 4а видно, что эти кривые существенно отличаются. Из кривых связывания получены значения K и n , которые обобщены в таблице 2. Из табличных данных становится очевидным, что в результате облучения значение константы связывания БЭ с ДНК сильным способом (K_s) увеличивалось, что более выражено при ионной силе раствора $0.02M Na^+$. Принимая во внимание то обстоятельство, что под воздействием ММ волн происходит увеличение степени гидратации ДНК, очевидно, что возрастание значения константы

связывания БЭ интеркаляционным способом с ДНК связано с этим фактором. На это указывает и тот факт, что в результате облучения при более низких ионных силах увеличение значения константы связывания меньше. Другой параметр, характеризующий взаимодействие, является n – число пар нуклеотидов, с которыми связывается одна молекула лиганда. Из табличных данных видно, что в растворах с низкими ионными силами, значения n в случае связывания БЭ с ДНК сильным способом (n_s), меньше, чем при высоких ионных силах, что указывает на то, что в этих условиях места связывания более доступны для молекул БЭ. Это обусловлено тем, что при больших концентрациях соли молекула ДНК приобретает более компактную структуру, поскольку происходит увеличение спиральности молекулы и интеркаляция молекул лиганда не только затрудняется, но и в результате приближения участков связывания образуются стерические препятствия. В результате облучения значения n , при сильном способе связывания, становятся почти равными при всех исследованных ионных силах раствора. Этот факт обусловлен тем, что при относительно больших ионных силах раствора степень гидратации ДНК становится практически такой, как и при низких ионных силах, поэтому во всех случаях, доступные для интеркаляции молекул БЭ, места связывания на ДНК одинаковы. В то же время, в случае связывания слабым способом облучение практически не влияет на величины n (n_w).

Таблица 2

Значения параметров связывания БЭ с ДНК – константа связывания и число мест связывания для необлученных и облученных образцов

μ, M Na^+	Необлученный образец				Облученный образец			
	$K_s \cdot 10^{-5}$	$K_w \cdot 10^{-5}$	n_s	n_w	$K_s^* \cdot 10^{-5}$	$K_w^* \cdot 10^{-5}$	n_s^*	n_w^*
0.002	37±0.05	0.85±0.05	8.0	2	38±0.05	0.84±0.05	10.0	4
0.005	30±0.05	0.67±0.05	9.0	2	35±0.05	0.54±0.05	10.0	4
0.02	18±0.05	0.50±0.05	11.0	1.5	32±0.05	0.6±0.05	9.0	3

На рис. 4б представлены также кривые связывания H33258 с ДНК при $\mu=0.002M Na^+$ ионной силе (при ионных силах 0.005 и 0.02M Na^+ получены аналогичные кривые). Кривые 1 соответствуют необлученным образцам, кривые 2 – облученным. Из кривых связывания получены значения K и n при 0.002, 0.005 и 0.02M Na^+ ионных силах, которые обобщены в таблице 3. Из табличных данных видно, что в результате возрастания ионной силы раствора наблюдается увеличение константы связывания сильным способом (K_s), поскольку при $\mu=0.02M Na^+$ K_s имеет достаточно высокое значение, что является результатом специфического взаимодействия H33258 с АТ-последовательностями ДНК в малом желобке. Для необлученных образцов, при $\mu=0.002$ и $\mu=0.005M Na^+$, значения K_s одинаковые и соответствуют связыванию интеркаляционным способом. Эти данные находятся в хорошем соответствии с результатами, полученными нами ранее [Vardevanyan P.O. et al., 2008], а также с результатами литературных данных. Из табличных данных также видно,

что в случае облучения, значения констант связывания сильным способом уменьшаются при всех ионных силах. При этом, в результате облучения при ионной силе $0.02M Na^+$ значение K_s практически совпадает со значением K_s , полученным при ионной силе $0.002M Na^+$ для необлученных образцов, при взаимодействии H33258 с ДНК. Как уже отмечалось выше, облучение приводит к увеличению степени гидратации ДНК при относительно высоких ионных силах раствора, в результате чего исчезает специфичность H33258 к АТ-последовательностям и этот эффект более выражен при $\mu \geq 0.01M Na^+$. Следовательно, полученные нами данные могут указывать на то, что в условиях $\mu = 0.02M Na^+$ облучение вызывает изменение механизма связывания H33258 с ДНК. Более значительное изменение выявляется при ионной силе $0.005M Na^+$, поскольку в результате облучения, значение K_s^* уменьшается почти на порядок. Это обусловлено тем, что в этих условиях H33258 связывается с ДНК по крайней мере двумя сильными способами: не специфическим (интеркаляция) и специфическим (с АТ-последовательностями в малом желобке), которые взаимно ослабляют друг друга.

Таблица 3
Значения параметров связывания H33258 с ДНК – константа связывания и число мест связывания для необлученных и облученных образцов

$\mu, M Na^+$	Необлученный образец				Облученный образец			
	$K_s \cdot 10^{-5}$	$K_w \cdot 10^{-5}$	n_s	n_w	$K_s^* \cdot 10^{-5}$	$K_w^* \cdot 10^{-5}$	n_s^*	n_w^*
0.002	60 ± 0.15	0.9 ± 0.05	7.0	1.5	58 ± 0.2	0.5 ± 0.05	8.0	1.5
0.005	32 ± 0.20	1.4 ± 0.05	8.0	2.0	2.6 ± 0.5	0.23 ± 0.15	2.0	1.0
0.02	100 ± 0.5	0.45 ± 0.05	10	2.0	50 ± 0.2	0.43 ± 0.05	10	1.5

Значения констант связывания слабым способом (K_w), полученные при указанных ионных силах, при облучении мало отличаются друг от друга. Более того, они практически совпадают со значениями K , полученными в случае необлученных образцов. Это указывает на то, что облучение ММ волнами почти не влияет на слабый способ, который соответствует электростатическому механизму связывания молекул лиганда с фосфатными группами ДНК. Аналогичные данные получаются при всех, резонансных для воды частотах. В то же время, из полученных данных выявляется монотонная зависимость изучаемых параметров от частоты, поскольку изменения параметров плавления и значения констант связывания сильным способом в случае обоих лигандов возрастают с увеличением резонансной частоты. В случае облучения не резонансными частотами воды значительного изменения параметров не наблюдается.

Таким образом, под влиянием ММ волн изменяются значения параметров связывания лигандов с ДНК, поскольку происходит увеличение степени гидратации ДНК, в результате чего система переходит в термодинамически наиболее выгодное состояние.

ВЫВОДЫ

1. Под влиянием ММ волн с резонансными для воды частотами в проростках пшеницы происходит рост интенсивности процессов активации, поскольку длина и масса проростков увеличивались по сравнению с необлученными образцами.
2. В результате облучения ММ волнами увеличивается общая активность пероксидазы в клетках проростков пшеницы в случае резонансных частот воды, в отличие от влияния волн нерезонансных частот. Кроме того, в результате облучения происходит перераспределение количественного соотношения молекулярных форм пероксидазы.
3. Воздействие ММ волн приводит к изменению величины ξ -потенциала эритроцитов крови крыс. При этом, это изменение больше при облучении суспензии эритроцитов по сравнению с изменением этого параметра эритроцитов крови после облучения животных.
4. Облучение ММ волнами водно-солевых растворов ДНК приводит к изменению характеристических параметров плавления ДНК, а также ДНК-лиганд комплексов аналогично таковым при изменении ионной силы раствора.
5. В результате воздействия ММ волн происходит изменение механизма связывания H33258 с ДНК, в то время как в случае БЭ подобного изменения не происходит.
6. Эффект облучения ММ волнами разных биологических систем, находящихся вдали от равновесия «на организменном уровне»; в стационарном состоянии «на клеточном уровне»; в равновесном состоянии «на молекулярном уровне» – ярко выражен при частотах резонансных для воды – 50.3ГГц, 51.8ГГц и 64.5ГГц.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ

1. Vardevanyan P.O., Parsadanyan M.A., Pirumyan K.V., Shahinyan M.A., Antonyan A.P. // The influence of different EMW on melting parameters of DNA-ligand complexes. International Conference & DAAD Alumni Seminar “Biotechnology and Health-3”, Yerevan (Armenia), October 15-17, 2009, p. 4-10.
2. Vardevanyan P.O., Antonyan A.P., Pirumyan K.V., Parsadanyan M.A., Sargsyan Sh.A., Shahinyan M.A. // Complex Formation of Hoechst 33258 with DNA at Various Ionic Strengths. International Symposium on Solvation and Ionic Effects in Biomolecules: Theory to Experiment, May 17-21, Tsakhkadzor, Armenia, Abstracts, 2010, p. 53.
3. Karapetian A.T., Torosyan M.A., Pogosyan G.A., Shahinyan M.A., Vardevanyan P.O. // Millimeter electromagnetic waves increases the thermostability of the water-saline solutions of DNA. International Conference & DAAD Alumni Seminar “Biotechnology and Health-4”, Yerevan (Armenia), October 28-30, 2010, p. 109-110.
4. Vardevanyan P.O., Antonyan A.P., Shahinyan M.A., Torosyan M.A., Karapetian A.T. // Effect of Millimeter Electromagnetic Waves on the Water-Saline Solutions of DNA and DNA-Ligand Complexes. Book of Abstracts Albany 2011: The 16th Conversation, J. Biomol. Str. Dyn., v. 28, N6, 2011, p. 1132.
5. Вардеванян П.О., Антонян А.П., Шагинян М.А., Карапетян А.Т. // Взаимодействие нековалентно связывающихся лигандов с ДНК. Доклады НАН РА, т. 111, N4, 2011, с. 352-358.
6. Неркаряян А.В., Шагинян М.А., Хачатрян А.В., Вардеванян П.О. // Влияние низкоинтенсивного нетеплового когерентного ЭМИ КВЧ на общую активность и изоферментный состав пероксидазы. Биологический журнал Армении, 4, (63), 2011, с. 96-103.
7. Շահինյան Մ.Ս. // Ֆորմինգի ծիլերի անճի վրա ցածր ինտենսիվությամբ ծայրահեղ բարձր հաճախականությամբ էլեկտրամագնիսական ճառագայթման ազդեցությունը: ԵՊՀ Գիտական տեղեկագիր, N1, 2012, էջ 32-38:
8. Вардеванян П.О., Неркаряян А.В., Парсаданян М.А., Шагинян М.А. // Роль воды в формировании отклика биологической системы на воздействие электромагнитных волн КВЧ. Радиобиологические и агроэкологические исследования, т.8, Сборник материалов Международной Конференции, Тбилиси, 2012, с. 208-210.

9. Антонян А.П., Шагинян М.А., Пирумян К.В., Вардеванян П.О. // Влияние ММ ЭМВ на связывание Hoechst 33258 с ДНК. Биологический журнал Армении, 1(64), 2012, с. 62-68.
10. Vardevanyan P.O., Nerkararyan A.V., Shahinyan M.A., Panosyan G.H. // The influence of non thermal, coherent EMI EHF with low intensity on electrokinetic potential of rat erythrocytes. Biol. Journal of Armenia, 2(64), 2012, p. 16-20.
11. Nerkararyan A.V., Shahinyan M.A., Parsadanyan M.A., Vardevanyan P.O. // The influence of non thermal coherent electromagnetic irradiation with extremely high frequencies and low intensity on electrokinetic potential of rat erythrocytes. International Conference “Radiation Safety Challenges in the 21st Century”, Yerevan, Armenia, June 20-21, 2012, p. 74-75.

ՇԱՀԻՆՅԱՆ ՄԱՐԻԱՄ ԱՇՈՏԻ

ՄԻԼԻՄԵՏՐԱՅԻՆ ԱԼԻՔՆԵՐԻ *in vitro* և *in vivo* ՆԵՐԳՈՐԾՈՒՅԱԼ
ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ ՈՐՈՇ ԿԵՆՍԱՀԱՄԱԿԱՐԳԵՐԻ ՎՐԱ

ԱՄՓՈՓԱԳԻՐ

Հանգուցային բառեր. Միլիմետրային տիրույթի էլեկտրամագնիսական ալիքներ, պերօքսիդազ, չ-պոտենցիալ, ԴՆԹ-լիզանդ կոմպլեքսներ

Աշխատանքում ուսումնասիրվել է միլիմետրային տիրույթի էլեկտրամագնիսական ալիքների ազդեցությունը կազմավորման տարբեր մակարդակում և տարբեր վիճակում գտնվող կենսահամակարգերի վրա: Այդ նպատակով ընտրվել են ցորենի ծղոլ սերմը որպես հավասարակշռությունից հեռու գտնվող օրգանիզմային համակարգ, առնետների արյան էրիթրոցիտները, որոնք ստացիոնար վիճակում գտնվող բջջային համակարգեր են և ԴՆԹ ու ԴՆԹ-լիզանդ կոմպլեքսները, որոնք հավասարակշռական վիճակում գտնվող մոլեկուլային համակարգեր են:

Ստացված արդյունքներից ի հայտ է եկել, որ ՄՄ ալիքներով ճառագայթահարումը ազդում է ցորենի ծիլերի աճի ու զարգացման, ինչպես նաև պերօքսիդազի ընդհանուր ակտիվության վրա: Հայտնաբերվել է, որ ճառագայթահարումը ջրի ռեզոնանսային հաճախականություններով հանգեցնում է ծիլերի զանգվածի, երկարության և պերօքսիդազի ընդհանուր ակտիվության փոփոխությանը: Այս հետազոտությունները իրականացվել են երկու տարբերակով՝ ծղոլ սերմերը ճառագայթահարվել են էլեկտրամագնիսական ալիքներով, մյուս դեպքում սերմերը թրջվել են ճառագայթահարված ջրով, սպա աճի ընթացքում մշակվել են համապատասխան հաճախականությամբ և տևողությամբ ճառագայթահարված ջրով: Պարզվել է, որ ավելի մեծ պատասխան ստացվում է երկրորդ տարբերակի դեպքում:

Բացահայտվել է նաև, որ ՄՄ ալիքների ազդեցության տակ ցորենի ծիլերի բջիջներում տեղի է ունենում պերօքսիդազի իզոֆերմենտային կազմի փոփոխություն: Յույց է տրվել, որ այս ներգործության արդյունքում դիտվում է պերօքսիդազի մոլեկուլային ձևերի քանակական կազմի վերաբաշխում: Ենթադրվում է, որ այս փաստը կապված է ՄՄ ալիքներով ճառագայթահարման արդյունքում պերօքսիդազի համապատասխան իզոֆերմենտների սինթեզը կարգավորող գեների ակտիվացման հետ:

Յույց է տրվել, որ կենդանական օրգանիզմում, մասնավորապես առնետների արյան մեջ տեղի է ունենում էրիթրոցիտների չ-պոտենցիալի փոփոխություն ՄՄ ալիքների ազդեցության ներքո: Այսպես, մեկանգամյա ճառագայթահարումը հանգեցնում է չ-պոտենցիալի արժեքի փոփոխությանը էրիթրոցիտների կախությամբ, իսկ առնետների մեկանգամյա ճառագայթահարման դեպքում փոփոխություն գրեթե չի հրահրվում: Ընդ որում, առնետների բազմակի ճառագայթահարումների դեպքում դիտվում է չ-պոտենցիալի արժեքի էական փոփոխություններ: Այս հանգամանքը վկայում է այն մասին, որ արյունը և ընդհանուր օրգանիզմը

սքրեալի նկատմամբ ձևավորում են պատասխան ռեակցիա, որը կայունացնում է օրգանիզմը արտաքին գործոնների նկատմամբ:

Հետազոտվել է նաև ՄՄ ալիքների ազդեցությունը ԴՆԹ-ի և ԴՆԹ-լիզանո կոմպլեքսների վրա: Պարզվել է, որ այս ներգործությունը հանգեցնում է ԴՆԹ-ի մոլեկուլի հիդրատացիայի աստիճանի մեծացմանը, որի արդյունքում տեղի է ունենում ԴՆԹ-ի և լիզանոների հետ նրա կոմպլեքսների հալման ջերմաստիճանի բարձրացում, այսինքն կայունացում: Յույց է տրվել, որ ԴՆԹ-ի հետ H33258-ի կոմպլեքսների վրա ՄՄ ալիքների ազդեցությունը հանգեցնում է փոխազդեցության մեխանիզմի փոփոխության, քանի որ ճառագայթահարման դեպքում լուծույթի բարձր իոնական ուժերում թուլանում է H33258-ին բնորոշ AT-սպեցիֆիկ կապումը ԴՆԹ-ի փոքր ակոտում և կապման նախընտրելի ձև է դառնում ինտերկալացիան: Այս փաստը վկայում է այն մասին, որ ԴՆԹ-ի հետ H33258-ի փոխազդեցության մեխանիզմի վրա լուծույթի իոնական ուժը և ճառագայթահարումը համանման ազդեցություն ունեն: ԷԲ-ի դեպքում ՄՄ ալիքների ներգործությունը չի հանգեցնում փոխազդեցության մեխանիզմի փոփոխության, սակայն էականորեն փոխվում են ԴՆԹ-ԷԲ կոմպլեքսների թերմոդինամիկ պարամետրերը: Ընդ որում, ջրի համար ոչ ռեզոնանսային հաճախականություններով լուծույթների ճառագայթահարումը գործնականում չի ազդում ԴՆԹ-ի և նրա կոմպլեքսների կայունության վրա:

Ստացված արդյունքներն ի հայտ են բերել, որ վերը ուսումնասիրված համակարգերը, որոնք գտնվում են տարբեր կազմավորման մակարդակներում և տարբեր վիճակներում, համապատասխան արձագանք են ցուցաբերում ՄՄ ալիքների ազդեցությանը, որն ավելի արտահայտված է ջրի ռեզոնանսային հաճախականությունների 50.3Գ-Հց, 51.8Գ-Հց և 64.5Գ-Հց դեպքում: Դա պայմանավորված է նրանով, որ ջուրը առաջնային դեր է կատարում արտաքին ազդակների նկատմամբ օրգանիզմի պատասխան ռեակցիայի ձևավորման մեջ: Այսպես, ջրի ռեզոնանսային հաճախականություններով ճառագայթահարման դեպքում վերը նշված համակարգերում տեղի է ունենում չափվող պարամետրերի աճ, մինչդեռ ոչ ռեզոնանսային հաճախականությունների դեպքում այդ պարամետրերն էական փոփոխությունների չեն ենթարկվում:

THE INVESTIGATION OF *in vitro* and *in vivo* EFFECT OF MILLIMETER WAVES ON SOME BIOSYSTEMS

SUMMARY

Key words: Electromagnetic waves of millimeter interval, peroxidase, ξ -potential, DNA-ligand complexes

The effect of electromagnetic waves of millimeter interval on biosystems being in different levels of organization and different states has been investigated in this work. For this aim the germinating wheat seed as an organism system being far from equilibrium, rat blood erythrocytes that are cellular systems being in stationary state and DNA and DNA-ligand complexes that are molecular systems being in equilibrium state were chosen.

It has been revealed from obtained data that electromagnetic irradiation of millimeter interval effects on growth and development, as well as peroxidase total activity of wheat germs. It was revealed that irradiation by water resonant frequencies results in changing of weight, length and peroxidase total activity of germs. These investigations were carried out by two variants: in the first case the germinating seeds were irradiated by electromagnetic waves, in the second case the seeds were watered then cultivated during germination by irradiated water of respective frequency and duration. It was revealed that a greater response is observed in case of the second variant.

It was also revealed that under the influence of MM waves the change of peroxidase isoenzymatic composition takes place in cells of wheat germs. It was shown that due to this effect a redistribution of quantitative composition of peroxidase molecular forms is observed. It is assumed that this fact is connected with activation of genes controlling the synthesis of peroxidase respective isoenzymes in result of MM wave irradiation.

It has been shown that in animal organism particularly in blood of rats the change of ξ -potential of erythrocytes takes place under the influence of MM waves. Thus, one-fold irradiation results in changing of ξ -potential value in suspension of erythrocytes, whereas in case of one-fold irradiation of rats there almost is not induced any change. Moreover in case of multiple irradiations of rats the significant changes of ξ -potential value are observed. This fact indicates that blood and the whole organism form response reaction to stress that stabilizes the organism against external factors.

The effect of MM waves on DNA as well as DNA-ligand complexes has been also investigated. It was revealed that this impact results in increasing of hydration degree of DNA molecule due to which the rise of melting temperature of DNA and its complexes with ligands that is stabilization of them takes place.

It was shown that the effect of MM waves on H33258 complexes with DNA results in interaction mechanism changing since AT-specific binding in DNA minor groove that is characteristic for H33258 weakens and intercalation remains as a preferable binding mode at high ionic strengths of solution. This

fact indicates that both solution ionic strength and irradiation have an analogical effect on interaction mechanism of H33258 with DNA.

In case of ethidium bromide the action of MM waves does not result in interaction mechanism changing, but the thermodynamic parameters of DNA-EtBr complexes are significantly changed. Moreover the irradiation of solutions by non resonant frequencies for water practically does not effect on stability of DNA and its complexes.

It has been revealed from obtained data that the systems investigated above that are on different levels of organization and in different states, exhibit the respective response to the effect of MM waves, that is more expressed in case of water resonant frequencies – 50.3GHz, 51.8GHz and 64.5GHz. It is conditioned by the fact that water plays a primary role in formation of response reaction of organism to external signals.

Thus, in case of irradiation by water resonant frequencies the increasing of measured parameters takes place in above mentioned systems, while the significant changes of these parameters are not observed in case of irradiation by non resonant frequencies for water.