

ՀՀ ԿՐԹՈՒԹՅԱՆ ԵՎ ԳԻՏՈՒԹՅԱՆ ՆԱԽԱՐԱՐՈՒԹՅՈՒՆ
ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

ԵԳԱՆՅԱՆ ԼԻԱՆԱ ՌՈԲԵՐՏԻ

Na/K-ԱԿԱՆ ՊՈՍՊԻ α ԵՆԹԱՄԻԱՎՈՐԻ ԹԵՐՖՈՒՆԿՑԻԱՆ ՈՐՊԵՍ ՍԱՐԿՈՄԱ-180-Ի
ԶԱՐԳԱՑՄԱՆ, ԻՆՉՊԵՍ ՆԱԵՎ ՑԻՍՊՂԼԱՏԻՆԻ ԵՎ ԳԵՐՑԱԾՐ ՀԱՃԱԽՈՒԹՅԱՆ
ԷԼԵԿՏՐԱՄԱԳՆԻՍԱԿԱՆ ԱԼԻՔՆԵՐԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆ ՀԻՄՆԱԿԱՆ ԹԻՐԱԽ

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

ՍԵՂՍԱԳԻՐ

ԵՐԵՎԱՆ 2014

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РА
ЕРЕВАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

ЕГАНЯН ЛИАНА РОБЕРТОВНА

ДИСФУНКЦИЯ α СУБЪЕДИНИЦЫ Na/K НАСОСА КАК ОСНОВНАЯ ПРИЧИНА РАЗВИТИЯ
САРКОМЫ-180, И МИШЕНЬ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЦИСПЛАТИНА И СВЕРХНИЗКОЧАСТОТНЫХ
ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ ВОЛН

АВТОРЕФЕРАТ

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

ЕРЕВАН 2014

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

Գիտական ղեկավար՝

կենս. գիտ. դոկտոր,
պրոֆեսոր Ս.Ն. Հայրապետյան

Պաշտոնական ընդդիմախոսներ՝

ՀՀ ԳԱԱ թղթակից անդամ, կենս. գիտ. դոկտոր,
պրոֆեսոր Ա.Հ. Թոշունյան

կենս. գիտ. դոկտոր,
պրոֆեսոր Ռ.Գ. Քամայան

Առաջատար կազմակերպություն՝ Օրգանական և դեղագործական քիմիայի գիտատեխնոլոգիական Կենտրոնի Ա.Լ. Մնջոյանի անվ. նուրբ օրգանական քիմիայի ինստիտուտ

Ատենախոսության պաշտպանությունը տեղի կունենա 2014թ. հունիսի 17-ին, ժամը 14⁰⁰-ին, Երևանի պետական համալսարանում գործող ՀՀ ԲՈՀ-ի Կենսաֆիզիկայի 051 մասնագիտական խորհրդի նիստում (0025, Երևան, Ալեք Սանուկյան փ. 1, ԵՊՀ, կենսաբանության ֆակուլտետ):

Ատենախոսությանը կարելի է ծանոթանալ Երևանի պետական համալսարանի գրադարանում:

Ատենախոսության սեղմագիրն առաքված է 2014թ. մայիսի 17-ին:

051 Մասնագիտական խորհրդի գիտական քարտուղար,
կենս. գիտ. թեկնածու, դոցենտ

Մ.Ա. Փարսադանյան

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

Научный руководитель:

доктор биол. наук,
профессор С.Н. Айрапетян

Официальные оппоненты:

член-корреспондент НАН РА, доктор
биол. наук, профессор А.А. Трчунян

доктор биол. наук,
профессор Р.Г. Камалян

Ведущая организация:

Институт тонкой органической химии им. А.Л. Мнджояна научно-технологического центра органической и фармацевтической химии

Защита диссертации состоится 17-го июня 2014г. в 14⁰⁰ часов, на заседании Специализированного совета 051 по Биофизике 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 17-го мая 2014г.

Ученый секретарь Специализированного совета 051,
кандидат биол. наук, доцент

М.А. Парсаданян

ՆԵՐԱԾՈՒԹՅՈՒՆ

Հիմնականորեն արդիականությունը: Քաղցկեղն աշխարհում տարեկան ավելի քան 6 մլն մարդու մահվան պատճառ է դառնում (World Health Organization 2011): Այժմ հաստատված է, որ քաղցկեղային հյուսվածքը գերհիդրատացված է և ջրի պարունակությունը կարող է հասնել մինչև 90%-ի: Գերհիդրատացիան ծառայում է ախտորոշիչ հիմնական ցուցանիշներից մեկը (Carter 1984): Հայտնի է նաև, որ քաղցկեղային բջջի կողմից օքսիդատիվ ունակության անկումն ուղեկցվում է բջջի հիդրատացիայով և միտոքոնդրիումների ուռչեցմամբ (Damadian 1972):

Բջջի հիդրատացիան դինամիկ ցուցանիշ է, որի միջոցով իրականացվում է բջջի ֆունկցիոնալ ակտիվության մետաբոլիկ կարգավորումը, ինչպիսիք են բջջաթաղանթի գրգռականությունը, քիմիական զգայունությունը, սպիտակուցների ակտիվությունը, և բջջի պրոլիֆերացիան (Parsegian 2005, Danielyan et al., 1999): Բջջի ուռչելը տանում է բջջաթաղանթում ֆունկցիոնալ ակտիվ մոլեկուլների, այդ թվում և Na/K-ական պոմպի, քանակի աճին, մինչդեռ բջջի սմբելը բերում է հակառակ արդյունքի (Ayrapetyan 1980): Անհրաժեշտ է նշել, որ Na/K-ական պոմպի աշխատանքային ակտիվությունը կապված է հատկապես իր α ենթամիավորի հետ, և որ այն իր ներդրումն ունի Ca^{2+} -ի փոխանակության գործում (Xie et al., 2002):

Ներկայացված աշխատանքի իրականացման համար հիմք է ծառայել այն ենթադրությունը, որ Na/K-ական պոմպի α ենթամիավորի թերֆունկցիան է բերում ներբջջային ազդանշանային համակարգի թերացման, որն էլ ոչ կանոնավոր պրոլիֆերացիայի, նաև քաղցկեղի, զարգացման պատճառ է դառնում: Ենթադրությունը հաստատելու կամ հերքելու նպատակով իրականացվեցին մի շարք փորձեր՝ այդ թվում նաև առողջ և սարկոմա-180 կրող մկների տարբեր հյուսվածքներում բջջաթաղանթի հետ 3H -ուաբայինի կապվածության և հիդրատացիայի համեմատական ուսումնասիրությունը, ինչպես նաև այս պարամետրերի զգայունությունը ցիսպլատինի հանդեպ:

Ցիս-դիամինոդիքլորոպլատինը կամ ցիսպլատինը ($cis\text{-Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2$; $cisPt$) հակաքաղցկեղային կարևոր միջոց է (Van Basten et al., 1997): Այն վնասում է ԴՆԹ-ն՝ ցուցաբերելով ցիտոտոքսիկ ակտիվություն: Հայտնի է նաև, որ ներբջջային ցիսպլատինի միայն 1%-ն է փոխազդում կորիզային ԴՆԹ-ի հետ: Ավելին, ցիսպլատինը կարող է մուտացիաների պատճառ դառնալ և, հետևաբար, իր հերթին կարող է նորագոյացումների սկիզբ դնել (Perez 1998): Այստեղից խնդիր է առաջանում բարձրացնել ցիսպլատինի արդյունավետությունը՝ զուգահեռաբար իջեցնելով դրա չափաբաժինը:

Հաստատված է, որ գերցածր հաճախության էլեկտրամագնիսական ալիքները (ԳՅՀ ԷՄԱ) ունեն հաճախությունից կախված ազդեցություն ջրի և ջրային լուծույթների ֆիզիկաքիմիական հատկությունների վրա, որոնք առավել արտահայտված են 4Հց և 8Հց (2,5մՏ) մշակման ժամանակ (Ayrapetyan 2006, Ayrapetyan 2012): Հայտնի է, որ 4Հց և 8Հց (2,5մՏ) ԷՄԱ-ն, ունենալով դեհիդրատացնող ազդեցություն հյուսվածքների վրա, ցուցաբերում է արտահայտված հակաքաղցկեղային ազդեցություն մկների սարկոմա-180 հյուսվածքի վրա (Ayrapetyan et al., 2008): Այսպիսով, փոփոխելով հիդրատացիան կամ

ջրի կառուցվածքային վիճակը՝ հնարավոր կլինի փոփոխել քաղցկեղային բնույթի բջջի զգայունությունը ցիսպլատինի հանդեպ: Այս առումով ԳՑՀ ԷՄԱ-ն կարելի է դիտարկել քաղցկեղի դեմ պայքարի արդյունավետությունը բարձրացնող հուսալի միջոց:

Աշխատանքի նպատակը և ուսումնասիրվող խնդիրները: Ներկայացվող աշխատանքի նպատակն է ի հայտ բերել նորմալ և քաղցկեղային բջիջների բջջաթաղանթներում առկա տարբերությունները Na/K-ական պոմպի α ենթամիավորի α_1 , α_2 և α_3 ենթատեսակների ֆունկցիոնալ տեսանկյունից, ինչպես նաև կարևորել հիդրատացիայի դերը դիտարկվող երևույթներում: Իրականացված աշխատանքների հիման վրա հնարավոր կլինի եզրակացություններ անել քիմիաթերապիայում նոր մեթոդներ ներդնելու համար, հատկապես ցիսպլատինի ներգործության արդյունավետությունը բարձրացնելու համար: Այս նպատակով իրականացվել են հետևյալ աշխատանքները.

- Որոշվել և համեմատվել են առողջ (Ա) և սարկոմա-180 կրող (ՄԿ) մկների տարբեր հյուսվածքների հիդրատացիայի մակարդակները:
- Ուսումնասիրվել է Ա և ՄԿ մկների տարբեր հյուսվածքներում ուաբայինի չափաքանակից կախված հիդրատացիայի և ^3H -ուաբայինի կապվածությունը:
- Ուսումնասիրվել է Ա և ՄԿ մկների տարբեր հյուսվածքների բջջաթաղանթներում ^3H -ուաբայինի կապվածությունը Na/K-ական պոմպի α ենթամիավորի α_1 , α_2 և α_3 ենթատեսակների հետ:
- Դիտարկվել է ցիսպլատինի ազդեցությունը Ա և ՄԿ մկների տարբեր հյուսվածքների հիդրատացիայի վրա:
- Պարզվել է Ա և ՄԿ մկների տարբեր հյուսվածքներում ցիսպլատինի ազդեցությունը ^3H -ուաբայինի կապվածության վրա՝ դիտարկվել է օրգանիզմի առողջ և հիվանդ վիճակում ցիսպլատինի ազդեցությունը Na/K-ական պոմպի α ենթամիավորի α_1 , α_2 և α_3 ենթատեսակների վրա:
- Ուսումնասիրվել են 4Հց և 8Հց (2.5մՏ) ԷՄԱ-ի հնարավոր ներգործությունները սարկոմա-180 հյուսվածքի հիդրատացիայի և ^3H -ուաբայինի կապվածության վրա:
- Ուսումնասիրվել են սարկոմա-180 հյուսվածքի ցիսպլատինով դեհիդրատացման վրա 4Հց և 8Հց ԷՄԱ-ի ներգործությունը:

Աշխատանքի գիտական նորույթը:

- Ստացված տվյալների վերլուծությունը թույլ տվեց հիդրատացիան դիտարկել որպես գերզգայուն պարամետր օրգանիզմում պաթոլոգիկ օջախի առկայության դեպքում:
- Na/K-ական պոմպի α ենթամիավորի α_1 , α_2 և α_3 ենթատեսակների ուսումնասիրությունից պարզ դարձավ, որ պոմպի α_3 ենթատեսակի թերֆունկցիան այն առաջնային մեխանիզմն է, որը չգրգռվող հյուսվածքներում տանում է բջջի գերհիդրատացիայի և պրոլիֆերացիայի ոչ նորմալ ակտիվացման, որը և կհանգեցնի քաղցկեղի: Իսկ գրգռվող հյուսվածքներում Na/K-ական պոմպի α_3 ենթատեսակի թերֆունկցիան հանգեցնում է ապոպտոզի:

- Պարզվեց, որ ցիսպլատինի ազդեցությամբ տեղի է ունենում α ենթատեսակի ուաբայինի նկատմամբ խնամակցության մեծացում:
- Ցույց տրվեց, որ ցիսպլատինի համար որպես թիրախ ծառայում է պոմպից անկախ բջջի ծավալ կարգավորող մեխանիզմ, որը տանում է հիդրատացիայի գրգռվող հյուսվածքներում (մկաններ) և դեհիդրատացիայի չգրգռվող հյուսվածքներում (թոքի, լյարդի, փայծաղի, երիկամի պարենխիմներ, սարկոմա-180):
- Ապացուցվել է, որ 4Հց կամ 8Հց ԷՄԱ մշակում ստացած խմելու ջրերն ունեն հակաքաղցկեղային ազդեցություն: Սակայն, դրանց համատեղումը ցիսպլատինի կուրսի հետ քաղցկեղային հյուսվածքում ունի հաճախությունից կախված հակադարձ ազդեցություն, այն է՝ 4Հց մշակված ջրի կիրառման դեպքում դիտվում է հակաքաղցկեղային ազդեցության ուժեղացում, իսկ 8Հց-ի դեպքում՝ հակառակը, դիտվում է ցիսպլատինի ազդեցության թուլացում:

Աշխատանքի տեսական և կիրառական նշանակությունը:

- Աշխատանքում ստացված արդյունքներն ունեն տեսական նշանակություն, որովհետև ստացված տվյալները թույլ են տալիս բջջի հիդրատացիայի բարձրացումը դիտարկել որպես բջջի պաթոլոգիկ վիճակի ունիվերսալ ցուցանիշ, որը հիվանդությունների զարգացման, ծերացմանը նախորդող գործընթացների ուսումնասիրությունների համար նոր մոտեցումներ է առաջարկում:
- Ատենախոսական աշխատանքում ստացված արդյունքներն ունեն տեսական նշանակություն, որովհետև Na/K-ական պոմպի α ենթատեսակի ֆունկցիոնալ վիճակը կարելի է դիտարկել որպես քաղցկեղի զարգացման գործում կարևոր տարր, որն ախտորոշման ու բուժման նոր ուղիների բացահայտման հնարավորություն է տալիս:
- Ատենախոսական աշխատանքում ստացված արդյունքներն ունեն կիրառական նշանակություն, որովհետև պարզվել է, որ ցիսպլատինի համար, ի թիվս ներբջջային այլ տարրերի, թիրախ է հանդիսանում նաև Na/K-ական պոմպի α ենթատեսակը, որն այս դեղամիջոցի ազդեցության արդյունավետությունը բարձրացնելու նոր ասպարեզներ է բացում:
- 4Հց ԷՄԱ մշակված ջուրը մեծացնում է ցիսպլատինի հանդեպ բջջի զգայունությունը: Այն ունի կիրառական նշանակություն, քանի որ այն կարելի է կիրառել քիմիոթերապիային զուգընթաց՝ ի տարբերություն 8Հց մշակում անցած ջրի, որն էական բարերար ազդեցություն չունենալով՝ կլինիկայում կիրառական նշանակություն չունի:

Այս ուսումնասիրությունները հնարավորություն են տալիս մշակել նոր մեթոդներ հիվանդությունների կանխարգելման, վաղ ախտորոշման, կլինիկայում ցիսպլատինի արդյունավետությունը բարձրացնելու և զուգահեռաբար իջեցնելու դրա չափաբաժինը: Դա հնարավորություն կտա իջեցնել կամ խուսափել բուժման գործընթացում ի հայտ եկող կողմնակի երևույթները, բարձրացնել դեղամիջոցների, տվյալ պարագայում նաև ցիսպլատինի թիրախային ազդեցության արդյունավետությունը, ինչպես նաև բուժման

գործընթացի մեջ ներառել քաղցկեղի այնպիսի տեսակներ, որոնք ցիսպլատինի հանդեպ կայուն են:

Պաշտպանության առաջադրված հիմնադրույթները:

- Հյուսվածքի հիդրատացիան ծառայում է որպես օրգանիզմում առկա պաթոլոգիկ օջախի առկայության ախտորոշիչ չափանիշ:
- α_3 -ից կախյալ ներբջջային ազդանշանային համակարգը ղեկավարող բջջի հիդրատացիան կարևոր մեխանիզմ է: Այն գրգռվող ու չգրգռվող հյուսվածքներում ունի տարբեր բնույթ: Այս համակարգի թերֆունկցիան պատճառ է դառնում չգրգռվող հյուսվածքներում բջջի հիդրատացիայի բարձրացման և պրոլիֆերացիայի ոչ նորմալ ակտիվացման, որը և տանում է քաղցկեղի առաջացման:
- Ցիսպլատինը դեհիդրատացնում է սարկոմա-180-ը՝ ճնշելով վերջինիս ինտենսիվ զարգացումը: Այստեղ թիրախ է հանդիսանում Na/K-ական պոմպի α_3 ենթատեսակը, որի մոտ դիտվում է ուաբայինի հանդեպ խնամակցության աճ:
- Ուաբայինի հանդեպ Na/K-ական պոմպի α ենթամիավորի խնամակցության վրա ցիսպլատինի ներգործությունը կախված է նախնական հիդրատացիայի մակարդակից:
- Խմելու համար օգտագործվող 4Հց և 8Հց ԳՅՀ ԷՄԱ մշակված ջրերն ունեն հակաքաղցկեղային ներգործություն օրգանիզմի վրա՝ դեհիդրատացնում են սարկոմա-180 հյուսվածքը և մոդուլացնում են ուաբայինի նկատմամբ բջջաթաղանթի խնամակցությունը:
- 4Հց ԳՅՀ ԷՄԱ-ով մշակված խմելու ջուրը նպաստում է ցիսպլատինի հակաքաղցկեղային ազդեցության արդյունավետության բարձրացմանը:
- 8Հց ԳՅՀ ԷՄԱ-ով մշակված խմելու ջուրը ցիսպլատինի համադրությամբ չի նպաստում վերջինիս հակաքաղցկեղային ազդեցությանը:

Ատենախոսության փորձաքննությունը և հրապարակումները: Ատենախոսությունը փորձաքննության է ենթարկվել ՀՀ ԿԳՆ Բժշկական-սաբանական միջազգային հետրուհական ուսումնական կենտրոնի ընդլայնված նիստում: Ստացված արդյունքները ներկայացվել են հետևյալ գիտաժողովներում՝ 2nd International Biophysics Congress and Biotechnology at GAP & 21st National Biophysics Congress (Diyarbakir, Turkey, 2009); NCRI Cancer Conference (Liverpool, UK, 2010); The impact of EMF and infra-sound at higher background ionizing radiation (Tsakhkadzor, Armenia, 2011); 4th international conference on drug discovery & therapy (Dubai, UAE, 2012):

Հրատարակված աշխատանքները: Հետազոտության հիմնական արդյունքները արտացոլված են 6 գիտական հրատարակություններում, որոնցից 3 հոդված:

Աշխատանքի կառուցվածքը և ծավալը: Ատենախոսական աշխատանքը կազմված է ներածությունից, գրական ակնարկից, փորձարարական մասից, ստացված արդյունքներից և դրանց քննարկումից, ամփոփումից, եզրակացություններից, օգտագործված գրականության ցանկից, որի մեջ ներառված են 166 անուն հղումներ:

Աշխատանքում ներկայացված են 19 նկար, 13 աղյուսակ: Այն շարադրված է 108 մեքենագրական էջում:

ՆՅՈՒԹԵՐ ԵՎ ՄԵԹՈԴՆԵՐ

Նյութեր: Որպես ֆիզիոլոգիական լուծույթ (ՖԼ) կիրառվել է Թիրոդեի լուծույթը հետևյալ բաղադրությամբ՝ 137 NaCl; 5.4 KCl; 1.8 CaCl₂; 1.05 MgCl₂; 5 C₆H₁₂O₆; 11.9 NaHCO₃, 0.42 NaH₂PO₄ (մՄ) և միջավայրի ջրածնային ցուցիչը բերվել է pH=7.4-ի:

Թաղանթի վրա պոմպի ակտիվ միավորների քանակը որոշելու համար կիրառվել է ռադիոակտիվ [³H]-ուրաբին (PerkinElmer, Boston, MA, USA), որն ունեցել է 12 Ci/մՄ սպեցիֆիկ ակտիվություն:

Իզոտոպային չափումների ընթացքում կիրառվել է սցինցիլացիոն խառնուրդ (Բրայի սցինցիլացիոն լուծույթ)՝ 1 լիտրի համար հաշվարկված հետևյալ բաղադրությամբ. 4գ PPO (2,5-դիֆենիլօքսազոլ, Yick-Vik chemicals & pharmaceuticals, Չինաստան), 0,2գ POPOP (1,4-բիս[-2-(5-ֆենիլօքսազոլիլ)]-բենզեն, Yick-Vik chemicals & pharmaceuticals, Չինաստան), 60գ նավթալին (Химмед, ՌԴ), 200մլ 98% էթանոլ՝ ավելացվելով մոտ 800մլ 98% (2,5-դիֆենիլօքսազոլ, Yick-Vik chemicals & pharmaceuticals, Չինաստան) 1.4-դիօքսան՝ լուծույթի ծավալը հասցնելով 1L-ի :

Կենդանիներ: Փորձերի ընթացքում կիրառվել են ոչ ազգակցական խաչասերումներով բազմացված 18-20գ քաշով ալբինոս արու մկներ: Կենդանիները ձեռք են բերվել Բժշկականսարանական միջազգային հետբուհական ուսումնական կենտրոնի կենդանանցից (Երևան, ՀՀ): Կենդանիների հետ իրականացվող բոլոր գործողությունները կատարվել են «Կենդանիների հանդեպ էթիկայի ուղեցույց»-ի կանոններին համապատասխան:

Սարկոմա-180-ի ներպատվաստումը: Իրականացվող փորձերի համար սարկոմա-180 կրող մկներ ունենալու համար կիրառվել է համապատասխան հյուսվածքի հոմոգենատը: Վերջինս ստացվել է սարկոմա-180-ով տառապող մկից: Անջատված հյուսվածքից հեռացվում են կողմնակի մնացորդները՝ մեռուկացված հատվածներ, արյան մակարդուկներ, շճաթաղանթ և այլն: Հոմոգենատը ներպատվաստվում է առողջ մկան առջևի թաթի տակ՝ հաշվի առնելով այնտեղ առկա ավշային հանգույցների խտությունը, որը նպաստավոր պայմաններ է ստեղծում ներմուծված հյուսվածքի զարգացման համար:

Փորձերի ընթացքը: Փորձնական մկները բաժանվել են խմբերի, յուրաքանչյուրում 10-ական մուկ, որոնք տեղավորվել են առանձին վանդակներում: Մշտապես ապահովվել է օդի 25-27°C ջերմաստիճան:

Որպես խմելու ջուր մկները ստացել են մաքուր, գործարանային շշալցված ջուր, իսկ մկների այն մասը, որոնք նախատեսված են եղել ԳՑՀ ԷՄԱ-ով (4Հգ և 8Հգ) մշակված ջրի ազդեցությունն ուսումնասիրելու համար, խմելու համար ստացել են համապատասխան ձևով մշակված ջուր: Փորձերի մյուս փուլերում կենդանիների համապատասխան խմբերը ներորոպայնային սրսկվել են ուսումնասիրվող նյութ (ցիսպլատին (Cisplatin Ebeve (Ավստրիա) (0.002մգ/գ, որը համապատասխանում է 0.1մգ/մլ կոնցենտրացիային,

0.5մլ/20գ կենդանուն): Մշակումներն իրականացվել են 5 օր շարունակ: Քաղցկեղով հիվանդ կենդանիների հետ աշխատելու դեպքում նշված գործողությունները սկսվել են պատվաստումից 48 ժամ անց:

Հյուսվածքի պատրաստում: Վերջին սրսկումից կամ ԳՑՀ ԷՄԱ-ով մշակումից 24 ժամ հետո կենդանիները գլխատվել են, ապա անջատվել են հյուսվածքները: Կենդանիների վախով և ցավով պայմանավորված ստրեսից և դրա հետևանքով արդյունքների աղճատված պատկեր ստանալուց խուսափելու նպատակով մկներն անշարժացվել են և դրանց գլուխները 3-4 վայրկյանով իջեցվել հեղուկ ազոտի մեջ: Այս գործողությամբ սառեցվում է կենդանու գլուխը, և մուկն արագ մահանում է, իսկ հյուսվածքներում ֆիզիոլոգիական կողմնակի երևույթներ չեն դիտվում: Մկան մոտ սոմատիկ ռեֆլեքսների լրիվ անհետանալուց հետո վերցվել են հյուսվածքների նմուշները:

Հիդրատացիայի որոշում: Հյուսվածքի հիդրատացիան որոշելու համար հյուսվածքի նմուշները նախ կշռվել են, ապա չորացվել թերմոստատում՝ 24 ժամվա ընթացքում, 105°C պայմաններում, որից հետո կշռվել են ևս մեկ անգամ: Հյուսվածքի հիդրատացիան որոշվել է «թաց» և «չոր» զանգվածների հարաբերակցությամբ՝ արտահայտված չոր զանգվածում ջրի պարունակությամբ (գ/գ):

$$H = \frac{A - B}{B}$$

Որտեղ. H – հյուսվածքի հիդրատացիա

A – հյուսվածքի նմուշի զանգվածը չորացումից առաջ («թաց զանգված»)

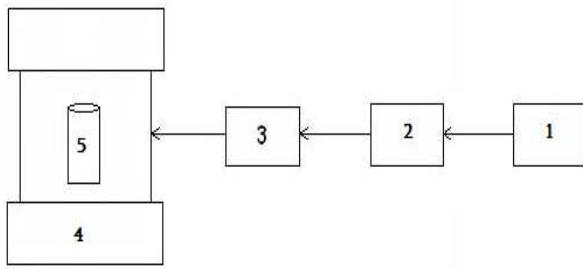
B – հյուսվածքի նմուշի զանգվածը չորացումից հետո («չոր զանգված»):

Իզոտոպային չափումներ: Ուաբայինի ³H-ռեցեպտորների քանակը գնահատելու համար փորձարարական կենդանիները ներարկվել են ³H-ուաբային պարունակող ՖԼ-ով: Ուաբայինի կոնցենտրացիան եղել է 10⁻¹¹Մ-ից 10⁻⁶Մ: Ներարկումից 30ր անց սկսվել են հյուսվածքներն անջատելու պրոցեդուրաները: Հյուսվածքների անջատված նմուշները լվացվել են եռակի անգամ՝ 10, 5 և 5 րոպե համապատասխանաբար: Դա արվում է միջբջջային տարածությունում աղստրբված և ռեցեպտորի հետ չմիացած ռեդիոակտիվ ուաբայինի հեռացման համար: Ապա հյուսվածքի յուրաքանչյուր նմուշը առանձին անոթների մեջ հոմոգենիզացվել է 50մկլ 68% HNO₃-ով: Ապա ավելացվել է Բրայի սցինցիլացիոն լուծույթ (2մլ): Ռադիոակտիվությունը որոշվել է «Wallac 1450» հեղուկ սցինցիլացիոն և լյումինեսցենտ» հաշվիչով (Ֆինլանդիա): Արդյունքները հաշվարկվել են յուրաքանչյուր նմուշի չոր զանգվածի հիման վրա:

ԳՑՀ ԷՄԱ մշակման համար նախատեսված սարքավորում: Նկար 1-ում պատկերված է սարք, որով իրականացվել է ջրի մշակումը:

Գերցածր հաճախության ԷՄԱ-ի աղբյուրը, որի միջոցով իրականացվել է ջրի մշակումը, պատրաստվել է ԳԱԱ ռադիոֆիզիկայի և Էլեկտրոնիկայի ինստիտուտի մասնագետների կողմից: 10 սմ տրամագծով և 100 մլ ծավալով ապակե տարան (5) դրվել է Հելմհոլցի 2 օղակների մեջ՝ որպես ԳՑՀ ԷՄԱ-ի աղբյուր (4): Կոճը միացված է գեներատորին (1) (ԴՅ-118, արտադրված ՌԴ), որը կարգավորում է իր աշխատանքը: Ազդակը գնում է դեպի միացնող և անջատող սարք (3): Գեներատորը առաջացնում է հարմոնիկ ազդանշան, աղմկամեղմիչ ուժեղարարը (2) (Biophys PA, արտադրված՝ ՀՀ

ԳԱԱ ռադիոֆիզիկայի և էլեկտրոնիկայի ինստիտուտ) ուժեղացնում է այն և ուղարկում Հելմհոլցի օղակներին (4):



1. Հաճախականային գեներատոր ГЗ-118
2. Աղմկամեղմիչ ուժեղարար *biophys PA*
3. Անջատիչ
4. Հելմհոլցի օղակներ
5. Ջրի համար նախատեսված տարա, որն ունի 10սմ տրամագիծ և 100մլ ծավալ

Նկար 1: ԳՅՀ ԷՄԱ-ով ջրի մշակման համար նախատեսված սարքավորման սխեմատիկ նկարագրությունը:

Կոճում առաջանում է էլեկտրամագնիսական դաշտ, որը կարգավորվում է գեներատորով և ցածր-ձայնային ուժեղացուցիչով: Հելմհոլցի օղակներում առաջանում է համասեռ (տարածական իմաստով) փոփոխական (ըստ ժամանակի) էլեկտրամագնիսական դաշտ: Գեներատորը կարգավորում է դաշտի հաճախությունը և ինտենսիվությունը (կատարված փորձերում ԷՄԱ-ի ինտենսիվությունը միշտ եղել է 2.5մՏ): Հելմհոլցի օղակները կազմված են երկու հավասար օղակային կոճերից, որոնք դասավորված են համակենտրոն և գուգահեռ:

Արդյունքների վերարտադրություն: Փորձերի ընթացքում ստուգիչ և փորձնական խմբերում ներառվել են 10-ական մկներ: Յուրաքանչյուր մկան տվյալ հյուսվածքից (սրտամկան, կմախքային մկան, ինչպես նաև թոքի, լյարդի, փայծաղի, երիկամի պարենխիմ, սարկոմա-180) անջատվել է 10-ական նմուշ: Բոլոր փորձերը կրկնվել են 3 անգամ: Գրաֆիկները և աղյուսակները կառուցվել են օգտագործելով 3 անկախ փորձերի միջին արժեքները՝ իրենց ստանդարտ շեղումներով:

Վիճակագրական վերլուծություն: Վիճակագրական վերլուծությունը կատարվել է SPSS 17.0 ծրագրով: Միջինների միջև տարբերությունը գնահատվել է կիրառելով նմուշների համեմատման *T-թեստը*: Իսկ տվյալների հավաստիությունը գրաֆիկներում արտահայտվել է աստղիկների (*) օգնությամբ (* P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001):

ԱՐԴՅՈՒՆՔՆԵՐ ԵՎ ՔՆՆԱՐԿՈՒՄ

Առողջ և սարկոմա-180 կրող մկների տարբեր հյուսվածքների հիդրատացիան և չափաքանակից կախված ³H-ուրաբայինի կապվածությունը բջջաթաղանթի հետ: Առողջ և պաթոլոգիկ օջախ կրող օրգանիզմում Na/K-ական պոմպի և իր բաղադրամասերի ֆունկցիոնալ ակտիվության մասին խոսելիս նախ որոշվեց պարզել Ա և ՄԿ մկների տարբեր հյուսվածքների հիդրատացիոն վիճակը: Հաստատված է, որ հիդրատացիան հիմնավոր ցուցանիշ է բջջի ֆունկցիոնալ վիճակը գնահատելու համար: Հիդրատացիան

կարող է փոփոխել բջջային գործընթացների բնույթը՝ առաջացնելով բջջի ծավալի մեծացում կամ փոքրացում: Հայտնի է, թե որքան բջջի հիդրատացիան բարձր է, այնքան այն ուռչեցված վիճակում է, իսկ հիդրատացիայի իջնելու՝ դեհիդրատացիայի, հետևանքով բջիջը սմբում է:

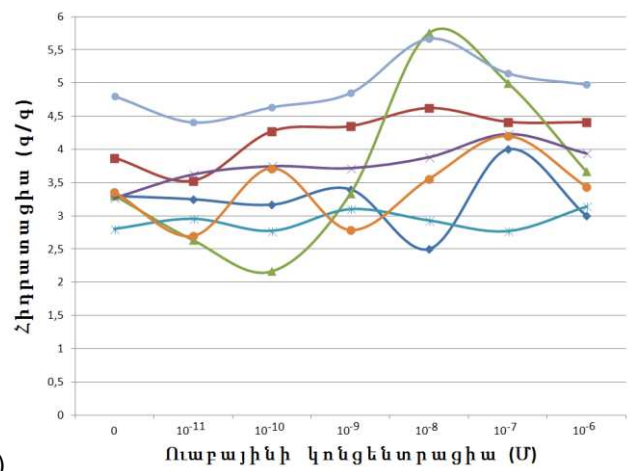
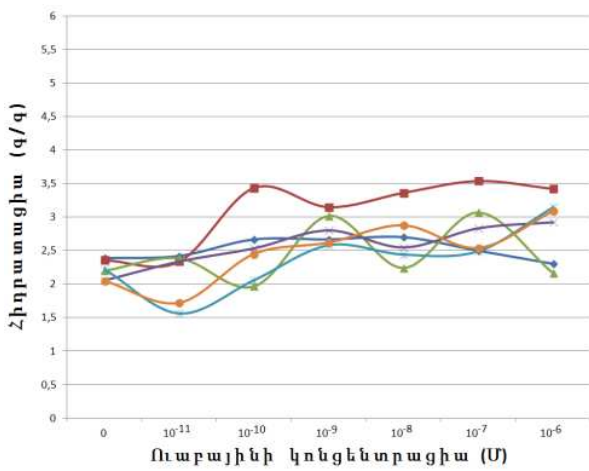
Բջջի ուռչելը խթանում է պրոլիֆերացիան, իսկ սմբումը հանգեցնում է դրա հակադարձ վիճակին, որի արդյունքում դիտվում է ապոպտոզ: Հաստատված է, որ քաղցկեղային հյուսվածքը գերհիդրատացված է և կարող է բաղկացած լինել մինչև 90% ջրից: Այստեղ հարց է առաջանում, թե հիդրատացիայի տեսանկյունից ի՞նչ վիճակում են հայտնվում քաղցկեղ կրող օրգանիզմի մյուս, առողջ համարվող օրգան համակարգերի հյուսվածքները, դրանց բաղկացուցիչ մաս կազմող բջիջները: Այդ նպատակով փորձերի առաջին փուլում որոշվեցին և համեմատվեցին Ա և ՄԿ մկների որոշ հյուսվածքների հիդրատացիայի ցուցանիշները: Ա և ՄԿ մկների տարբեր հյուսվածքների հիդրատացիայի տվյալները բերված են աղյուսակ 1-ում:

Աղյուսակ 1. Առողջ և սարկոմա-180 կրող մկների տարբեր հյուսվածքների հիդրատացիան:

Հյուսվածք	Առողջ	Սարկոմա-180 կրող	Δ%
Սրտամկան	2.39±0.1	3.3±0.1	↑38.14
Կմախքային մկան	2.36±0.23	3.87±0.21	↑64,23
Թոքի պարենխիմ	2.2±0.15	3.31±0.03	↑50.47
Լյարդի պարենխիմ	2.05±0.12	3.27±0.15	↑58,93
Փայծաղի պարենխիմ	2.23±0.13	2.8±0.14	↑25.84
Երիկամի պարենխիմ	2.05±0.13	3.36±0.19	↑63,76

Ինչպես երևում է, բոլոր ուսումնասիրված հյուսվածքների հիդրատացիան ՄԿ կենդանիների մոտ ավելի բարձր է, քան Ա-ի մոտ: Դա ցույց է տալիս, որ օրգանիզմում քաղցկեղի առկայության պարագայում ոչ միայն գերհիդրատացված վիճակում հայտնվում է հենց քաղցկեղային հյուսվածքը, այլ ընդհանրապես, օրգանիզմի ընդհանուր հիդրատացիոն ֆոնը բարձրանում է: Այսպիսով, հիդրատացիայի աճը օրգանիզմում առկա պաթոլոգիայի ցուցանիշ է:

Բջջի ուռչելը տանում է բջջաթաղանթում ֆունկցիոնալ ակտիվ Na/K-ական պոմպի և այլ սպիտակուցային մոլեկուլների թվաքանակի աճի, մինչդեռ սմբումը՝ նվազման: Պոմպի α ենթամիավորի α_1 ենթատեսակը ցուցաբերում է ցածր խնամակցություն ուաբայինի նկատմամբ, α_2 -ը՝ միջին, իսկ α_3 և α_4 ենթատեսակները բավականին զգայուն են: Ուսումնասիրվել են Ա և ՄԿ օրգանիզմներում հիդրատացիայի արձագանքը ուաբայինի տարբեր չափաքանակների ազդեցությանը:



ա)

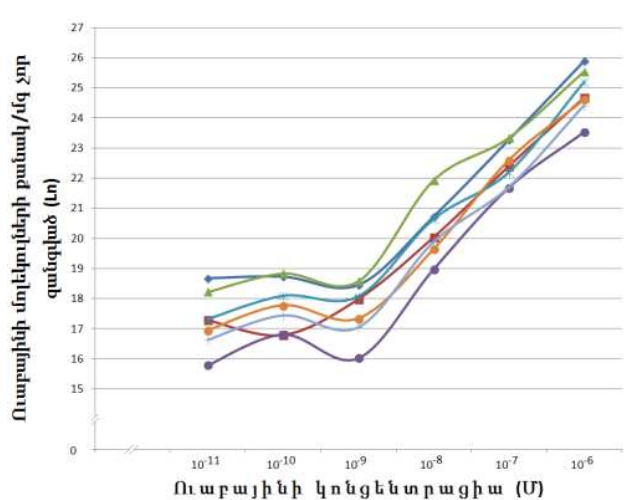
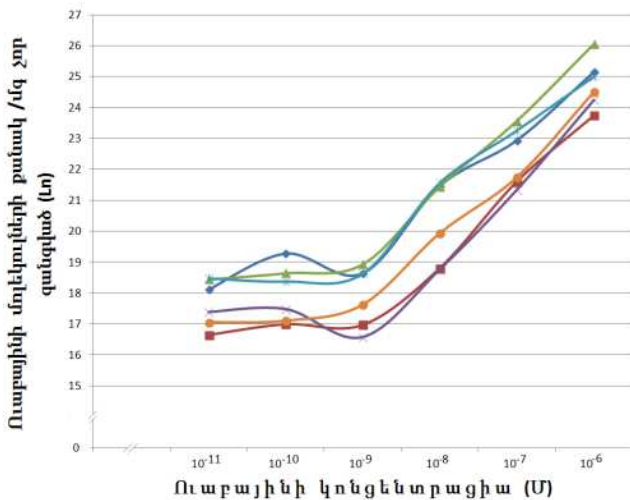
բ)

Նկար 2. Առողջ (ա) և սարկոմա-180 կրող (բ) մկների տարբեր հյուսվածքների (—◆— - սրտամկան, —■— - կմախքային մկան, —▲— - թոքի պարենքիմ, —×— - լյարդի պարենքիմ, —*— - փայծաղի պարենքիմ, —●— - երիկամի պարենքիմ, —+— -սարկոմա-180) հիդրատացիայի վրա չափաքանակից կախված ուաբայինի ազդեցությունը:

Ստացված արդյունքները ցույց են տալիս, որ ուսումնասիրված հյուսվածքները գերհիդրատացված են նաև ուաբայինի ազդեցության պայմաններում (նկար 2):

ա)

բ)



Նկար 3. Առողջ (ա) և սարկոմա-180 կրող (բ) մկների տարբեր հյուսվածքներում (—◆— - սրտամկան, —■— - կմախքային մկան, —▲— - թոքի պարենքիմ, —×— - լյարդի պարենքիմ, —*— - փայծաղի պարենքիմ, —●— - երիկամի պարենքիմ, —+— -սարկոմա-180) ³H-ուաբայինի կապվածությունը: Քանի որ վերցվել են ³H-ուաբայինի կոնցենտրացիաներ, որոնք միմյանցից տարբերվում են տասնապատիկ անգամներով, ստացված թվերը բերվել են բնական հիմքով լոգարիթմի՝ տվյալները համեմատելի դարձնելու համար:

Արդյունքում՝ հիդրատացիան ոչ միշտ է ուղեկցվում ուաբայինի կապվածության ավելացմամբ: Սա պայմանավորված է ուաբայինի նկատմամբ Na/K-ական պոմպի խնամակցության, նաև ներբջջային Ca²⁺-ի պարունակության փոփոխություններով:

Նորմայում և պաթոլոգիայում բջջի հիդրատացիայի վրա Na/K-ական պոմպի α ենթամիավորի անհատական դերը պարզելու նպատակով ուսումնասիրվել է ուաբայինի $10^{-6}U$ (α_1), $10^{-8}U$ (α_2) և $10^{-11}U$ (α_3) կոնցենտրացիաների ազդեցությունը Ա և ՄԿ կենդանիների տարբեր հյուսվածքների հիդրատացիաների վրա (համապատասխանաբար աղյուսակ 2 և 3): Ուաբայինի այս կոնցենտրացիաներն ընտրվել են Na/K-ական պոմպի ուաբայինի նկատմամբ ցածր (α_1), միջին (α_2) և գերզգայունություն (α_3) ցուցաբերող ենթատեսակների ուսումնասիրման համար:

Աղյուսակ 2: Առողջ մկների տարբեր հյուսվածքների հիդրատացիայի վրա ուաբայինի ազդեցությունը $10^{-11}U$, $10^{-8}U$, $10^{-6}U$ կոնցենտրացիաներում:

Հյուսվածք	Հյուսվածքի հիդրատացիան (ջրի պարունակությունը գ/գ չոր քաշ)						
	Ուաբայինի կոնցենտրացիան (U)		Δ%	Ուաբայինի կոնցենտրացիան ($10^{-8}U$)	Δ%	Ուաբայինի կոնցենտրացիան ($10^{-6}U$)	Δ%
	0	10^{-11}					
Սրտամկան	2.39±0.1	2.42±0.02	↑1.38	2.7±0.26	↑13.02	2.31±0.05	↓3.47
Կմախքային մկան	2.36±0.23	2.34±0.12	↓0.8	3.36±0.25	↑42.6	3.42±0.3	↑45.14
Թոքի պարենխիմ	2.2±0.15	2.39±0.15	↑8.4	2.24±0.06	↑2.01	2.17±0.3	↓1.46
Լյարդի պարենխիմ	2.05±0.12	2.34±0.22	↑13.78	2.55±0.18	↑24.01	2.92±0.17	↑42.16
Փայծաղի պարենխիմ	2.23±0.13	1.57±0.08	↓29.57	2.44±0.25	↑9.84	3.15±0.3	↑41.44
Երիկամի պարենխիմ	2.05±0.13	1.72±0.08	↓16.04	2.88±0.19	↑40.32	3.09±0.15	↑50.66

Աղյուսակ 2-ում ներկայացված տվյալները ցույց են տալիս, որ Ա մկների մոտ $10^{-11}U$ ուաբայինի ներմուծումն էական ազդեցություն թողել է փայծաղի պարենխիմային հյուսվածքում (29.57% դեհիդրատացիա), իսկ կմախքային մկանների հիդրատացիան առանձնապես չի փոփոխվել՝ դիտվել է 0.8% դեհիդրատացիա, որը վիճակագրորեն հավաստի չէ ($p>0,05$): Այս տվյալներից ելնելով պարզ է դառնում, որ 10^{-8} և $10^{-6}U$ կոնցենտրացիաներում դիտարկված հիդրատացնող էֆեկտն առկա է պոմպի պասիվացման /ինակտիվացիայի/ հետևանքով:

ՄԿ մկների մոտ հյուսվածքները, ունենալով առողջների համեմատ ավելի բարձր նախնական հիդրատացիա, $10^{-11}U$ ուաբայինի ազդեցությամբ դեհիդրատացվել են (բացառությամբ թոքի և երիկամի պարենխիմների): Մինչդեռ $10^{-8}U$ և $10^{-6}U$ կոնցենտրացիաներում բոլոր հյուսվածքներում դիտվում է հիդրատացիայի բարձրացում: Այստեղ բացառություն է կազմում սրտամկանը, որտեղ ուաբայինի բոլոր կոնցենտրացիաներում դիտվում է դեհիդրատացիա:

Աղյուսակ 3-ում ներկայացված տվյալներից երևում է, որ սարկոմայի հյուսվածքի հիդրատացիան պակաս զգայուն է $10^{-6}U$ կոնցենտրացիայով ուաբայինի նկատմամբ, քան $10^{-11}U$ և $10^{-8}U$ կոնցենտրացիաներում: ՄԿ մկների մոտ $10^{-11}U$ ուաբայինի արտահայտված դեհիդրատացնող ազդեցությունը, ինչպես նաև ուաբայինի $10^{-8}U$ և $10^{-6}U$ կոնցենտրացիաներում Ա և ՄԿ կենդանիների հյուսվածքներում հիդրատացիան, ցույց է

տալիս, որ գոյություն ունի պաթոլոգիայի հանդեպ զգայուն α -ենթամիավորից կախյալ բջջի հիդրատացիան ղեկավարող մեխանիզմ:

Աղյուսակ 3: Սարկոմա-180 կրող մկների տարբեր հյուսվածքների հիդրատացիայի վրա ուաբայինի ազդեցությունը՝ $10^{-11}U$, $10^{-8}U$, $10^{-6}U$ կոնցենտրացիաներում:

Հյուսվածք	Հյուսվածքի հիդրատացիան (ջրի պարունակությունը գ/գ չոր քաշ)						
	Ուաբայինի կոնցենտրացիան (U)		Δ%	Ուաբայինի կոնցենտրացիան ($10^{-8}U$)		Δ%	
	0	10^{-11}		$10^{-6}U$			
Սրտամկան	3.3±0.1	3.25±0.01	↓1.5	2.5±0.01	↓24.24	3±0.01	↓9.09
Կմախքային մկան	3.87±0.21	2.64±0.14	↓31.78	4.63±0.33	↑19.64	4.41±0.23	↑13.95
Թոքի պարենքիմ	3.31±0.03	3.62±0.21	↑9.37	5.75±0.18	↑73.72	3.67±0.23	↑10.88
Լյարդի պարենքիմ	3.26±0.15	2.95±2.27	↓9.64	3.88±0.35	↑18.84	3.94±0.22	↑20.67
Փայծաղի պարենքիմ	2.8±0.14	2.7±0.14	↓3.57	2.93±0.33	↑4.64	3.14±0.23	↑12.14
Երիկամի պարենքիմ	3.36±0.19	3.52±0.16	↑4.86	3.56±0.16	↑6.05	3.44±0.16	↑20.47
Սարկոմա-180	4.8±0.33	4.4±0.4	↓8.33	5.66±0.28	↑17.92	4.97±0.32	↑3.54

Անհրաժեշտություն է ծագում ավելի մանրամասնորեն ուսումնասիրել Na/K-ական պոմպի α ենթամիավորի արձագանքը օրգանիզմում պաթոլոգիայի օջախի առկայությանը և ուաբայինի ազդեցությանը, որի նպատակով իրականացվեց փորձերի հաջորդ խումբը: Ուսումնասիրվեց Ա և ՄԿ մկների մոտ տարբեր հյուսվածքներում ուաբայինի տարբեր կոնցենտրացիաների ($10^{-11}U$, $10^{-8}U$, $10^{-6}U$) կապվածությունը Na/K-ական պոմպի α ենթամիավորի (α_1 , α_2 , α_3) հետ:

Ա և ՄԿ մկների տարբեր հյուսվածքների ռեցեպտորների հետ 3H -ուաբայինի կապվածության ուսումնասիրությունը ցույց տվեց, որ չնայած ՄԿ մկների բոլոր հյուսվածքները հիդրատացված են Ա-երի հետ համեմատ (աղյուսակ 1), 3H -ուաբայինի կապվածությունը մկանային բնույթի հյուսվածքների α_3 ենթատեսակի հետ բարձրացել էր, մինչդեռ չգրգռվող հյուսվածքներում՝ իջել (աղյուսակ 4): Սա շատ հետաքրքրական փաստ է, քանի որ հիդրատացիայի բարձրացման հետ կանխատեսվում էր Na/K-ական պոմպի ակտիվ մոլեկուլների թվաքանակի ավելացում, և հետևաբար նաև ուաբայինի ռեցեպտորների (α ենթամիավորի) քանակական ավելացում, որի արդյունքում 3H -ուաբայինի կապվածությունը կավելանար բոլոր ուսումնասիրվող հյուսվածքներում:

Աղյուսակ 4: Առողջ և սարկոմա-180 կրող մկների տարբեր հյուսվածքների բջջաթաղանթներում $10^{-11}U$ ուաբայինի կապվածությունը α_3 ենթատեսակի հետ:

Հյուսվածք	Առողջ	Սարկոմա-180 կրող	Δ%
Սրտամկան	18.11 ±0.4	18.67 ±0.1	↑3.09
Կմախքային մկան	16.65 ±0.38	17.28 ±0.39	↑3.79
Թոքի պարենքիմ	18.45 ±0.75	18.23 ±0.59	↓1.21
Լյարդի պարենքիմ	17.39 ±0.38	15.79 ±0.48	↓9.16
Փայծաղի պարենքիմ	18.49 ±0.63	17.32 ±1.14	↓6.31
Երիկամի պարենքիմ	17.06 ±0.61	16.95 ±0.43	↓0.66
Սարկոմա-180	-	16.64 ±0.68	-

Աղյուսակ 5: Առողջ և սարկոմա-180 կրող մկների տարբեր հյուսվածքների բջջաթաղանթներում 10^8U ուաբայինի կապվածությունը α_2 ենթատեսակի հետ:

Հյուսվածք	Առողջ	Սարկոմա-180 կրող	$\Delta\%$
Սրտամկան	21.46 \pm 0.64	20.72 \pm 0.1	↓3.46
Կմախքային մկան	18.81 \pm 0.5	20.03 \pm 0.87	↑6.52
Թոքի պրենքիմ	21.44 \pm 1.06	21.92 \pm 0.29	↑2.24
Լյարդի պարենքիմ	18.77 \pm 0.55	18.97 \pm 0.35	↑1.08
Փայծաղի պարենքիմ	21.56 \pm 0.46	20.64 \pm 1.22	↓4.3
Երիկամի պարենքիմ	19.94 \pm 0.6	19.64 \pm 0.09	↓1.5
Սարկոմա-180	-	19.88 \pm 0.75	-

Աղյուսակ 6: Առողջ և սարկոմա-180 կրող մկների տարբեր հյուսվածքների բջջաթաղանթներում 10^6U ուաբայինի կապվածությունը α_1 ենթատեսակի հետ:

Հյուսվածք	Առողջ	Սարկոմա-180 կրող	$\Delta\%$
Սրտամկան	25.14 \pm 0.49	25.87 \pm 0.1	↑2.9
Կմախքային մկան	23.75 \pm 0.5	24.67 \pm 0.26	↑3.87
Թոքի պրենքիմ	26.04 \pm 0.77	25.53 \pm 0.29	↓1.99
Լյարդի պարենքիմ	24.25 \pm 0.45	23.52 \pm 0.08	↓3.02
Փայծաղի պարենքիմ	24.99 \pm 0.48	25.19 \pm 1.81	↑0.77
Երիկամի պարենքիմ	24.51 \pm 0.52	24.61 \pm 0.66	↑0.42
Սարկոմա-180	-	24.4 \pm 0.22	-

Այս տվյալների վերլուծությունը ցույց է տալիս, որ հիդրատացիայի պայմաններում Na/K-ական պոմպի α ենթամիավորի ենթատեսակները (α_1 , α_2 , α_3) տարբեր կերպ են արձագանքում ուաբայինի առկայությանը, և հաճախ ուաբայինի կապվածության սպասելի բարձրացման փոխարեն տեսնում ենք այդ թվի նվազում: Բջջի պաթոլոգիկ վիճակով պայմանավորված դիտված հակադարձ էֆեկտները գրգռվող և չգրգռվող հյուսվածքներում ուաբայինի կապվածությունը α_3 ենթատեսակի հետ նորություն են և բավականին հետաքրքիր պոմպի թերֆունկցիայով պայմանավորված պրոլիֆերացիայի ակտիվացումը չգրգռվող հյուսվածքներում և գրգռվող հյուսվածքներում ապոպտոզի զարգացումը հասկանալու տեսանկյունից: Ներկայացված տվյալները ցույց են տալիս, որ α_3 ենթատեսակի ուաբայինի նկատմամբ խնամակցությունը, ինչպես նաև այս ենթատեսակից կախված բջջի հիդրատացիան, պաթոլոգիայի հանդեպ առավել զգայուն են: Այստեղ հարց է առաջանում, արդյո՞ք Na/K-ական պոմպի α ենթամիավորը, հատկապես α_3 ենթատեսակը, զգայուն են պաթոլոգիկ օջախի վերացմանն ուղղված արտաքին գործոնների նկատմամբ, և եթե այո, ապա այստեղ արդյո՞ք դեր ունի հյուսվածքի գերհիդրատացված վիճակը:

Այդ նպատակով փորձերի հաջորդ փուլում ուսումնասիրվեց Ա և ՄԿ մկների տարբեր հյուսվածքների հիդրատացիայի և չափաքանակից կախված ուաբայինի կապվածության վրա հակաքաղցկեղային դեղամիջոց ցիսպլատինի ազդեցությունը:

Ցիսպլատինի ազդեցությունը բջջի հիդրատացիայի և ³H - ուաբայինի կապվածության վրա առողջ և սարկոմա-180 կրող մկների տարբեր հյուսվածքներում: Այս վերնագրում ներկայացված են Ա և ՄԿ մկների տարբեր հյուսվածքներում հիդրատացիայի և ուաբայինի նկատմամբ α ենթամիավորի խնամակցության վրա ցիսպլատինի ազդեցության ուսումնասիրության արդյունքները:

Աղյուսակ 7-ում ցույց է տրված Ա և ՄԿ մկների տարբեր հյուսվածքների հիդրատացիայի վրա ցիսպլատինի (0,002մգ/գ) ազդեցությունը: Պարզվում է, որ ցիսպլատինն ունի դեհիդրատացնող կամ հիդրատացնող ազդեցություն՝ կախված հյուսվածքի տեսակից: Այստեղ գրգռվող և չգրգռվող հյուսվածքների վրա հստակ սահմանազատված ազդեցություն չի դիտվում:

Աղյուսակ 7. Ցիսպլատինի ազդեցությունը առողջ և սարկոմա-180 կրող մկների տարբեր հյուսվածքների հիդրատացիայի վրա:

Հյուսվածք	Առողջ			Սարկոմա-180 կրող		
	ստուգիչ	cisPt	Δ%	ստուգիչ	cisPt	Δ%
Սրտամկան	2.39±0.1	1.93±0.15	↓19.07	3.3±0.1	3.34±0.08	↑1.3
Կմախքային մկան	2.36±0.23	3.08±0.21	↑30.47	3.87±0.21	4.07±0.18	↓30.91
Թոքի պարենխիմ	2.2±0.15	1.21±0.11	↓45.06	3.31±0.03	2,83±0.13	↓14.39
Լյարդի պարենխիմ	2.05±0.12	2.27±0.12	↑10.24	3.27±0.15	2.4±0.17	↓26.43
Փայծաղի պարենխիմ	2.23±0.13	2.13±0.12	↓4.12	2.8±0.14	2.42±0.12	↓13.69
Երիկամի պարենխիմ	2.05±0.13	2.05±0.12	↓0.12	3.36±0.19	2.25±0.2	↓32.98
Սարկոմա-180	-	-	-	4.8±0.33	4.08±0.35	↓15.16

Ապա ուսումնասիրվեց ցիսպլատինի և 10^{-11} Մ, 10^{-8} Մ և 10^{-6} Մ ուաբայինի ազդեցությունը Ա և ՄԿ մկների հյուսվածքների հիդրատացիայի վրա:

Աղյուսակ 8. Ցիսպլատինի և 10^{-11} Մ ուաբայինի ազդեցությունը առողջ և սարկոմա-180 կրող մկների տարբեր հյուսվածքների հիդրատացիայի վրա:

Հյուսվածք	Առողջ			Սարկոմա-180 կրող		
	ստուգիչ	cisPt	Δ%	ստուգիչ	cisPt	Δ%
Սրտամկան	2.42±0.02	1.38±0.12	↓42.89	3.25±0.1	2.55±0.07	↓21.54
Կմախքային մկան	2.34±0.06	2.76±0.12	↑18.23	3.53±0.14	4.78±0.16	↑15.37
Թոքի պարենխիմ	2.39±0.15	0.88±0.11	↓63.17	2.64±0.21	3.1±0.14	↑17.54
Լյարդի պարենխիմ	2.34±0.22	2.32±0.19	↓0.74	3.62±0.27	2.98±0.1	↓17.58
Փայծաղի պարենխիմ	1.57±0.17	1.6±0.15	↑2.13	2.95±0.06	1.88±0.19	↓36.54
Երիկամի պարենխիմ	1.72±0.08	2.41±0.13	↑39.85	2.69±0.16	2.85±0.25	↑5.81
Սարկոմա-180	-	-	-	4.41±0.4	4.78±0.15	↓8.37

Աղյուսակ 9. Ցիսպլատինի և 10^8U ուաբայինի ազդեցությունը առողջ և սարկոմա-180 կրող մկների տարբեր հյուսվածքների հիդրատացիայի վրա:

Հյուսվածք	Առողջ			Սարկոմա-180 կրող		
	ստուգիչ	cisPt	Δ%	ստուգիչ	cisPt	Δ%
Սրտամկան	2.7±0.26	1.99±0.13	↓26.1	2.5±0.4	2.88±0.15	↑15
Կմախքային մկան	3.36±0.25	3.25±0.29	↓3.2	4.62±0.33	4.74±0.16	↓6.72
Թոքի պարենխիմ	2.24±0.06	1.11±0.12	↓50.5	5.75±0.18	3.25±0.15	↓43.48
Լյարդի պարենխիմ	2.55±0.18	2.98±0.2	↑17.2	3.88±0.35	3.58 ±0.2	↓7.76
Փայծաղի պարենխիմ	2.44±0.13	1.55±0.07	↓36.6	2.93±0.13	2.33±0.01	↓20.33
Երիկամի պարենխիմ	2.88±0.19	2.46±0.18	↓14.6	3.56±0.16	3.17±0.24	↓10.94
Սարկոմա-180	-	-	-	5.66±0.23	4.74±0.23	↓16.25

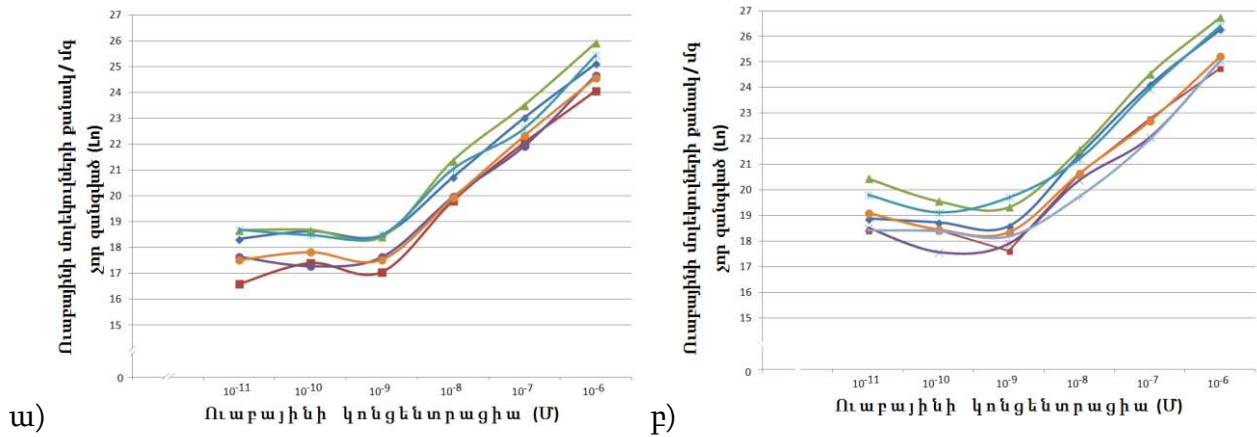
Աղյուսակ 10. Ցիսպլատինի և 10^6U ուաբայինի ազդեցությունը առողջ և սարկոմա-180 կրող մկների տարբեր հյուսվածքների հիդրատացիայի վրա:

Հյուսվածք	Առողջ			Սարկոմա-180 կրող		
	ստուգիչ	cisPt	Δ%	ստուգիչ	cisPt	Δ%
Սրտամկան	2.3±0.05	2.47±0.19	↑7.3	3±0.12	3.05±0.18	↑1.67
Կմախքային մկան	3.42±0.3	3.76±0.27	↑9.95	4.41±0.23	4.81±0.31	↑1.46
Թոքի պարենխիմ	2.17±0.17	1.69±0.16	↓22.15	3.67±0.15	2.5±0.19	↓31.81
Լյարդի պարենխիմ	2.92±0.17	2.43±0.17	↓16.94	3.94±0.15	3.92±0.12	↓0.55
Փայծաղի պարենխիմ	3.15±0.26	1.75±0.14	↓44.4	3.14±0.19	2.86±0.2	↓8.98
Երիկամի պարենխիմ	3.09±0.15	2.67±0.19	↓13.73	3.44±0.15	2.88±0.18	↓16.36
Սարկոմա-180	-	-	-	4.98±0.32	4.81±0.36	↓3.25

Ուաբայինի $10^{-11}U$ կոնցենտրացիայի նկատմամբ զգայունություն է ցուցաբերում Na/K-ական պոմպի α_3 ենթատեսակը: ՄԿ կենդանիների մոտ ցիսպլատինը և $10^{-11}U$ ուաբայինը պոմպի α_3 ենթատեսակի մակարդակում դեհիդրատացնում են բջիջը տարբեր ճանապարհներով: Սակայն, ուաբայինի $10^{-6}U$ կոնցենտրացիայի դեպքում (Na/K-ական պոմպի ընկճված վիճակի պարագայում) ցիսպլատինը գրգռվող հյուսվածքներում ունի հիդրատացնող, իսկ չգրգռվող հյուսվածքներում՝ դեհիդրատացնող ազդեցություն: Այս տվյալները ցույց են տալիս, որ ցիսպլատինը պոմպից անկախ գրգռվող հյուսվածքների վրա ունի հիդրատացնող, իսկ չգրգռվող հյուսվածքների վրա դեհիդրատացնող ազդեցություն: Դա կարող է նշանակել նաև, որ այս գործընթացում ներգրավված են բջիջ ծավալը կարգավորող տարբեր բնույթի մեխանիզմներ:

Պարզելու համար, թե Ա և ՄԿ կենդանիների տարբեր հյուսվածքներում ցիսպլատինով պայմանավորված հիդրատացիայի փոփոխման համար Na/K-ական պոմպի α ենթամիավորի որ ենթատեսակն է պատասխանատու, իրականացվել է Ա և ՄԿ կենդանիների տարբեր հյուսվածքների բջջաթաղանթների հետ չափաքանակից կախված

³H-ուաբայինի կապվածության վրա ցիսպլատինի ազդեցության համեմատական ուսումնասիրություն:



Նկար 4. *Ցիսպլատինի ազդեցությունը ³H-ուաբայինի կապվածության վրա առողջ (ա) և սարկոմա-180 կրող (բ) մկների տարբեր հյուսվածքներում (—◆— - սրտամկան, —■— - կմախքային մկան, —▲— - թոքի պարենխիմ, —✕— - լյարդի պարենխիմ, —*— - փայծաղի պարենխիմ, —●— - երիկամի պարենխիմ, —+— -սարկոմա-180): Ստացված թվերը բերվել են բնական հիմքով լոգարիթմի՝ տվյալները համեմատելի դարձնելու համար:*

Ստացված տվյալների ուսումնասիրությունից երևում է, որ ցիսպլատինի ներգործությունը չափաքանակից կախված ³H-ուաբայինի կապվածության վրա ՄԿ կենդանիների հյուսվածքներում ավելի ուժեղ է, քան Ա մկների մոտ: Այս զգայունության տարբերություններն ավելի ցայտուն են արտահայտված α3 ենթատեսակի հետ ուաբայինի կապվածությունը դիտարկելիս: Բոլոր ուսումնասիրված ՄԿ կենդանիների գրգռվող և չգրգռվող հյուսվածքներում, ներառյալ սարկոմա-180 հյուսվածքը, ցիսպլատինը բարձրացրել է բջջաթաղանթի հետ ուաբայինի կապվածությունը, որն ամենացայտուն ձևով դիտվում է α3 ենթատեսակի մոտ (բացառությամբ սրտամկանի, որտեղ նույն ցուցանիշն ավելի արտահայտված է α2 և α1 ենթատեսակի մոտ):

Աղյուսակ 11. *Ցիսպլատինի ազդեցությունն առողջ և սարկոմա-180 կրող մկների տարբեր հյուսվածքներում ³H-ուաբայինի (10⁻¹¹ Մ) կապվածության վրա:*

Հյուսվածք	Առողջ			Սարկոմա-180 կրող		
	ստուգիչ	cisPt	Δ%	ստուգիչ	cisPt	Δ%
Սրտամկան	18.11±0.41	18.33±0.55	↑1.2	18.67±0.11	18.88±0.76	↑1.1
Կմախքային մկան	16.65±0.38	16.58±0.83	↓0.4	17.28±0.39	18.41±0.74	↑6.49
Թոքի պարենխիմ	18.45±0.75	18.67±0.33	↑1.21	18.23±0.59	20.45±0.35	↑12.18
Լյարդի պարենխիմ	17.39±0.38	17.66±0.68	↑1.54	15.79±0.48	18.52±0.73	↑17.26
Փայծաղի պարենխիմ	18.49±0.63	18.69±0.67	↑1.15	17.32±1.14	19.81±0.46	↑14.4
Երիկամի պարենխիմ	17.06±0.61	17.52±0.18	↑2.69	16.95±0.43	19.09±0.81	↑12.67
Սարկոմա-180	-	-	-	16.64±0.68	18.43±0.54	↑10.76

Աղյուսակ 12. Ցիսպլատինի ազդեցությունն առողջ և սարկոմա-180 կրող մկների տարբեր հյուսվածքներում ³H-ուաբայինի (10⁸U) կապվածության վրա:

Հյուսվածք	Առողջ			Սարկոմա-180 կրող		
	ստուգիչ	cisPt	Δ%	ստուգիչ	cisPt	Δ%
Սրտամկան	21.46±0.64	20.72±0.52	↓3.45	20.72±0.11	21.37±0.81	↑3.17
Կմախքային մկան	18.8 ±0.51	19.8 ±0.28	↑5.3	20.03±0.87	20.62±0.25	↑2.9
Թոքի պարենքիմ	21.44±1.06	21.37±0.53	↓0.33	21.92±0.29	21.57±0.61	↓1.62
Լյարդի պարենքիմ	18.77±0.55	19.97±0.38	↑6.38	18.97±0.35	20.39±0.23	↑7.46
Փայծաղի պարենքիմ	21.56±0.46	21.04±0.55	↓2.43	20.64±1.22	21.22±0.37	↑2.84
Երիկամի պարենքիմ	19.94±0.61	19.92±0.15	↓0.1	19.64±0.09	20.62±0.32	↑5.08
Սարկոմա-180	-	-	-	19.88±0.75	19.75±0.34	↓0.66

Աղյուսակ 13. Ցիսպլատինի ազդեցությունն առողջ և սարկոմա-180 կրող մկների տարբեր հյուսվածքներում ³H-ուաբայինի (10⁶U) կապվածության վրա:

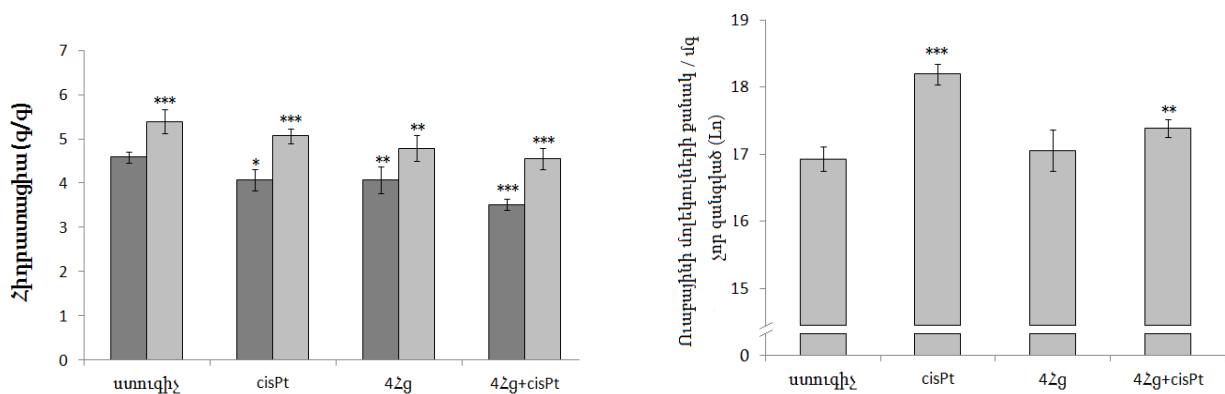
Հյուսվածք	Առողջ			Սարկոմա-180 կրող		
	ստուգիչ	cisPt	Δ%	ստուգիչ	cisPt	Δ%
Սրտամկան	25.14±0.49	25.11±0.28	↓0.13	25.87±0.11	26.27±0.65	↑1.56
Կմախքային մկան	23.75±0.51	24.05±0.68	↑1.25	24.67±0.26	24.75±0.42	↑0.33
Թոքի պարենքիմ	26.04±0.77	25.91±0.22	↓0.5	25.52±0.29	26.73±0.81	↑4.74
Լյարդի պարենքիմ	24.25±0.45	24.65±0.55	↑1.64	23.52±0.08	25.06±0.44	↑6.54
Փայծաղի պարենքիմ	24.99±0.48	25.43±0.29	↑1.75	25.19±1.81	26.41±0.41	↑4.87
Երիկամի պարենքիմ	23.75±0.52	24.55±0.42	↑0.26	24.61±0.66	25.21±0.69	↑2.45
Սարկոմա-180	-	-	-	24.41±0.33	25.04±0.26	↑2.63

Ստացված տվյալների ուսումնասիրությունից երևում է, որ ցիսպլատինի ներգործությունը չափաքանակից կախված ³H-ուաբայինի կապվածության վրա ՄԿ կենդանիների հյուսվածքներում ավելի ուժեղ է, քան Ա մկների մոտ: Այս զգայունության տարբերություններն ավելի ցայտուն են արտահայտված α3 ենթատեսակի հետ ուաբայինի կապվածությունը դիտարկելիս: Բոլոր ուսումնասիրված ՄԿ կենդանիների գրգռվող և չգրգռվող հյուսվածքներում, ներառյալ սարկոմայի հյուսվածքը, ցիսպլատինը բարձրացրել է բջջաթաղանթի հետ ուաբայինի կապվածությունը, որն ամենացայտուն ձևով արտահայտված է α3 ենթատեսակի պարագայում (բացառությամբ սրտամկանի հյուսվածքի, որտեղ ուաբայինի կապվածությունն ավելի արտահայտված է α2 և α1 ենթատեսակների հետ):

Գերցածր հաճախության էլեկտրամագնիսական ալիքները որպես սարկոմա-180 հյուսվածքի հիդրատացիայի և ուաբայինի կապվածության վրա ցիսպլատինի ազդեցության մոդուլատոր: Հաշվի առնելով, որ հիդրատացիան կարևոր օղակ է ներբջջային մակրոմոլեկուլների ֆունկցիոնալ ակտիվության հարցում, ինչպես նաև այն,

որ ջուրը շրջակա միջավայրի և կենսաբանական համակարգերի կարևոր բաղկացուցիչ մաս է, իսկ ջրի մոլեկուլյար դիսոցիացիան չափազանց զգայուն է շրջակա տարբեր գործոնների, մասնավորապես ԳՑՀ ԷՄԱ-ի նկատմամբ, առաջարկվեց վարկած, ըստ որի ԳՑՀ ԷՄԱ-ի միջոցով հնարավոր է ներգործել ցիսպլատինի էֆեկտիվության վրա: Քանի որ հենց 4Հg և 8Հg ԳՑՀ ԷՄԱ-ն ունեն արտահայտված ազդեցություն ջրի ֆիզիկոքիմիական հատկությունների վրա, հարց առաջացավ, թե այս երևույթն ինչպես կանդրադառնա սարկոմայի հյուսվածքի վրա:

Փորձերի հաջորդ փուլում ուսումնասիրվեց ցիսպլատինի և 4Հg (2,5մՏ) ԳՑՀ ԷՄԱ-ով մշակված խմելու ջրի, ինչպես նաև դրանց համակցման ազդեցությունը քաղցկեղային հյուսվածքի հիդրատացիայի և բջջաթաղանթի հետ ուաբայինի կապվածության վրա: Աշխատանքներում կիրառվել է ուաբայինի 10^{-9} Մ կոնցենտրացիան:

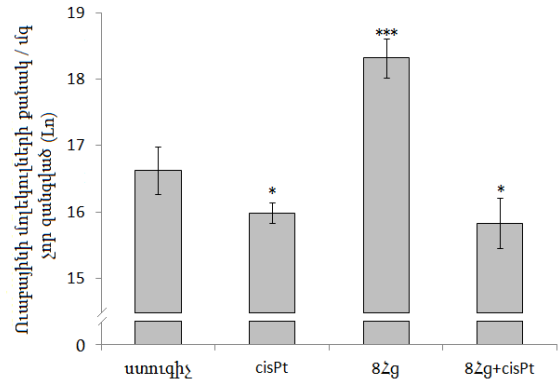
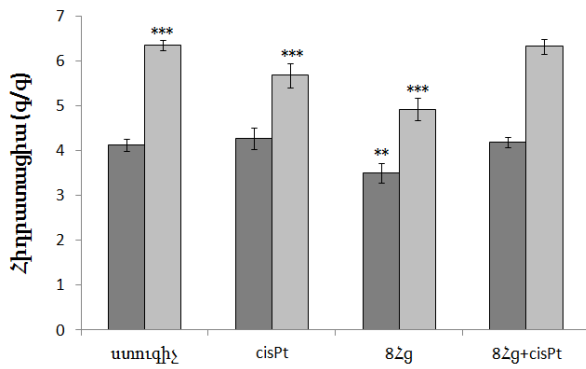


Նկար 5: Ծիսպլատինի, 4Հg ԳՑՀ ԷՄԱ մշակված խմելու ջրի ու դրանց համադրության ազդեցությունը սարկոմա-180 հյուսվածքի հիդրատացիայի վրա՝ ուաբայինի բացակայությամբ (■) և առկայությամբ (□):

Նկար 6: Ծիսպլատինի, 4Հg ԳՑՀ ԷՄԱ մշակված խմելու ջրի և դրանց համակցության ազդեցությունը սարկոմա-180 հյուսվածքում 3 H-ուաբայինի կապվածության վրա:

Նկար 5-ում և 6-ում արտահայտված տվյալները ցույց են տալիս, որ ցիսպլատինի ազդեցությամբ ի հայտ է եկել հակադարձ համեմատական կապ սարկոմա-180-ի հիդրատացիայի և բջջաթաղանթի հետ 3 H-ուաբայինի կապվածության միջև՝ դեհիդրատացիան ուղեկցվել է 3 H-ուաբայինի կապվածության աճով: 4Հg ԳՑՀ ԷՄԱ-ով մշակված խմելու ջուր ստացած կենդանիների մոտ սարկոմայի հյուսվածքի բջջաթաղանթների վրա 3 H-ուաբայինի կապվածության մակարդակն էականորեն չի փոխվել: 4Հg ԳՑՀ ԷՄԱ-ն ցիսպլատինի հետ բերել են 3 H-ուաբայինի կապվածության աճի, այն դեպքում որ դիտվել է դեհիդրատացիա:

Իրականացվեցին աշխատանքներ պարզելու համար, թե ինչ ազդեցություն կունենան ցիսպլատինը, 8Հg (2,5մՏ) ԳՑՀ ԷՄԱ-ով մշակված խմելու ջուրը և դրանց համակցությունը սարկոմա-180-ի հիդրատացիայի և ուաբայինի կապվածության վրա: Աշխատանքների ընթացքում կիրառված ուաբայինի կոնցենտրացիան եղել է 10^{-9} Մ, որի նկատմամբ խնամակցություն է ցուցաբերում Na/K-ական պոմպի հատկապես $\alpha 3$ ենթատեսակը:



Նկար 7: Յիսպլատինի, 8Zg ԳՅՀ ԷՄՍ մշակված խմելու ջրի ու դրանց համադրության ազդեցությունը սարկոմա-180 հյուսվածքի հիդրատացիայի վրա՝ ուաբայինի բացակայությամբ (□) և առկայությամբ (■):

Նկար 8: Յիսպլատինի, 8Zg ԳՅՀ ԷՄՍ մշակված խմելու ջրի և դրանց համակցության ազդեցությունը սարկոմա-180 հյուսվածքում ³H-ուաբայինի կապվածության վրա:

8Zg ԳՅՀ ԷՄՍ մշակված խմելու ջրի և ցիսպլատինի համադրությունը որևէ էական ազդեցություն չի թողել քաղցկեղային հյուսվածքի վրա ուաբայինի և՛ առկայության, և՛ բացակայության դեպքում: Նկար 8-ը ցույց է տալիս, որ բջջաթաղանթի հետ ուաբայինի կապվածությունը նշանակալիորեն փոխվել է: 8Zg-ն ունի դեհիդրատացնող ազդեցություն (նկար 7), որն ուղեկցվել է բջջաթաղանթի հետ ուաբայինի կապվածության աճով: Սա կարելի է բացատրել ուաբայինի ռեցեպտորների (Na/K ԱՏՖազի մուլեկուլների) նկատմամբ խնամակցության աճով:

ԵԶՐԱԿԱՑՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐ

1. Հյուսվածքի հիդրատացիան ծառայում է որպես օրգանիզմում առկա պաթոլոգիկ օջախի առկայության ախտորոշիչ չափանիշ:
2. α_3 -ից կախյալ ներբջջային ազդանշանային համակարգը դեկավարող բջջի հիդրատացիան կարևոր մեխանիզմ է: Այն զրգովող ու չզրգովող հյուսվածքներում ունի տարբեր բնույթ: Այս համակարգի թերֆունկցիան պատճառ է դառնում չզրգովող հյուսվածքներում բջջի հիդրատացիայի բարձրացման և պրոլիֆերացիայի ոչ նորմալ ակտիվացման, որը և տանում է քաղցկեղի առաջացմանը:
3. Ցիսպլատինը դեհիդրատացնում է սարկոմա-180-ը՝ ճնշելով վերջինիս ինտենսիվ զարգացումը: Այստեղ թիրախ է հանդիսանում Na/K-ական պոմպի α_3 ենթատեսակը, որի մոտ դիտվում է ուաբայինի հանդեպ խնամակցության աճ:
4. Ուաբայինի հանդեպ Na/K-ական պոմպի α ենթամիավորի խնամակցության վրա ցիսպլատինի ներգործությունը կախված է նախնական հիդրատացիայի մակարդակից:
5. Խմելու համար օգտագործվող 4Հց և 8Հց ԳՑՀ ԷՄԱ մշակված ջրերն ունեն հակաքաղցկեղային ներգործություն օրգանիզմի վրա՝ դեհիդրատացնում են սարկոմա-180 հյուսվածքը և մոդուլացնում են ուաբայինի նկատմամբ բջջաթաղանթի խնամակցությունը:
6. 4Հց ԳՑՀ ԷՄԱ-ով մշակված խմելու ջուրը նպաստում է ցիսպլատինի հակաքաղցկեղային ազդեցության արդյունավետության բարձրացմանը:
7. 8Հց ԳՑՀ ԷՄԱ-ով մշակված խմելու ջուրը ցիսպլատինի համադրությամբ չի նպաստում վերջինիս հակաքաղցկեղային ազդեցությանը:

ԱՏԵՆԱԽՈՍՈՒԹՅԱՆ ԹԵՄԱՅՈՎ ՀՐԱՏԱՐԱԿՎԱԾ ԱՇԽԱՏԱՆՔՆԵՐԻ ՑՈՒՑԱԿ

1. Yeganyan L.R., Muradyan R.E., Arsenyan F.H., Bazikyan G.K., Ayrapetyan S.N.; The 4Hz electromagnetic field-induced modulation of cisplatin effect on carcinoma-180 tumors on mice; 2nd International Biophysics Congress and Biotechnology at GAP & 21st National Biophysics Congress, 5-9 October 2009, Diyarbakir, Turkey, p. 91-92, P-68.
2. Yeganyan L.R., Muradyan R.E., Arsenyan F.H., Bazikyan G.K., Ayrapetyan S.N.; Cell hydration elevates the depressing effect of cisplatin on ouabain binding with cell membrane; NCRI Cancer Conference, 7-10 November 2010, Liverpool, UK, B128, <http://conference.ncri.org.uk/abstracts/2010/abstracts/B128.htm> .
3. Ayrapetyan S.N., Yeganyan L.R.; The high affinity ouabain receptors' dysfunction as a primary mechanism for cancerogenesis; 4th international conference on drug discovery & therapy, 12-15 February 2012, Dubai, UAE, p. 51, IL-179.
4. Yeganyan L.R., Muradyan R.E., Arsenyan F.H., Bazikyan G.K., Ayrapetyan S.N.; Magnetically treated water at 4Hz and 2,5mT as a modulator of cisplatin effect on cell hydration and ouabain binding of sarcoma-180 tissue; The Environmentalist, 2012, Volume 32, Issue 2, p. 236-241; DOI: 10.1007/s10669-011-9378-x.
5. Ayrapetyan S.N., Yeganyan L.R., Bazikyan G.K., Muradyan R.E., Arsenyan F.H.; Na/K Pump $\alpha 3$ – Isoform – Dependent Cell Hydration Controlling Signaling System Dysfunction as a Primary Mechanism for Carcinogenesis, J Bioequiv Availab, 2012, Volume 4, p. 112-120. Doi:10.4172/jbb.1000123.
6. Yeganyan L.R.; Effect of 8Hz ELF EMF and its combination with cisplatin on sarcoma-180 tissue hydration and ouabain binding. Proceedings of the Yerevan State University (Chemistry and Biology), 2013, №3, p. 38-43; <http://www.y-su.am/science/hy/1385546919>.

ДИСФУНКЦИЯ α СУБЪЕДИНИЦЫ Na/K НАСОСА КАК ОСНОВНАЯ ПРИЧИНА
РАЗВИТИЯ САРКОМЫ-180, И МИШЕНЬ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЦИСПЛАТИНА И
СВЕРХНИЗКОЧАСТОТНЫХ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ ВОЛН

РЕЗЮМЕ

Ключевые слова: гидратация, цисплатин, саркома-180, электромагнитные волны, Na/K насос, α субъединица

Целью настоящей работы явилась выявление функциональной разницы трех изоформ (α_1 , α_2 и α_3) α субъединицы Na/K насоса мембран нормальных и раковых клеток, а также исследование роли гидратации в этих процессах. Результаты данной работы дают новые возможности для дальнейшего внедрения современных методов лечения в области химиотерапии, в частности при воздействии цисплатина на раковые клетки.

Эксперименты были проведены на практически здоровых и больных саркомой-180 самцах экзогамных мышей альбиносов.

Были получены и сравнены уровни гидратаций некоторых тканей (сердечная мышца, скелетная мышца, ткани легких, печени, селезенки, почек) у здоровых и больных саркомой-180 мышей. Полученные экспериментальные данные позволили рассматривать изменение гидратации клетки в качестве сверхчувствительного универсального маркера патологического состояния клетки. Таким образом, увеличение уровня гидратации ткани служит диагностическим параметром, указывающим на присутствие патологии в организме. Данное заключение дает возможность нахождения новых методов не только при исследовании процессов развития болезней, но и при изучении процессов предшествующих старению.

Выявлено, что α_3 -зависимая внутриклеточная сигнальная система клетки, контролируемая гидратацией, в возбудимых и невозбудимых тканях действует по-разному. Исследования α_1 , α_2 и α_3 изоформ α субъединицы Na/K насоса показали, что именно дисфункция α_3 -изоформы является тем первичным механизмом, который в невозбудимых тканях ведет к повышению уровня гидратации и аномальной активации пролиферации клеток, что в свою очередь приводит к появлению раковых клеток. Это означает, что функциональное состояние α_3 -изоформы Na/K насоса является важным фактором в процессе развития раковых клеток. В возбудимых же тканях дисфункция α_3 -изоформы ведет к апоптозу. Полученные данные открывают новые возможности для разработок современных методов в области диагностики и лечения рака.

Исследовано влияние цисплатина на гидратацию некоторых тканей (сердечная мышца, скелетная мышца, ткани легких, печени, селезенки, почек) здоровых и больных саркомой-180 мышей. Установлено, также, влияние цисплатина на связывание ^3H -уабаина с α_1 , α_2 и α_3 изоформами α субъединицы Na/K-ого насоса. Оказалось, что под влиянием цисплатина

происходит повышение сродства α з изоформы к убаину. Для цисплатина, наряду с другими внутриклеточными веществами, мишенью является также и α з изоформа Na/K насоса. Показано также, что на действие цисплатина реагирует механизм (независимый от Na/K насоса), который регулирует объем клетки, что и приводит к гидратации клеток в возбудимых и дегидратации - в невозбудимых тканях. Полученный результат дает возможность повышения эффективности применения данного лекарственного средства. Цисплатин дегидратирует ткань саркомы-180, таким способом подавляя ее развитие.

Дефицит эндогенного убаина может стать фактором повышения уровня гидратации клеток, приводящий к развитию ракового новообразования.

Вода является важным компонентом биологических систем, а ее молекулярная диссоциация сверхчувствительна к разным внешним факторам, по этой причине возникла необходимость исследования влияния питьевой воды, обработанной 4Гц и 8Гц (2,5мТ) сверхнизкочастотными электромагнитными волнами (СНЧ ЭМВ) на гидратацию клеток и сродство ^3H -убаина с клеточной мембраной ткани саркомы-180, а также на эффективность воздействия цисплатина.

Исследования показали, что питьевая вода, обработанная 4Гц или 8Гц СНЧ ЭМВ имеют противораковое влияние на организм – дегидратируя ткань саркомы-180 и модулируя сродство клеточной мембраны в отношении к убаину. На эффективность цисплатина сильнее влияет питьевая вода обработанная 4Гц СНЧ ЭМВ. Существенных благоприятных воздействий питьевой воды, обработанной 8Гц СНЧ ЭМВ не выявлено.

Было показано, что совместное применение воды, обработанной СНЧ ЭМВ и цисплатина на раковую ткань имеет противоположный эффект в зависимости от частоты волн. Так, питьевая вода, обработанная 4Гц СНЧ ЭМВ увеличивает чувствительность клетки к цисплатине, усиливая противораковое воздействие последнего.

Этот результат можно использовать при химиотерапии. В случае же 8Гц СНЧ ЭМВ наблюдается обратное действие – происходит понижение противоракового воздействия цисплатина. Совместное применение цисплатина с питьевой водой обработанной 8Гц СНЧ ЭМВ не приводит к положительному результату.

Эти исследования дают возможность обработки и внедрения новых методов профилактики болезней, ранней диагностики, увеличения эффективности воздействия цисплатина, при понижении его дозировки, а также уменьшение вероятности появления побочных эффектов, возникающих во время курса лечения и включение в лечебную практику таких видов раковых заболеваний, которые были нечувствительны к цисплатине.

THE DYSFUNCTION OF Na/K POMP α SUBUNIT AS THE PRINCIPAL CAUSE FOR CARCINOGENESIS AND TARGET OF THE EFFECT OF CISPLATIN AND EXTREMELY LOW FREQUENCY ELECTROMAGNETIC FIELDS

SUMMARY

Key words: cisplatin, electromagnetic fields, hydration, Na/K pump, sarcoma-180, α subunit

The aim of the present research is to find out the functional differences and individual roles of three isoforms (α_1 , α_2 , α_3) of α subunit of Na/K pump in normal and cancer cells membranes, as well as to establish the role of hydration in these processes. In the results of this research new opportunities of up to date methods in the field of chemotherapy will be worked out, particularly concerning the cisplatin on cancer tissue.

The experiments were realized on healthy and sarcoma-180 carrying exogamic male albinos mice.

Hydration of some tissues (heart muscle, skeletal muscle, tissues removed from lung, liver, spleen, kidney, as well as sarcoma-180) of healthy and sarcoma-180 carrying mice have been measured and compared. The data obtained from this series of experiments allow us to consider the change of cell hydration as an extra sensitive universal diagnostic parameter for cell pathology. This conclusion enables us to find out new methods not only for investigation progress of diseases, but for understanding the processes preceding aging as well.

It was shown that, α_3 -isoform dependent intracellular signaling system controlling cell hydration in excitable and non-excitable tissues has different nature. The investigations on α_1 , α_2 and α_3 isoforms of α subunit of Na/K pump have shown, that α_3 isoform dysfunction is the primary mechanism, that is in non-excitable tissues leading to the decontrolling hydration and abnormal activation of proliferation, which brings to carcinogenesis. It means that the functional status of α_3 isoform of Na/K pump is an important component in the process of the development of cancer. In excitable tissues the α_3 isoform dysfunction leads to apoptosis. The obtained data give us new opportunities for the development of the new methods in the field of diagnosis and treatment of cancer.

The effect of cisplatin on tissue hydration of some tissues (heart muscle, skeletal muscle, tissues removed from lung, liver, spleen, kidney, as well as sarcoma-180) of healthy and sarcoma-180 carrying mice was investigated. The effect of cisplatin on ^3H -ouabain binding with α_1 , α_2 and α_3 isoforms of α subunit of Na/K pump is also determined. It is found out, that cisplatin increases the affinity of α_3 subunit toward ouabain. Together with other intracellular components the α_3 isoform of α subunit is also a target for cisplatin. It is shown also, that cisplatin affects on the mechanism, which regulates cell volume. This process leads to the cell hydration of non-excitable tissues and the dehydration of excitable tissues. These data provide us with the possibility of increasing the effectiveness of the drug. Cisplatin has a dehydrating effect on sarcoma-180 tissue leading to the depression of its development.

The deficit of the endogen ouabain could be a promotional factor for the cell over-hydration, and as a consequence, for carcinogenesis.

Since water is a dominant component of environmental medium and biological systems, and its molecular dissociation is extremely sensitive to different environmental factors, it was suggested to study the effects of 4Hz and 8Hz (2.5mT) extremely low frequency electromagnetic fields (ELF EMF) treated drinking water on the cell hydration and affinity ³H-ouabain, as well as the effectiveness of the influence of cisplatin.

The results of the experiments have shown that 4Hz and 8Hz treated drinking water has an anticancer influence on the organism. As a result ELF EMF has a dehydrating and ouabain affinity with the cell membrane modulating effect. 4Hz ELF EMF have a more expressive modulating role on the cisplatin anticancer influence, than 8Hz ELF EMF. The considerable favorable effect produced by 8Hz ELF EMF has not been observed. It was shown that the combination of cisplatin with drinking water treated by ELF EMF has a frequency dependent opposite effect. Drinking water treated 4Hz ELF EMF stimulates the cisplatin induced tumor depressing effect, so it is a tool in chemotherapy. 8Hz ELF EMF shows the opposite effect depressing the anticancer activity of cisplatin. The combination of drinking water treated 8Hz ELF EMF with cisplatin has not any significant positive results.

These investigations give us the opportunities for the development and introduction of new methods to prevent and to give the early diagnosis of cancer, as well as to decrease the side effects arising during chemotherapy. Thanks to these methods other types of cancer that are insensitive toward cisplatin will be included.