

BİLİMSEL RAPORLAR

AÇIK Schumann Rezonans bandında zayıf manyetik alanlar tarafından stres kardiyo-koruma

Alındı: 14 Eylül 2018

Kabul edildi: 19 Kasım 2018

Online yayını: 07 Şubat 2019

G. Elhalel¹, C. Price¹, D. FixlerJD² ve A. Shainberg³

Schumann Rezonansları (ScR), küresel yıldırım boşalmaları tarafından hareketlenen Dünya-iyonosfer boşluğundaki Son Derece Düşük Frekanslı (ELF) elektromanyetik rezonanslardır. Bu doğal elektromanyetik gürültü muhtemelen Dünya'da, Dünya'nın bir atmosferi ve iyonosferine sahip olmasından beri ve dolayısıyla evrimsel tarihimiz boyunca bizi çevreleyerek var oldu. Bu çalışmanın amacı, ScR birinci mod frekans aralığında aşırı zayıf manyetik alanların kendiliğinden olan kasılmalar, kalsiyum geçici olayları ve sıçan kardiyak hücre kültürlerinin Kreatin Kinaz (CK) salımı üzerindeki etkisini incelemektir. 7.8 Hz, 90 nT manyetik alan (MF) uygulamasının, kendiliğinden olan kalsiyum geçici genliklerinde kademeli bir azalmaya neden olduğunu, 40 dakikalık MF uygulamasından sonra başlangıç genliğinin% 28'ine ulaştığını ve bununla birlikte kalsiyum geçici yükselme süresinde kademeli bir azalmaya neden olduğunu gösterdik. Mekanik spontan kasılmalar, ScR alanlarına 30 dakikadan daha uzun süre uygulandıktan sonra kalsiyum geçici genliği başlangıç değerinin ~% 60'ına ulaştığında durur. ScR MF'nin etkisi, 20 pT-100 nT aralığında alan büyüklüğünden bağımsız olarak ve harici DC manyetik alanından bağımsız olarak geri dönüşümlü olmuştur. Ancak, etki frekansa bağlıdır; tarif edilen değişiklikler sadece 7.6–8 Hz aralığında meydana geldi. Ek olarak, 1.5 saat boyunca 7.8 Hz, 90 nT MF uygulanması, normal koşullarda, hipoksik koşullarda ve 80 μ M H₂O₂ tarafından indüklenen oksidatif stres sırasında tampona salınan CK miktarını azaltmıştır. CK salımındaki ScR alanının indüklediği azalmanın bir stres yanıt süreci ile ilişkili olduğunu ve koruyucu bir karaktere sahip olduğunu gösterdik.

Günlük yaşamımız boyunca, geniş bir frekans ve büyüklük aralığında doğal ve yapay elektromanyetik titreşim ile çevreleniyoruz. İnsan yapımı elektromanyetik titreşim nispeten yenisidir ve biyolojik sistemler ile etkileşimini anlamak için birçok çaba gösterilmiştir¹⁻³. Buna karşın, doğal elektromanyetik titreşim, Dünya'nın ilk günlerinden beri vardır dolayısıyla evrimsel tarihimiz boyunca bizi çevrelemektedir⁴. Ancak, biyolojik sistemler üzerindeki etkisi, esas olarak bu alanların düşük büyüklüğünden ve dolayısıyla ilgi eksikliğinden dolayı kötü bir şekilde incelenmiştir. Doğal ELF sinyallerinden biri, yıldırımda-üretilen Schumann Rezonansıdır (ScR). ScR $f_1 = 7.8$ Hz, $f_2 = 13.9$ Hz, $f_3 = 20$ Hz 'de birkaç pT manyetik alan yoğunluğu ile Dünya çevresi tarafından tanımlanan iyi-tanımlanmış frekans tepeleri göstermektedir⁵. İnsan vücudu ayrıca, uyandırılabilir hücreler tarafından üretilen ELF aralığında zayıf alternatif elektromanyetik alanlar üretir. Sıçan kardiyomiyositlerinde, yaklaşık 50 pT'lik bir manyetik alan büyüklüğü ile 1-10 Hz ritim oluşturur⁶. Bu araştırmanın amacı, doğal, frekansa özgü, ScR sinyalinin sıçan kardiyomiyosit kültürleri üzerindeki etkisini ve bu iki doğal ELF alanı arasındaki eşleşmeyi incelemektir.

Bir kardiyomiyositin kasılmak için kabiliyeti, birçok biyolojik işlemin uygun şekilde çalışmasına bağlıdır. Kalsiyum iyon geçişleri, mekanik kasılmalar ve kasılmaları başlatan kardiyak aksiyon potansiyelleri arasındaki anahtar araçlardır. Kalsiyum akışı ve etki potansiyelinin 2. evresindeki Sarcoplasmic Reticulum'dan (SR) kalsiyum salınımı sitoplazmada serbest kalsiyum konsantrasyonunu artırır. Bu serbest kalsiyum fiziksel kasılma mekanizmasını tetikler. Bu nedenle, ScR MF'nin mekanik kasılmalar üzerindeki etkilerini ve bunların daha ayrıntılı bir araştırmaya temel teşkil eden kalsiyum geçici olaylarını tetiklediğini inceledik. Ek olarak, etkinin koruyucu mu yoksa yıkıcı nitelikte mi olduğunu incelemek için, normal, hipoksik ve oksidatif stres koşulları sırasında ScR MF'nin CK salımı üzerindeki etkisini inceledik. MF özelliklerine bağımlılık: olayların arkasındaki fiziksel mekanizmayı anlamak için büyüklük, frekans ve ek DC MF incelendi.

¹Porter School of the Environment and Earth Sciences, Faculty of Exact Sciences, Tel Aviv University, Tel Aviv, Israel.

²Faculty of Engineering and the Institute of Nanotechnology and Advanced Materials, Bar Ilan University, Tel Aviv,

Israel. ³Faculty of Life Sciences, Bar Ilan University, Tel Aviv, Israel. Correspondence and requests for materials should be addressed to C.P. (email: cprice@flash.tau.ac.il)

Yöntemler

Tüm deneyler, senkronize kendiliğinden olan kasılmalar sergileyen 3-7 günlük kardiyomiyosit kültürleri üzerinde 37 ° C'de gerçekleştirildi. Tüm yöntemler ilgili etik kurallara ve yönetmeliklere uygun olarak gerçekleştirildi ve deney protokolleri Bar Ilan Üniversitesi tarafından onaylandı.

Kültür Hazırlığı. Sprague-Dawley sıçan kalpleri (1 ila 2 günlük) steril koşullar altında çıkarıldı ve fazla kan hücrelerini çıkarmak için üç kez Fosfat Tamponlu Tuzlu (PBS) içinde yıkandı. PBS bileşimi şöyleydi: 135 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 10 mM Na₂HPO₄, 1.8 mM KH₂PO₄, 0.9 mM CaCl₂, 0.5 mM MgCl₂. Kalpler ince doğranmış ve sonra RDB içinde nazikçe çalkalanmıştır (İncir ağacı özü, Biyoloji Enstitüsü, Ness-Ziona, İsrail). RDB, Ca²⁺- ve Mg²⁺ içermeyen PBS içerisinde 25 ° C'de 1 : 200 oranında seyreltildi ve her 10 dakikalık birkaç döngü için kalp fragmanları ile inkübe edildi⁷. Dulbecco'nun % 10'u inaktive edilmiş at serumu (Biyoloji Enstitüsü, Kibbutz Beit Haemek, İsrail) ve % 0.5 civciv embriyo özütü ile takviye edilmiş 25 mM glikozu içeren değiştirilmiş Eagle ortamı (DMEM), ayrıştırılmış hücrelerin süspansiyonunu içeren üst faza eklenmiştir. Karışım, 5 dakika boyunca 300 g'de santrifüjlenmiştir. Üst faz atıldı ve hücreler yeniden süspansiyon haline alındı. Hücre süspansiyonu 10⁶ hücreye / mL'ye seyreltildi ve 1.5 mL süspansiyon, kolajen / jelatin ile kaplı 25 mm mikroskop lamelinde 35 mm'lik plastik kültür kaplarına yerleştirildi. Kültürler 37 ° C'de % 95 hava ve % 5 CO₂ 'den oluşan nemli bir atmosferde inkübeye bırakıldı. Kendiliğinden kasılmalar gösteren birbirine karışan tek tabaka 2 gün içinde gelişti.

Manyetik alan uygulaması. Alternatif bir manyetik alan mikroskop üzerine veya inkübasyon sırasında yerleştirilirken kültür kabının etrafına sarılmış 35 mm çapında tek bir sarma bakır bobin halkası tarafından uygulanmıştır. Deneylerin çoğunda, Biot-Savart kanununa göre, $B_z = \mu_0 I / 2R = 90nT$ örnek düzlemine paralel olan örnekler alanında nispeten düzgün bir manyetik alan meydana getiren sinüzoidal 7.8 Hz, 2.5 mA akımı kullandık. 10 mVpp, 1 kΩ (180 pT) ve 10 mVpp, 10 kΩ (18 pT) kullanılarak daha düşük manyetik alan büyüklükleri elde edildi. Birkaç deneyde 7-8,6 Hz frekans aralığında sinüzoidal dalga formları kullanıldı. Biot-Savart kanununa göre kültürlerin tabaka yönünde $\pm 10 \mu T$ lık bir DC manyetik alan uygulamak için, 80 mm çapında kültür kabının etrafına sarılmış bir bakır bobine ek bir DC güç kaynağı bağlandı.

Mekanik kasılma ölçümleri. Yapışkan hücreleri içeren bir kültür kabı, iki kez PBS ile durulandı, 1 mL glukoz bakımından zenginleştirilmiş PBS içerisinde yeniden süspansiyon edildi ve ters faz etkileşim mikroskopu aşamasına bağlandı. Kasılma ölçümü için video tekniği daha önce açıklanmıştır⁸. Hücre sınırının hareketi 5 saniyelik bölümler için 400 kez / saniye izlendi. Daha sonra zaman değişimi gerilime dönüştürüldü, süzülde ve SAMPLE bilgisayar programı tarafından analiz edildi. Kasılma oranı, her ölçümdeki tepe noktalarının sayısına göre hesaplandı.

Kalsiyum görüntüleme. Hücre içi kalsiyum, Zeiss ters çevrilmiş bir epifloresan mikroskopu üzerindeki Indo-1-AM çift emisyon göstergesini kullanarak izlendi. Hücreler, oda sıcaklığında 45 dakika süreyle 1 mL glukoz bakımından zenginleştirilmiş (25 mM) PBS içerisinde 3 μM Indo-1-AM (Molecular Probes, Eugene, OR, USA) ve 2 μM Pluronic asit ile inkübe edildi. İnkübeden sonra hücreler, iki kez PBS ile durulandı ve lamel, 1 ml glikoz bakımından zenginleştirilmiş PBS ile mikroskop odasına yerleştirildi. Kültür, 340 nm'de uyarıldı ve yayılan ışık, daha sonra, 410 ve 490 nm'de giriş filtreleriyle, Indo-1 için iki renkli bir ayna ile iki fotomultiplere (seri no. H5700 / HC120, Hamamatsu, Japonya) ayrıldı. Hücre içi kalsiyum konsantrasyonunu, 410/490 oranı kullanılarak tahmin edildi⁹.

Hipoksik koşullar. Kültürler, glikoz içermeyen Tyrode ortamından iki kez yıkanmıştır (137 mM NaCl, 5.4 mM KCl, 10 mM HEPES, 1.2 mM CaCl₂, 0.5 mM MgCl₂), pH 7.4'te ve daha sonra 1 ml glikoz içermeyen Tyrode içinde yeniden süspansiyon edilmiştir. Manyetik alan, hücreleri 37 ° C'de hipoksik koşullara maruz bırakmadan önce 1.5 saat boyunca uygulandı. Hipoksik koşul, atmosferin inert argon gazıyla (% 100) değiştirildiği hipoksik bir odada 120 dakikadan oluşuyordu.

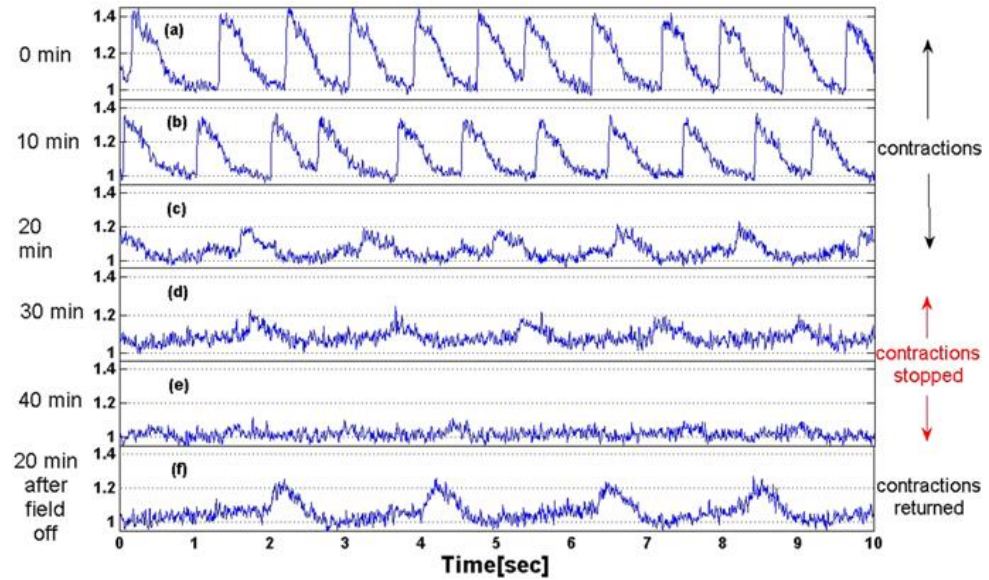
Oksidatif stres koşulları. Kültürler, pH 7.4'te glikoz bakımından zenginleştirilmiş Tyrode ile iki kez yıkandı ve daha sonra 1 mL glukoz bakımından zenginleştirilmiş Tyrode içinde tekrar süspansiyon edildi. Hücreler, 80 μM H₂O₂ ile ya manyetik alan sırasında ya da sonrasında artırıldı ve 60 dakika süre ile karanlık bir ortamda 37 ° C'de inkübe edildi. Oksidatif stres hasarı, sonunda hücre ortamına CK'nın salınması yoluyla karakterize edildi. İki tür test gerçekleştirilmiştir: 1. Numuneler bir saat boyunca H₂O₂ eklenmeden önce 1.5 saat manyetik bir alana maruz bırakıldı. 2. Numuneler, 0.5 saat manyetik alana maruz bırakıldı ve manyetik alan uygulaması ile aynı anda bir saat için H₂O₂ ile tutuldu.

CK ölçümleri. Deneyin sonunda, her bir plakanın 25 μL üst fazı, 96 oyuklu bir kaba aktarıldı ve CK aktiviteleri, imalatçı tarafından tarif edildiği gibi bir CK-MB kiti (Sigma) ile belirlendi. Enzimin ürünü, 340 nm bir dalga boyunda 30 ° C'de spektrometrik olarak ölçülmüştür.

Sonuçlar

ScR MF'nin kendiliğinden olan mekanik kasılmalar ve kalsiyum geçici etkileri üzerine etkisi

Kardiyomiyositlerin kendiliğinden olan kalsiyum geçici olayları üzerindeki 7,8 Hz, 90 nT MF etkisi Şekil 1'de gösterilmiştir. Her alt nokta (Şekil 1a-f), farklı bir zamanda hücre içi kalsiyum seviyesinin tek bir 10 saniyelik bir ölçümünü gösterir. Kendiliğinden olan kalsiyum geçici olaylarının genliği, MF uygulaması ile, 40 dakika sonra neredeyse tamamen kaybolana kadar yavaş yavaş azalır (Şekil 1e). MF uygulamasından 25 dakika sonra, kalsiyum geçici olayları hala düşük bir genliğe sahip olmasına rağmen, mekanik kasılmalar durdu (Şekil 1d, e). MF, 50 dakikalık stimülasyondan sonra kapatıldı ve kalsiyum geçici olayların genliği, 20 dakika sonra başlangıç genliğinin ~% 50'sine geri kazandı ve kasılmalar geri döndü.

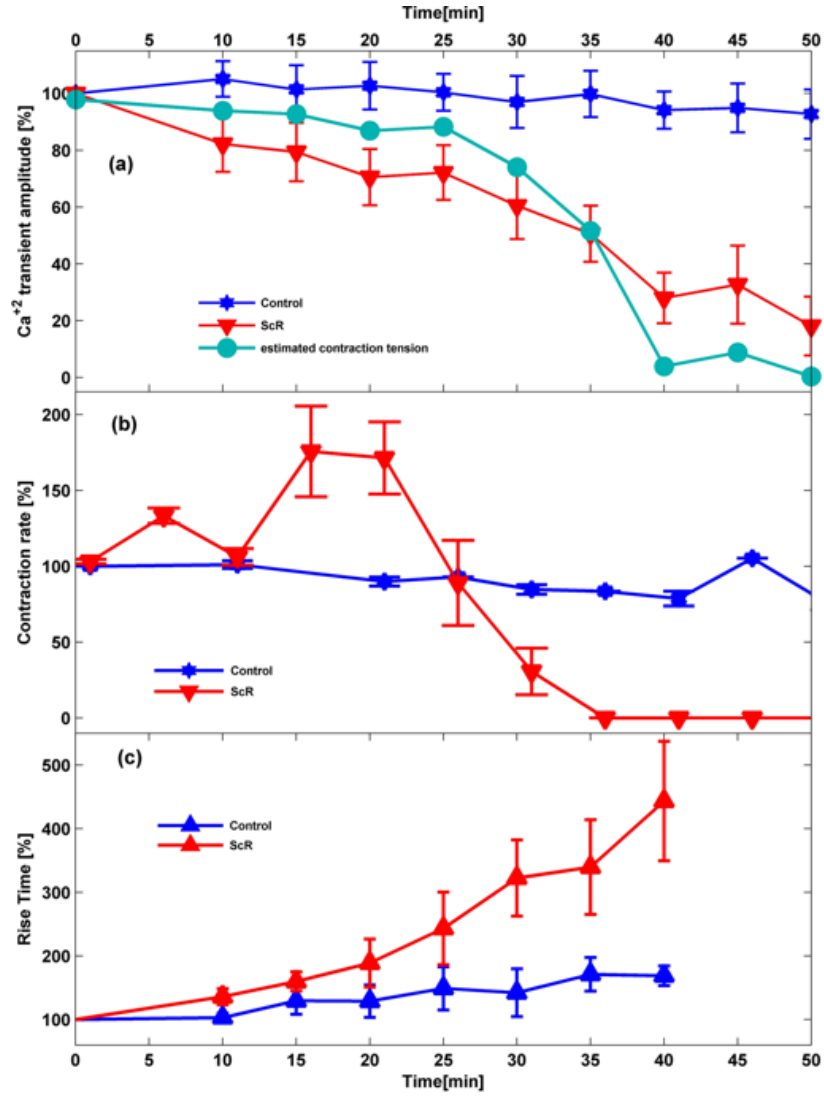


Şekil 1. ScR MF'ye (7,8 Hz, 90 nT) maruz kalma sırasında kardiyomyositlerin hücre içi kalsiyum ölçümleri. Kasılmalar 20 dakika sonra durmasına rağmen Ca geçici olayları ancak 40 dakika sonra kayboldu. ScR MF stimülasyonu, 50 dakika sonra kapatıldı ve hücre içi kalsiyum geçici olayları geri döndü.

Şekil 2a, kontrol ve ScR stimülasyon gruplarının ortalama kalsiyum geçici olaylarının genlik büyüklüğüne (no MF, mavi yıldız) (7.8 Hz, 90 nT MF, kırmızı üçgenler) karşı zamanı gösterir. 40 dakikalık ölçümlerden sonra göreceli genlik azalması uyarılmış grupta -72% iken, kontrol grubunda sadece -7% idi. Şekil 2b ortalama mekanik kasılma oranına (kendiliğinden olan kasılmaya) karşı kontrol zamanı ve ScR MF gruplarını gösterir. Mekanik kasılma oranı numuneler arasında değişir, bu nedenle tüm ölçümler ölçümün başlangıcındaki kasılma oranına göre normalize edilmiştir. Kontrol grubu (mavi eğri) nispeten sabit bir kasılma hızı sergilerken, ScR MF grubu (kırmızı eğri) kasılma hızında bir artış gösterir, MF'nin ilk 20 dakikasında ilk kasılma oranının 200% 'e kadar ve ardından 35 dakikalık MF uygulamasından sonra mekanik kasılmaların tamamen askıya alınmasına doğru keskin bir azalma gösterir. Mekanik kasılma gerilimi, $5,6'$ lık bir Hill sabiti ile Hill denklemi kullanılarak hücre içi kalsiyum geçici genlikten hesaplanabilir¹⁰. Şekil 2a'daki turkuaz eğrisi, ölçülen kalsiyum konsantrasyonundan hesaplanan kasılma gerilimindeki azalmayı göstermektedir. Geçici genlikteki kademeli azalmanın aksine, ScR MF ile 40 dakika sonra kendiliğinden olan kasılmanın tamamen sona ermesiyle 15 dakika içinde başlangıç gerginliğinin 90% 'ından sadece 4% 'e kadar keskin bir düşüş olacağını, ölçülen keskin azalma ve kasılmaların 7.8 Hz, 90 nT MF ile 35 dakika sonra sona ermesine benzer şekilde tahmin eder.

ScR MF'nin kendiliğinden olan kalsiyum geçici olaylarının normalize yükselme süresi üzerindeki etkisi, Şekil 2c'de sunulmuştur. Yükselme süresi, geçici olayların genliği ile normalize edildi. ScR grubunun geçici olaylarının yükselme süresi (Şekil 2c, kırmızı yukarı bakan üçgenler), kontrol normalize yükselme zamanındaki (mavi, yukarı bakan üçgenler) çok küçük bir artışa kıyasla ScR alanıyla 40 dakika sonra 450% artış gösterir. Hem normalize edilmiş gevşeme süresi hem de diastolik kalsiyum konsantrasyonu, ScR ve kontrol grupları arasında anlamlı bir farklılık göstermedi (veriler sunulmadı).

Stres koşullarında ScR MF'nin neden olduğu kardiy koruma. ScR MF'nin (1.5 saat boyunca) 4 farklı deneysel konfigürasyonda CK salımı üzerine uygulanmasının etkisini de inceledik: (1) normal koşullarda (2) ScR MF uygulamasını 2 saatlik hipoksi takip ettiğinde (3) H_2O_2 $80 \mu M$ ScR MF uygulamasını takip eden 1 saat boyunca kültürlerine ilave edildi (4) Numuneler 7.8 Hz, 90 nT MF 0.5 saat tabi tutulmuştur ve daha sonra $80 \mu M$, H_2O_2 için tampona dâhil bir saat ve aynı anda MF uygulamasına tabi tutulur. Normalize edilmiş CK salınımı, dört deneyin hepsinde MF olmadan da Şekil 3'te sunulmaktadır (CTR grubu). Hipoksik ve oksidatif stres deneylerinde, stresi takiben CK salımı kontrol gruplarına göre $40-70\%$ daha yüksekti. Ancak, dört deney prosedürünün hepsinde, ScR MF uygulaması, CK salınım miktarını azaltarak, koruyucu bir etki ortaya koydu. Normal koşul deneyinde, kendiliğinden olan CK salımı ScR grubunda 20% daha düşüktü (Şekil 3a). ScR MF, oksidatif stresten önce uygulandığında da benzer bir azalma görüldü (Şekil 3c). Hipoksi deneyinde (Şekil 3b) ve ScR MF'de oksidatif stres (Şekil 3d) ile aynı anda uygulandığında CK salınımında daha önemli bir azalma ($\sim 40\%$) görülmüştür. CK salınımının stresin yol açtığı hasarı temsil ettiği varsayıldığında, ScR MF'nin koruyucu karakterini inceledik. ScR MF uygulamasını $(CK_{ScR + H_2O_2} - CK_{CTR}) / CK_{CTR}$ 'yi takiben, sadece stres $(CK_{H_2O_2} - CK_{CTR}) / CK_{CTR}$ 'den kaynaklanan hasara karşı göreceli "hasar" grafini oluşturduk. Şekil 4, ScR MF'nin oksidatif stresten önce (mavi daireler) uygulandığı üçüncü deney sonuçlarını (bakınız Şekil 3c) sunmaktadır. Her nokta, tek bir deney ve ortalama 3-4 örneği temsil eder. Grafikten görülebileceği gibi, sonuçlar $CK_{ScR + H_2O_2} - CK_{H_2O_2} = -0.3CK_{CTR}$ anlamına gelen birleştirici bir eğim ile doğrusal bir davranış sergilemektedir. ScR MF'nin neden olduğu "koruma" sadece normal şartlarda CK salımına bağlı olduğunu ve oksidatif stresin neden olduğu hasara bağlı olmadığını gösterir. Bu çıkarımı desteklemek için, $CK_{H_2O_2} - CK_{CTR} = 0$ (oksidatif stres yok) kullanarak normal koşul deneylerinin sonuçlarını (Şekil 4'teki sarı daireler) ekledik. Bir deney dışında, tüm normal koşullarda sonuçlar aynı üniter eğim doğrusal ilişkiye uyuyor.

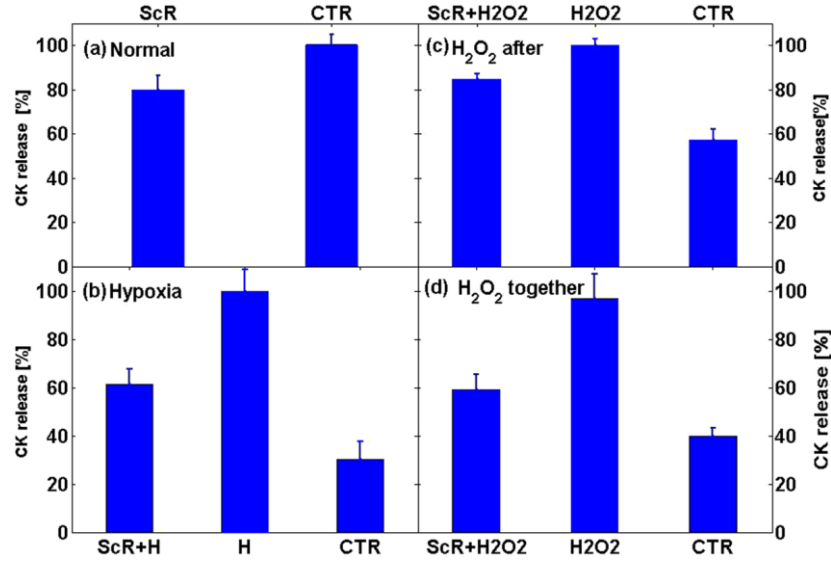


Şekil 2. ScR MF'nin kalsiyum geçici genliği, kendiliğinden kasılma oranı ve geçici kalsiyum yükselme zamanı üzerindeki etkisi. (a) Nispi kendiliğinden olan kalsiyum geçici kontrol genliği (mavi yıldızlar) ve ScR grupları (kırmızı üçgenler). Turkuaz eğrisi, kalsiyum geçici genlikten hesaplanan kasılma gerilimini gösterir. (b) Kardiyomiyositlerin kendiliğinden olan mekanik kasılma oranına karşı zaman. Mavi yıldızlar ve kırmızı üçgenler sırasıyla Kontrol (MF yok) ve 7.8 Hz, 90 nT MF gösterir. (c) Kontrol grubunun (mavi yukarı bakan üçgenler) ve ScR grubunun (kırmızı yukarı bakan üçgenler) geçici genliği ile normalize edilmiş nispi geçici yükselme süresi.

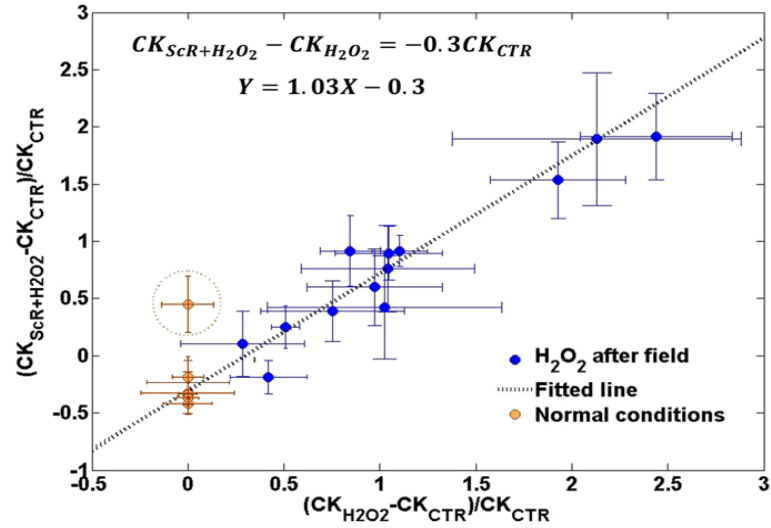
Dördüncü deneyin (bkz. Şekil 3d) ve hipoksi deneyinin (bakınız, Şekil 3b) nispi "hasar" oranı, Şekil 5'te sunulmuştur. Önceki grafikten elde edilen tüm sonuçlar normal koşullar çizgisinin altındadır ($CK_{ScR+H2O2} - CK_{H2O2} = -0.3CK_{CTR}$)

Şekil 5'teki ek, nispeten büyük CK salımı ile hipoksi deneyinin çıkarılmasından sonra normal koşullar çizgisinden sapmaları gösterir (ScR MF'nin akut hasar üzerindeki etkisi farklı olabilir). Bu sapmalar aynı zamanda, zararsız ve korunmasız durumda beklendiği gibi orijinden geçen doğrusal bir ilişkiye (Bundan böyle "koruma çizgisi" olarak anılacaktır) de uyar. Koruma hattının 0.475 eğimi, CK salımındaki artışın neredeyse% 50'sinin ScR MF tarafından önlendiğini gösterir.

Manyetik alan parametrelerinde bağımlılık. Zayıf alternatif manyetik alanların biyolojik varlıklar üzerindeki etkisini açıklamaya çalışan birkaç teori önerildi¹¹. Her biri manyetik alan özelliklerine farklı bir bağımlılık sunar: stimülasyon yoğunluğu, frekans ve harici manyetik DC alanı. Bu teorilerin yukarıdaki olaylarla ilişkisini incelemek için, etkinin manyetik alan parametreleri üzerindeki bağımlılığını test ettik. Şekil 6a, b, mekanik kasılma hızının ve CK salımının, MF büyüklüklerinde normal şartlarda bağımlılığını göstermektedir.

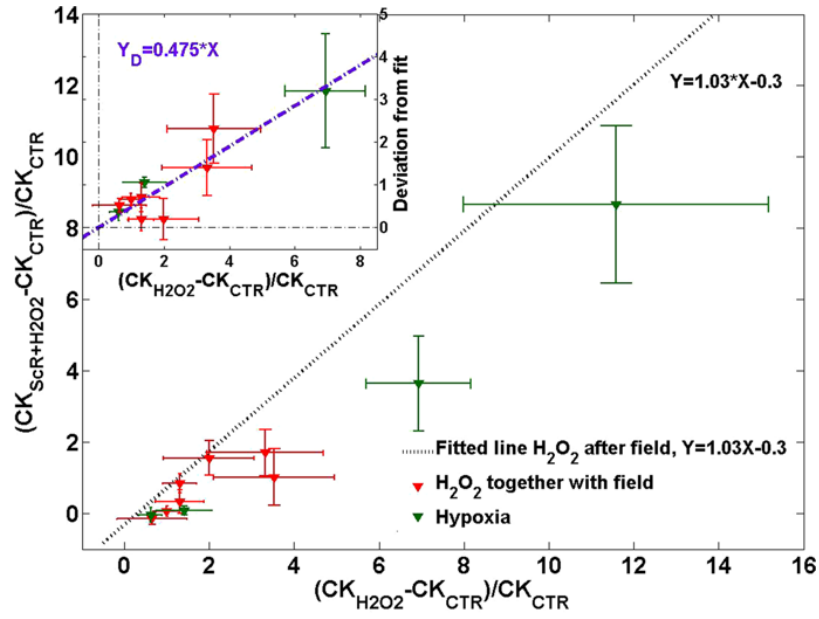


Şekil 3. ScR MF'nin, hücrelerden salınan CK'nin ortaya çıkardığı şekilde kardiyο koruması üzerindeki etkisi. Bağlı CK salınımı (a) Normal koşul: normal koşullarda CTR - 1.5 saat, normal koşullarda ScR - 1.5 saat ScR MF uygulaması. (b) Hipoksik koşullar: ScR + H- 1.5 saat MF uygulamasının takiben 2 saat hipoksi, H₂O₂- 1.5 normal koşulların takiben 2 saat hipoksi. CTR -3.5 saatlik normal şartlar. (c) MF sonrası H₂O₂: ScR + H₂O₂ - 1,5 saat MF uygulamasını takiben 1 saat 80 µM H₂O₂, CTR-2,5 saat normal koşullarda (d) Eşzamanlı uygulama H₂O₂ve SCR MF: ScR + H₂O₂-0.5 saat ScR MF uygulaması ve ardından 1 saat eş zamanlı 80 µM H₂O₂ve ScR MF, H₂O₂-0.5 saat normal şartların ardından 1 saat 80 µM H₂O₂, CTR- 1.5 saat normal şartlar.



Şekil 4. Göreceli “hasar” takiben ScR MF uygulamasına karşı tek başına strese bağlı hasar. Mavi daireler - ScR alanının ardından uygulanan oksidatif stres. Sarı daireler - normal koşullar deneyi. kesikli çizgi - doğrusal uyum.

Hem mekanik kasılma oranındaki azalma hem de CK salınımındaki normal koşullar bu büyüklük aralığında (18 pT-90 nT) benzerdi. Şekil 6c farklı frekanslarda 90 nT'lik bir alanla 35 dakika sonra kalsiyum geçici genlikteki bağlı değişimi sunar. Şekil 6c farklı frekanslarda 90 nT'lik bir alanla 35 dakika sonra kalsiyum geçici genlikteki bağlı değişimi sunar. Sadece 7.6–8 Hz aralığındaki frekanslar kalsiyum geçici genliğinin azalmasına neden oldu. 7-7.4 Hz ve 8.4–8.6 Hz manyetik alanlar uygulandığında, geçici genlik üzerinde hiçbir etkisi yoktu. Manyetik alanla 35 dakika sonra 8.2 Hz alan uygulaması süresince büyük bir artış (~% 35) ölçüldü. Dış manyetik DC alana olan etkinin bağımlılığı 7.8 Hz, 90 nT AC alanına ± 10 DCT DC alanı eklenmesiyle incelenmiştir. Şekil 6d'de görülebileceği gibi, 10 uT DC alanı ScR MF ile aynı anda uygulandığında mekanik kasılma oranında benzer bir azalma görülmüştür.



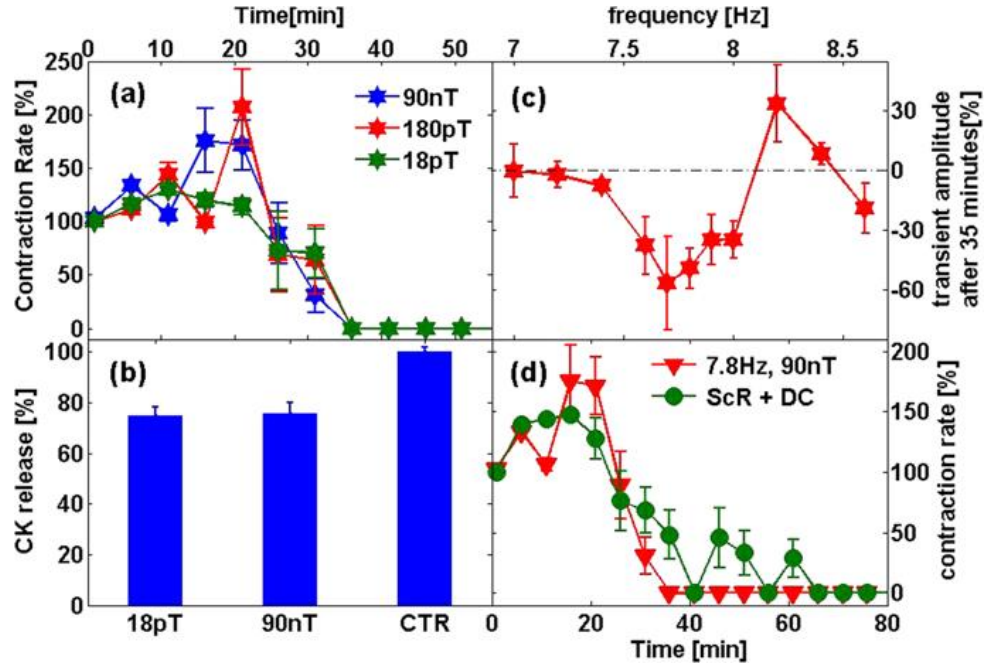
Şekil 5. ScR MF uygulamasının ardından göreceli “hasar”a karşı tek başına strese bağlı hasar. Yeşil üçgenler - Hipoksi deneyi. Kırmızı üçgenler - ScR MF ile aynı anda uygulanan oksidatif stres. İç küçük resim - Doğrusal normal koşullar çizgisinden sapmalar.

Tartışma

Farklı süreçler arasındaki bağlantı. Yukarıdaki bulgular, kardiyomiyosit normal fonksiyonunda yer alan üç ayrı işlemi içerir; mekanik kasılmalar, kalsiyum geçici ve CK salım oranı. Birkaç farklı mekanizmanın veya ortak bir etki yolunun bu etkilerden sorumlu olup olmadığı açık bir soru olarak kalmaktadır. Kendiliğinden olan mekanik kasılmaların ani sona ermesine, kalsiyum geçici olaylarının genliklerinde kademeli bir azalma ve daha uzun bir yükselme süresi eşlik etti. Bu iki gözlem, sitozole kalsiyum giriş miktarında ve hızında bir azalmaya işaret etmektedir. Mekanik kasılma oranının zamana bağlılığı ile tahmini kasılma dayanımı arasındaki mükemmel benzerlik ile birlikte, hücre içi kalsiyumdaki bir azalmanın büyük olasılıkla kalsiyum geçici maddelerin genliği belirli bir eşiğin altına düştüğünde kasılma süspansiyonunun nedeni olduğunu ileri sürer. Bu iki etki arasındaki bağlantının bir başka gerekçesi, saha uygulamasının ilk 20 dakikasında kasılma oranındaki artıştır. Artan kasılma oranı, azaltılmış bir SR yükünün bir belirtisi olabilir. Daha kısa gevşeme süresine bağlı olarak artan oran kalsiyum akışını azaltır ve bu nedenle kalsiyum rezervuarındaki azalmayı dengeler ve hücrenin kalsiyum SR rezervuarındaki azalmanın üstesinden gelmesini sağlar¹²⁻¹⁴. Hem mekanik kasılma hem de hücre içi kalsiyum dengesi, sitoplazmada CK miktarına bağlıdır, enerji bakım mekanizmasında kilit bir oyuncudur¹⁵. Normal koşullar altında, CK salım oranı, 1.5 saat içinde hücre içeriğinin ~% 5'ine göre oldukça düşüktür. Bu nedenle, CK salımındaki gözlenen değişikliklerin enerji dengesini önemli ölçüde etkilemesi ve mekanik kasılmaları engellemesi olası değildir. Bir başka potansiyel bağlantı kalsiyumdan etkilenen ekzositozudur. Hücre içi kalsiyum konsantrasyonu değişimleri ekzositoz oranını ve kutatayı etkileyebilir¹⁶⁻¹⁸. Bu nedenle, eğer ScR manyetik alanı kalsiyum homeostazını etkilerse, ekzositozu ve tampona salınan CK miktarını dolaylı olarak etkileyebilir. Hipoksik ve oksidatif stres koşulları sırasında CK salım hızında bir artmış azalma gözlemlendi. Kalsiyum ve ROS sinyal yolları arasındaki eşleşmeden dolayı başka bir olası ilişki olduğunu öne sürmektedir¹⁹⁻²¹. Oksidatif stres, hücre içi kalsiyum konsantrasyonunu yükseltir ve artan kalsiyum konsantrasyonu, ROS üreten enzimleri aktive eder. Artan ROS seviyelerinin uzun süreli SR sızıntılarına ve Ca²⁺ tükenmesine neden olduğu gösterilmiştir.²²

Kalsiyum homeostazına etkisi. 7.8 Hz, 90 nT MF alanının diyastolik Ca²⁺ konsantrasyonunu etkilememesi ve düşüş süresinde sadece küçük bir etkiye sahip olması, kalsiyum genliğindeki büyük düşüşün yalnızca Sodyum üzerindeki doğrudan etkiye bağlı olamayacağına işaret eder. -Calcium Exchanger (NCX) ve Sarco / Endoplasmic Reticulum Ca²⁺ ATPase (SERCA) mekanizmaları. Kalsiyum geçici genliği ve uzun süreli yükselme süresindeki büyük düşüş, ScR MF'nin sitozole kalsiyum girişinden sorumlu iki ana mekanizmadan biri üzerinde bir etkisi olduğunu göstermektedir; kalsiyum akışı (L tipi gerilime bağlı kalsiyum kanalları aracılığıyla) ve Ca²⁺ akışı akımı tarafından tetiklenen SR'den kalsiyum salımı. Bu iki mekanizmadan birinin arızası, daha yavaş bir kalsiyum girişine ve dolayısıyla uzun bir artış süresine ve daha düşük bir geçici genliğe neden olmalıdır. Sıçan iskelet kası kültürlerinde (yayınlanacak) ScR MF'nin neden olduğu kalsiyum geçici genliğinde benzer bir azalma gözlemlenmiştir. SR'den kalsiyum salımının “Ca'nın neden olduğu Ca salımını” iskelet kası ile ilgili olmadığı için hedef olduğunu göstermektedir.

CK salımı üzerindeki etkisi. Mekanik kasılmaların sona ermesi ve ScR alanının uygulanmasından sonra kardiyomiyosit kendiliğinden olan kasılması sırasında kalsiyum konsantrasyonunun azaltılması, hücrelerin uygun aktivitesinde bir bozulma olabileceğini düşündürmektedir.



Şekil 6. MF parametrelerine bağlılık. (a) Kendiliğinden büzülme hızına karşı çeşitli alan büyüklüklerinde manyetik alan ile zaman. (b) 90 nT ve 18 pT, CK salınımindaki 7.8 Hz manyetik alanın etkisi arasındaki karşılaştırma. (c) Çeşitli frekanslarda 90 nT manyetik alanla 35 dakika sonra kalsiyum geçici genlikteki nispi değişim. (d) Harici DC alanına bağlılık. 7.8 Hz, 90 nT'nin (yeşil eğri) ve eksiz (\pm kırmızı eğri) ek $\pm 10 \mu\text{T}$ DC alan ile kendiliğinden büzülme oranı üzerindeki etkisi.

Bu nedenle, ScR alanının, tamponun CK salımı üzerindeki etkisini inceledik. CK salım hızı yavaştır ve 45 dakika sonra (standart sapmadan daha küçük) ölçülemezdi, kalsiyum geçici genlikte bir azalma meydana geldi. Ortalama CK salım miktarı 90 dakika içinde hücre içeriğinin $\sim 10\%$ 'udur. Böyle küçük bir değişimin, enerji dengesi veya hücre canlılığı üzerinde önemli bir etkiyi önemli ölçüde gösterme olasılığı ve mekanik kasılmaları engelleyebileceği düşünülmemektedir. Bunlara ek olarak, alan maruziyeti nedeniyle daha düşük CK salımının, hücre canlılığının azalmasından kaynaklanmadığını doğrulamak için Propidium Iodide (PI) boyama prosedürünü kullanarak hücre canlılığı üzerindeki etkisini inceledik (veriler sunulmadı). PI değerleri CK salımı ile tutarlıydı (yani, azaltılmış CK salımı olan örnekler için daha düşük PI değerleri) ve bu nedenle saha uygulaması nedeniyle daha canlı hücreler anlamına gelir.

Oksidatif stres öncesi ScR MF uygulandığında CK salınımdaki azalmanın, Normal şartlardaki azalmaya benzer olduğunu ve her ikisinin de üniter bir eğime sahip doğrusal bir çizgiye uymasıyla aynı fikirde olduğunu gösterdik: $CK_{ScR, +H_2O_2} - CK_{H_2O_2} = -0,3 CK_{CTR}$. İndirgemenin, oksidatif stres tarafından yapılan hasar miktarına bağlı olmadığını ve MF etkisinin oksidatif stres uygulaması boyunca büyük olasılıkla devam ettiğini gösterir. Hipoksi deneyinde (Şekil 3b) ve oksidatif stres ScR MF ile aynı anda uygulandığında (Şekil 3d), CK salınımdaki azalma, ScR MF'nin oksidatif stresten önce uygulanmasından daha belirgindi (Şekil 3c). Şekil 3c,d, ΔCK 'deki üzerindeki alan etkisinin, iki faktörün bileşimi olarak tanımlanabilir: $\Delta CK = \Delta_{Normal} + \Delta_{Protection}$ nerede Δ_{Normal} , yukarıda açıklanan normal durum katkısıdır: $\Delta_{Normal} = -0,3CK_{CTR}$ yalnızca CK salımın serbest bırakıldığı normal koşullara ve "koruma hattı" katkısına bağlı olarak: $\Delta_{Protection} = -0,475 (CK_{H_2O_2} - CK_{CTR})$, sadece hipoksi ve oksidatif stresin yol açtığı hasar miktarına bağlı olarak. İki bağımsız faktöre yapılan bu bölünme, iki ayrı süreci içeren iki ayrı bağımsız katkıyı göstermektedir. Birincisi, ScR MF'nin ekzositoz gibi normal durum süreçleriyle etkileşimi ile ilgili olabilirken, ikincisi ise muhtemelen hücrelerin koruma mekanizmalarından birini içerir. Hasar bağımlı $\Delta_{Protection}$ alan hipoksik hasardan önce uygulanmasına rağmen hipoksi deneyinde ortaya çıktı. Bu, hasara bağlı terimin içerdiği oksidatif stres sonuçlarının aksine, $\Delta_{Protection}$, sadece ScR MF, oksidatif stres ile aynı anda uygulandığında ortaya çıktı. Bu tutarsızlığı hipoksik ve oksidatif stres deneylerinde ROS seviyelerinde kademeliye karşı ani artışa bağladık.

Manyetik alan parametrelerine bağlılık. Karmaşıklık ve içerdiği birçok faktör ve mekanizma nedeniyle, ScR MF etkisinin arkasındaki fiziksel mekanizmanın ortaya çıkarılması, bu çalışmanın kapsamı dışında karmaşık bir iştir. Ancak, uygulanan MF parametreleri üzerindeki etkinin bağımlılığı bir manyeto alımı mekanizmasına işaret edebilir. Hem mekanik kasılmalar hem de CK salım oranı, MF büyüklüğünden bağımsızdı. Bu özellik, stokastik rezonans, Eddy akımı açıklamaları, etkilerin büyüklüğünün salınım yapan ve statik MF genlikleri arasındaki orana ve radikal çift rekombinasyonu arasındaki orana bağlı olduğu iyon siklotron parametrik rezonans açıklaması gibi önerilen fiziksel

açıklamaların bir kısmını dışlamaktadır. teorisi. Diğer bir seçenek ise, etkinin makul olduğu üzerinde belirli bir eşğin olmasıdır. Eşik değer, fiziksel veya biyolojik bir kökene sahip olabilir.

Uygulanan MF'nin (18 pT-90 nT) aşırı zayıf genliği başka bir kısıtlama getirdi ve önerilen açıklamaların bir kısmını ortadan kaldırdı. Örneğin radikal çift rekombinasyonu üzerindeki etki, sadece yüksek tarla büyüklüklerinde önemli bir etki yaratabilir²³ (1-10 mT, bakınız Grissom, 1995). Stokastik rezonans, bir sinyali yalnızca 100 faktörü ile yükseltebilir ve bu nedenle ScR etkisi ile ilgili olması daha az olasıdır. Stokastik rezonans, bir sinyali yalnızca 100 faktörü ile yükseltebilir ve bu nedenle ScR etkisi ile ilgili olması daha az olasıdır.²⁴

Bir başka olası açıklama salınan MF tarafından indüklenen elektrik alanlarını içerir. Deneyimizde (90 nT, 7.8 Hz MF) uygulanmış ScR MF tarafından kültürde indüklenen ortalama elektrik alanı $E_{90nT} = 4 \times 10^{-8} \text{ Vm}^{-1}$. Elasmobranch balıklarının, $5 \times 10^{-7} \text{ Vm}^{-1}$ ^{25,26} derecenin DC ve ELF elektrik alanlarına duyarlı olduğu gösterilmiş, yalnızca bir büyüklük sırası daha yüksekti. Böyle küçük bir büyüklük farkı, örneğin basit geometrik gerekçelerle seviyelendirilebilir. Bu nedenle, indüklenen elektrik alanı ile biyolojik etkileşim, ScR manyetik alan etkisi için olası açıklamalardan biridir. ScR etkisinin frekansa özgü karakteri, frekans seçiciliği mekanizmasına sahip olmayan radikal çift rekombinasyon açıklamasını reddeder. Eddy akımı açıklaması, alanların frekansına doğrusal bir bağımlılık sunar ve dolayısıyla ScR etkisiyle alakasızdır. Biyolojik dokulardaki zayıf ELF MF'lerin etkisini açıklayan popüler teorilerden biri iyon siklotron etkisidir. Diğerleri, 16 Hz 40 nT alanın kardiyomyositlerin kendiliğinden kalsiyum geçişleri üzerindeki etkisini incelemiştir^{27,28}. 30 dakikalık bir maruz kalmadan sonra kalsiyum geçici genliğinin % 75 oranında azaldığını gösterdiler. Alanın kalsiyum geçişlerini etkileme frekansı, DC alan büyüklüğü değiştiğinde ve potasyum iyonunun iyon siklotron rezonans frekansını taktığında değişir²⁹. Dünya'nın Tel Aviv'deki jeomanyetik alanı 40 µT civarındadır. Eğer 40 µT'lik bir DC alanı için iyon siklotron frekansı 7.8 Hz ise, DC alanını 50 µT veya 30 µT'ye kaydırmak iyon siklotron frekansını sırasıyla 9.75 Hz ve 5.85 Hz'e değiştirecektir. ScR alan etkisi iyon siklotron rezonansından kaynaklanıyorsa, alanın kardiyomyositleri etkileme sıklığı sırasıyla değişmeli ve 7.8 Hz alanı kasılma oranını etkilemeyecektir. Sonuçlar bölümünde açıklandığı gibi, durum böyle değildir ve 7.8 Hz manyetik alan, ek bir manyetik DC uygulandığında bile kendiliğinden kasılma oranını etkiler ve bu nedenle iyon siklotron etkisini ekleyebiliriz.

İyon siklotron frekansının, ScR frekans aralığı için uygun olan, ancak ScR etkisiyle ilgisi olmayan tek karakteristik rezonans frekansı olması, kaplumbağa koklear saç hücreleri gibi biyolojik ayarlamayı daha muhtemel bir açıklama yapar. Belirli bir saç hücrelerinin rezonans frekansı, kalsiyum ile aktive olan (BK) potasyum kanallarının spesifik sayısı ve kinetiği ile belirlenir^{30,31}. Bu mekanizma, elektrik indüksiyon hipotezini Bellono *et al*'ya göre muhtemel bir öncül olarak destekler³². Elasmobranch balıklarının frekansa duyarlı elektrodeteksiyonu, voltaj kapılı kalsiyum kanalı CaV1.3'ün düşük voltajlı aktivasyon eşğinden ve büyük iletkenlik kalsiyumla aktive olmuş potasyum kanalının (BK) azalmış bir eğim iletkenliğinden kaynaklanır. Bu benzersiz özellikler, saç hücrelerinin elektriksel rezonans mekanizmasına benzer bir ayarlama aracı olarak işlev görebilecek zar potansiyel salınımlarına (~ 7 Hz) yol açar. Kardiyomyositte, BK kanalları sarkomadan yok gibi görünür, ancak kanalların mitokondriyal zarlarda³³ mevcut olduğu ve ROS'a bağlı mekanizma³⁴ iskemiye karşı kardiyoproteksiyonda yer aldığı gösterilmiştir. Bir indüklenen elektrik alanının sıçan mitokondri BK kanalları üzerindeki bir etkisini içeren bu potansiyel açıklama, ScR'nin gözlemlendiği tüm etkilerle ilgilidir: hipoksi, oksidatif stres ve kalsiyum geçici. Mitokondri BK kanallarının oksidatif durumun ince ayarlanması yoluyla iskemiye karşı kardiyoproteksiyona dahil olduğunu gösteren bazı kanıtlar vardır³⁵⁻³⁷. Ek olarak, mitokondride ROS üretiminin sıçan kardiyomyositlerinde Ca²⁺ 'yi iki yönlü, zamana bağlı bir şekilde düzenlediği gösterilmiştir³⁸. İndüklenen mitokondriyal ROS üretiminin Ca²⁺ kılıcım aktivitesinde geçici bir artışa neden olduğunu, ardından kısmen 15 dakikalık bir zaman dilimi boyunca SR kalsiyum yükündeki bir azalmanın neden olduğu kademeli kılıcım baskılamasının olduğunu gösterdiler.

Bu nedenle, ScR MF'nin mitokondri BK kanalı üzerinde bir birleşme mekanizması olarak elektrik indüksiyonuyla etkisi, ROS üretimi ile sonuçlanan, kasılma oranının artmasına ve kalsiyum geçici genlikte kademeli bir azalmaya neden olabilir.

Özet ve sonuçlar

ScR birinci mod frekansındaki çok düşük genlik / frekanslı manyetik alanların, kalsiyum kullanımı ve sıçan kardiyomyosit kültürlerinde stres kaynaklı reaksiyonlar gibi temel hücresel süreçler üzerindeki etkisini araştırdık. Son derece zayıf 7.8 Hz manyetik alanların kalsiyum geçici genliğini azalttığını ve oksidatif stres ve hipoksik koşullar sırasında koruyucu bir etkisi olduğunu gösterdik. Etki, manyetik alanın büyüklüğünden ve harici manyetik DC'den bağımsızdı ve yalnızca ScR alanının ilk modu (7.8 Hz) etrafında dar bir frekans aralığında göze çarptığı tespit edildi. Doğal ScR sinyali ve kardiyomyosit aktivitesi arasında bir ilişki göstermek, biyolojik etki yolunun ve teorik fiziksel tanımlamanın tam olarak anlaşılmasını gerektirir ve membran ve SR iyonik akımları gibi izole edilmiş bileşenlerin ve bunların daha geniş bir manyetik alan parametreleri yelpazesine etkileşimlerinin daha kapsamlı bir şekilde incelenmesini içermelidir.

Bu çalışma, iyi tanımlanmış bir frekansa sahip bir saf sinüs dalgasının etkisini incelemiştir. Gerçek Schumann Rezonans sinyali birçok bireysel zaman gecikmeli sinyalin süperpozisyonudur ve bu nedenle saf tutarlı deney sinüsünden çok farklıdır. Dolayısıyla bu sonuç çıkarma basit değildir ve gerçek ScR sinyalinin muhtemel etkisini doğrulamak için ikinci ve üçüncü ScR tepe noktalarının etkisinin ve daha gerçekçi bir sinyalin uygun bir şekilde araştırılması gerekir.

Gerçek ScR sinyali ile denememizdeki manyetik alan arasındaki diğer bir önemli fark manyetik alan büyüklüğüdür. Yukarıda tarif edilen deneylerin çoğu, gerçek ScR alanından 50,000 kat daha güçlü manyetik alan ile yapılmıştır. Bununla birlikte, 7.8 Hz manyetik alanın kasılma oranı ve CK salımı üzerindeki etkisinin alan büyüklüğünden bağımsız olduğuna ve gerçek SR sinyalinden yalnızca bir büyük mertebeden daha yüksek bir 7.8 Hz, 18 pT manyetik alan olduğuna dair kanıtlar sunduk. Kardiyomiyosit kültürleri üzerinde benzer bir etkiye sahip. Bu iki kanıt, 2 pT sinyalinin kardiyomiyositler üzerinde benzer bir etkiye sahip olabileceğini göstermektedir. Ne yazık ki, Deney düzeneğinin doğal ScR sinyalinden izole edilmesindeki teknik zorluklar, 2 pT alanın manyetik olarak korunan bir ortamda etkisini düzgün bir şekilde incelememizi önledi. Bu iki deney, gerçek ScR sinyalinin etkisini doğrulamak için ilk adım olarak gelecekteki çalışmaların bir parçası olmalıdır.

Veri kullanılabilirliği

Mevcut çalışma sırasında oluşturulan ve / veya analiz edilen veri setleri makul talep üzerine ilgili yazardan temin edilebilir.

Referanslar

1. Tenforde, T. S. & Kaune, W. T. Interaction of extremely low frequency electric and magnetic fields with humans. *Health physics* **53**(6), 585–606 (1988).
2. Tenforde, T. S. Biological interactions of extremely-low-frequency electric and magnetic fields. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics* **25**(1), 1–17 (1991).
3. King, R. W. The interaction of power-line electromagnetic fields with the human body. *IEEE Engineering in Medicine and Biology Magazine*, 67–73 (1998).
4. Bianchi, C. & Meloni, A. Natural and man-made terrestrial electromagnetic noise: an outlook. *Annales of Geophysics* **50**(3), 435–445 (2007).
5. Price, C. & Melnikov, A. Diurnal, seasonal and inter-annual variations in the Schumann resonance parameters. *Journal of Atmospheric and Solar-Terrestrial Physics* **66**(13-14), 1179–1185 (2004).
6. In-Seon, K., Hyuckchan, K., San, A. & Jong-Hyu, S. Measurement of Rat Magnetocardiograms by Using a High-TC SQUID Magnetometer System. *IEEE Trans. on Appl. Superconductivity* **21**(3), 497–500 (2011).
7. Shneyvays, V., Zinman, T. & Shainberg, A. Analysis of calcium responses mediated by the A3 adenosine receptor in cultured newborn rat cardiac myocytes. *Cell Calcium* **36**(5), 387–396 (2004).
8. Zangen, A. & Shainberg, A. Thiamine Deficiency in Cardiac Cells in Culture. *Biochemical Pharmacology* **54**(5), 575–582 (1997).
9. Gryniewicz, G., Poenie, M. & Tsien, R. Y. A new generation of Ca²⁺-indicators with greatly improved fluorescence properties. *The Journal of Biological Chemistry* **260**(6), 3440–3450 (1985).
10. Yue, D. T., Marban, E. & Wier, G. Relationship between force and intracellular [Ca²⁺] in tetanized mammalian heart muscle. *J Gen Physiol.* **87**(2), 223–242 (1994).
11. Binhi, V. N. & Savin, A. V. Effects of weak magnetic fields on biological systems. *physical aspects Phys-Usp.* **46**(3), 259 (2003).
12. Bers, D. M. cardiac excitation-contraction coupling. *Nature* **415**(6868), 198–205 (2002).
13. Antoons, G., Mubagwa, K., Nevelsteen, I. & Sipido, K. R. Mechanisms underlying the frequency dependence of contraction and [Ca²⁺]transients in mouse ventricular myocytes. *Journal of Physiology* **543**, 889–898 (2002).
14. Trafford, A. W., Díaz, M. E., Negretti, N. & Eisner, D. A. Enhanced Ca²⁺-Current and Decreased Ca²⁺-Efflux Restore Sarcoplasmic Reticulum Ca²⁺-Content After Depletion. *Circulation Research* **81**(4), 477–484 (1997).
15. De Sousa, E. *et al.* Subcellular Creatine Kinase Alterations Implications in Heart Failure. *Circulation Research* **85**(1), 68–76 (1999).
16. Barclay, J. W., Morgan, A. & Burgoyne, R. D. Calcium-dependent regulation of exocytosis. *Cell Calcium* **38**(3-4), 343–353 (2005).
17. Kaftan, E. J., Xu, T., Abercrombie, R. F. & Hille, B. Mitochondria Shape Hormonally Induced Cytoplasmic Calcium Oscillations and Modulate Exocytosis. *The Journal of Biological Chemistry* **275**, 25465–25470 (2000).
18. Pang, Z. P. & Südhof, T. C. Cell biology of Ca²⁺-triggered exocytosis. *Current Opinion in Cell Biology* **22**(4), 496–505 (2010).
19. Görlach, A., Bertram, K., Hudecova, S. & Krizanova, O. Calcium and ROS: A mutual interplay. *Redox Biology* **6**, 260–271 (2015).
20. Gordeeva, A. V., Zvyagilskaya, R. A. & Labas, Y. A. Cross-Talk between Reactive Oxygen Species and Calcium in Living Cells. *Biochemistry (Moscow)* **68**(10), 1077–1080 (2003).
21. Ermak, G. & Davies, K. J. Calcium and oxidative stress: from cell signaling to cell death. *Molecular Immunology* **38**(10), 713–721 (2002).
22. Terentyev, D. *et al.* Redox Modification of Ryanodine Receptors Contributes to Sarcoplasmic Reticulum Ca²⁺-Leak in Chronic Heart Failure. *Circ Res.* **103**(12), 1466–1472 (2008).
23. Grissom, C. B. Magnetic Field Effects in Biology: A Survey of Possible Mechanisms with Emphasis on Radical-Pair Recombination. *Chem. Rev* **95**(1), 3–24 (1995).

24. Binhi, V. N. & Savin, A. V. Effects of weak magnetic fields on biological systems: physical aspects. *Phys. -Usp* **46**(3), 259 (2003).
25. Kalmijn, A. J. Detection and Processing of Electromagnetic and Near-Field Acoustic Signals in Elasmobranch Fishes. *Philosophical Transactions: Biological Sciences* **355**(1401), 1135–1141 (2000).
26. Kramer, B. Electoreception and Communication in Fishes. *Progress in Zoology*, 42. (Gustav Fischer, 1996).
27. Yitzhaki, S., Shainberg, A., Shaked, M., Schuss, Z. & Fixler, D. Weak Magnetic Field at 16 Hz Affects Cardiac Myocyte Ca²⁺transients and Reduces Cells Damage caused by Hypoxia. *The Open Optics Journal* **5**(Suppl 1-M5), 33–39 (2011).
28. Fixler, D., Yitzhaki, S., Axelrod, A., Zinman, T. & Shainberg, A. Correlation of Magnetic AC Field on Cardiac Myocyte Ca²⁺ Transients at Different Magnetic DC Levels. *Bioelectromagnetics* **33**(8), 634–640 (2012).
29. Adler, D., Fixler, D., Scheinowitz, M., Shainberg, A. & Katz, A. Weak electromagnetic fields alter Ca²⁺-handling and protect against hypoxia-mediated damage in primary rat skeletal muscle cultures. *Pflugers Arch - Eur J Physiol* **468**(8), 1459–1465 (2016).
30. Fettiplace, R. & Fuchs, P. A. Mechanisms of hair cell tuning. *Annu. Rev. Physiol.* **61**, 809–834 (1999).
31. Fettiplace, R. Hair Cell Transduction, Tuning, and Synaptic Transmission in the Mammalian Cochlea. *Compr. Physiol.* **7**, 1197–1227 (2017).
32. Bellono, N. W., Leitch, D. B. & Julius, D. Molecular basis of ancestral vertebrate electroreception. *Nature* **543**(7645), 391–398 (2017).
33. Bentzen, B. H., Olesen, S.-P., Rønn, L. B. & Grønnet, M. BK channel activators and their therapeutic perspectives. *Frontiers in physiology* **5**, 389 (2014).
34. Borchert, G. H., Hlavackova, M. & Kolar, F. Pharmacological activation of mitochondrial BKCa channels protects isolated cardiomyocytes against simulated reperfusion-induced injury. *Experimental Biology and Medicine* **238**(2), 233–241 (2013).
35. Cordeiro, B., Terentyev, D. & Clements, R. T. BKCa channel activation increases cardiac contractile recovery following hypothermic ischemia/reperfusion. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **309**(4), 625–33 (2015).
36. Sakamoto, K. O. S. A novel opener of large-conductance Ca²⁺-activated K⁺(BK) channel reduces ischemic injury in rat cardiac myocytes by activating mitochondrial K(Ca) channel. *J Pharmacol Sci.* **108**(1), 135–9 (2008).
37. Soltysinska, E. *et al.* KCNMA1 encoded cardiac BK channels afford protection against ischemia-reperfusion injury. *PLoS One*, **9**(7) (2014).
38. Yan, Y. *et al.* Bidirectional regulation of Ca²⁺-sparks by mitochondria-derived reactive oxygen species in cardiac myocytes. *Cardiovascular Research* **77**(2), 432–441 (2007).

Teşekkür

Bu araştırmaya katkıda bulunan deneysel laboratuvarlarının kullanımı için lisansüstü öğrencisi GE'nin ve Bar Ilan Üniversitesi'nin kısmi desteğinden Tel Aviv Üniversitesi'ne teşekkür ederiz.

Yazar Katkıları

G.E. Çalışmanın tüm deneylerini yaptı ve raporladı. C.P. araştırma için orijinal fikri sağladı ve makalenin analizine ve yazılmasına katkıda bulundu.

D.F. deneylerin metodolojisine ve sonuçların analizine ve yorumlanmasına katkıda bulundu. A.S, bu deneyler için laboratuvar alanı sağladı ve deneysel süreci ve sonuçların analizini denetledi. Hepsi makalenin hazırlanmasında yardımcı oldu.

İlave bilgiler

Rekabet: Yazarlar rekabet olmadığını beyan eder.

Yayıncının notu: Springer Nature, yayınlanan planlardaki ve kurumsal ilişkilerdeki yargı talepleri konusunda tarafsız kalmaktadır.

Açık Erişim: Bu makale, asıl yazarlara ve kaynaklara uygun onuru verdiğiniz sürece, Creative Commons lisansına bir link vererek değişiklik yapıp yapılmadığını belirtmek suretiyle, herhangi bir ortamda veya formatta kullanım, paylaşım, uyarılama, dağıtım ve çoğaltmaya izin veren bir Creative Commons Attribution 4.0 Uluslararası Lisansı altında lisanslanmıştır. Bu makaledeki resimler veya diğer üçüncü taraf materyalleri, materyale aksi belirtilmedikçe, makalenin Creative Commons lisansına dâhil edilmiştir. Materyal, makalenin Creative Commons lisansına dâhil edilmemiş ve kullanım amacınıza yasal düzenlemeler tarafından izin verilmeyorsa veya izin verilen kullanımı aşıyorsa, doğrudan telif hakkı sahibinden izin almanız gerekir. Bu lisansın bir kopyasını görüntülemek için <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/> adresini ziyaret edin.

Yazar (lar) 2019