

**ВПЛИВ ЧЕРВОНОГО ТА СИНЬОГО ЕЛЕКТРОМАГНІТНОГО  
ВИПРОМІНЮВАННЯ НА КАТАЛАЗНУ АКТИВНІСТЬ ЗАРОДКІВ В'ЮНА  
*MISGURNUS FOSSILIS L.***

**О. Семочко<sup>1</sup>, А. Генегга<sup>2\*</sup>, М. Яремчук<sup>3</sup>, А. Тарновська<sup>2</sup>, В. Іванюк<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького  
вул. Пекарська, 69, Львів 79010, Україна

<sup>2</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна

e-mail: anastasiya.heneha@lnu.edu.ua; anastasiyah2@gmail.com

<sup>3</sup>Львівський національний університет ветеринарної медицини та  
біотехнологій імені С.З. Гжицького  
вул. Пекарська, 50, Львів 79010, Україна

Фотобіомодуляційна терапія широко застосовується з метою лікування різних патологічних станів. Дана терапія базується на використанні монохроматичного світлового випромінювання. Світло видимого спектру індукує різноманітні – як терапевтичні, так і токсичні – біологічні ефекти на молекулярному та клітинному рівнях. Отриманий ефект залежить від довжини хвилі випромінювання, експозиції та ін. Один із можливих механізмів цього впливу – регуляція прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу.

Для з'ясування механізму дії електромагнітного випромінювання (ЕМВ) різного спектрального складу досліджено каталазну (КАТ) активність у зародкових клітинах в'юна *Misgurnus fossilis L.* упродовж ембріогенезу, оскільки зародки в'юна є адекватною системою, яка відображає фізіологічний стан клітини як у нормальних умовах, так і у результаті впливу різноманітних фармакологічних, фізичних та хімічних агентів.

Отримані зиготи опромінювали (10 хв) синім і червоним світлодіодами ( $\lambda = 460$  та  $660$  нм відповідно). Активність КАТ визначали за здатністю гідроген пероксиду утворювати зі солями молібдену стійкий забарвлений комплекс. Встановлено, що ЕМВ червоного спектру має найбільш виражені біологічні ефекти та викликає достовірні зміни каталазної активності упродовж ембріогенезу щодо контролю та синього світла. Максимум зростання показника припадає на стадію 16 бластомерів, а на стадії 8 і 10 поділів спостерігається поступове зменшення ензиматичної активності. Світло синього спектру тривалістю 10 хв не викликало достовірних змін каталазної активності щодо контролю на ранніх етапах ембріогенезу в'юна. Отримані результати дають змогу припустити, що КАТ, один із ключових ферментів системи антиоксидантного захисту (АОЗ), піддається фотоактивації під впливом червоного світла.

*Ключові слова:* каталаза, зародки, ембріональні клітини, електромагнітне випромінювання, світлодіоди

Останніми роками для лікування різноманітних патологічних станів застосовують фотодинамічну терапію, в основі якої лежить використання монохроматичного світлового випромінювання [5]. В оториноларингології, стоматології, дерматології, кардіології, неврології та ін. виявлено фототерапевтичні ефекти низькоінтенсивного видимого світла [8].

Пошук об'єкта дослідження для встановлення можливих механізмів дії ЕМВ є актуальним питанням на сьогодні. Одним із чутливих тестів, що відображають фізіологічний стан клітини як у нормальних умовах, так і у результаті впливу різноманітних фармакологічних, фізичних та хімічних агентів [6], є розвиток зародків в'юна.

Живі організми постійно перебувають під дією активних форм кисню [13], їхній надлишок спричиняє ушкодження мембрани клітин [4, 9, 13]. Розвиткові окисного стресу протидіє система антиоксидантного захисту, у якій каталаза виконує важливу роль у знешкодженні гідроген пероксиду за його надмірної продукції [9]. Світло видимого спектру може бути модулятором біологічних процесів у живих організмах [11]. Вплив синього світла спричиняє зростання активних форм кисню у культурі фібробластів, зниження рівня експресії каталази [11], ЕМВ видимого діапазону ( $\lambda = 460$  нм та 660 нм) викликає дозозалежне зростання інтенсивності процесів ліпопероксидації зародків в'юна на різних стадіях розвитку [4, 9, 13]. Проте немає даних про наявність мішеней дії ЕМВ видимого діапазону в зародкових клітинах. Зручність і адекватність такої тест-системи, як зародки риби в'юна, зумовили доцільність її використання у дослідженні впливу ЕМВ на деякі метаболічні процеси ембріональних клітин. Відтак, є необхідність оцінити можливі регуляторні ефекти монохроматичного світла видимого діапазону нетеплових інтенсивностей щодо змін каталазної активності упродовж раннього розвитку ембріональних клітин.

#### Матеріали та методи

У ході проведених досліджень використовували яйцеклітини та зародки в'юна *Misgurnus fossilis* L. [2]. Стадії розвитку контролювали візуально під біокулярним мікроскопом МБС-9.

Отримані зиготи опромінювали синім і червоним світлодіодами ( $\lambda = 460$  та 660 нм), потужністю 1 Вт з рефлектором «Гаєн» – FC-M2-XR79-OR для фокусування випромінювання у площині. Зародки в'юна в умовах контролю та дослідів інкубували у фізіологічному розчині Гольцфретера; за умовами дослідів – опромінювали одноразово одразу після запліднення протягом 10 хв, з відбором клітин на досліджуваних стадіях. Контрольні зародки перебували в умовах опромінювання повного спектру. Тривалість експозиції становила 10 хв, зважаючи на наші попередні дослідження та ґрунтуючись на даних, отриманих авторами, фотомодуляційні ефекти випромінювання залежать від дози опромінювання. Наприклад, підвищення інтенсивності світла чи низька експозиція не мають вірогідного впливу на сомітогенез ембріонів перепела [8].

Для вивчення стану прооксидантно-антиоксидантної системи визначали АКТИВНІСТЬ КАТ у лізаті клітин (гідроген-пероксидаза: гідроген-пероксид оксидоредуктаза (КФ 1.11.1.6)).

Принцип методу базується на здатності  $H_2O_2$  утворювати зі солями молібдену стійкий забарвлений комплекс. Інтенсивність забарвлення перекисних сполук молібдену залежить від кількості  $H_2O_2$  у розчині. Каталаза, розкладаючи гідроген пероксид, зменшує інтенсивність забарвлення у зразку [3, 4].

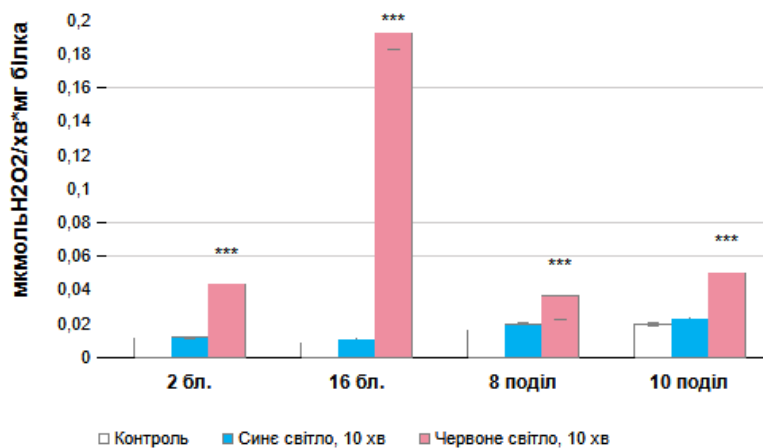
Статистичне опрацювання даних здійснювали з використанням програмного пакета для персональних комп'ютерів *Microsoft Excel*, достовірність змін встановлювали за t-критерієм Стюдента. Зокрема, визначали середнє арифметичне значення (M), стандартну похибку (m) та середнє квадратичне відхилення ( $\sigma$ ). Критичні рівні достовірності під час перевірки статистичних гіпотез у дослідженнях відповідали значенням 0,95, 0,99 та 0,999.

### Результати і їхнє обговорення

За дії ЕМВ синього спектру тривалістю 10 хв не спостерігали достовірних змін каталазної активності щодо контролю на ранніх етапах ембріогенезу в'юна, стадіях 2, 16 бластомерів і 8 (256 бластомерів) та 10 (1024 бластомери) поділу (див.рисунок). Не виключеним є прояв інгібуючого впливу синього світла на каталазну активність зародків в'юна, оскільки у літературі описано зниження рівня експресії КАТ у культурі фібробластів людини через 24 год після опромінення (453 нм, 80 Дж/см<sup>2</sup>), тоді як через 1 та 4 год зміни були недостовірними [11]. Синє світло, залежно від інтенсивності випромінювання, виявляє вірогідний стимулюючий (за інтенсивності світлового потоку 0,1 мВт/см<sup>2</sup>) і пригнічуючий (1 мВт/см<sup>2</sup>) вплив на ембріональний розвиток перепела, більш виражені стимулюючі ефекти спостерігали за зниженої температури [8]. На відміну від синього, червоне монохроматичне світло спричиняло достовірне зростання ензиматичної активності на всіх досліджуваних стадіях розвитку зародків. Очевидно, що отримані зміни можуть бути спричинені фотоактивацією чи інгібуванням активності каталази ЕМВ різного діапазону, а також зростанням рівня гідроген пероксиду та процесів перекисного окиснення ліпідів.

Світло у видимій ділянці спектру поглинається переважно хроматофорними групами білкових молекул і частково киснем, тому гемоглобін, меланін та мідь- і залізовмісні ферменти (КАТ, супероксиддисмутаза), ферменти окисно-відновного циклу, цитохроми, пігменти й інші речовини можуть бути мішенями ЕМВ [1].

У змінах каталазної активності зародків в'юна на ранніх етапах розвитку за дії червоного ЕМВ встановлено певну закономірність: максимум зростання показника припадає на стадію 16 бластомерів, а на наступних стадіях спостерігається поступове зменшення активності ензиму. Це може вказувати на розвиток адаптаційних процесів у зародках, а також може пояснюватися підвищенням концентрації гідроген пероксиду на фоні загальної інтенсифікації процесів ліпопероксидації [13]. Аналогічні результати спостерігали у попередніх наших дослідженнях, за дії світла синього та зеленого діапазону тривалістю 20 хв [4, 9, 13].



Каталазна активність у зародках в'юна за впливу червоного та синього ЕМВ порівняно з контролем

У скелетних м'язах ембріонів бройлерів, інкубованих за дії синього світла, спостерігали зростання активності ферментів АОЗ, зокрема і КАТ, а також зниження рівня малонового діальдегіду [12].

Виражене зростання активності КАТ спостерігали у клітинах 38-год перепелиних ембріонів за дії монохроматичного червоного світла LED ( $\lambda = 630 \div 650$  нм) протягом 180 с під час інкубації, порівняно з дією низькоінтенсивного електромагнітного випромінювання надвисокочастотного діапазону (стандарту GSM 900 МГц), що вказує на протективні властивості й антиоксидантні ефекти ЕМВ [7, 14]. У скелетних м'язах ембріонів бройлерів, інкубованих за дії червоного світла, спостерігали протилежні ефекти, зниження активності ферментів АОЗ, зокрема, і КАТ на фоні зростання рівня малонового діальдегіду [12], що може корелювати зі стадією розвитку і тривалістю експозиції під час інкубації. Один із імовірних механізмів активації КАТ є фотоакцепція ферменту внаслідок поглинання ним енергії випромінювання, що спричиняє його перехід в активний стан, і активація системи антипероксидного захисту [1].

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Пантьо В. В., Ніколайчук В. І., Пантьо В. І. Вплив низькоінтенсивного лазерного випромінювання на біологічні об'єкти та чутливість мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів // Фотобіологія та фотомедицина. 2010. Т. 7. № 1–2. С. 80–87. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/Ftf\\_2010\\_7\\_1-2\\_19](http://nbuv.gov.ua/UJRN/Ftf_2010_7_1-2_19)
2. Семочко О., Бура М., Мандзинець С. Морфологічні зміни зародків та личинок в'юна *Misgurnus fossilis* L. за дії світлодіодів із синім типом світла // Вісн. Харків. ун-ту. Біофіз. вісн. 2010. Вип. 24. № 1. С. 103–110.
3. Семочко О. М., Мандзинець С. М., Бура М. В. Вплив випромінювання синього та зеленого спектра на процеси ліпопероксидації зародків в'юна // Фізика живого. 2011. Т. 19. № 2. С. 24–31.
4. Семочко О. М., Яремчук М. М. Зміни ферментативної активності супероксиддисмутази та каталази ембріональних клітин в'юна як індикатори впливу монохроматичного світла // Клінічна фармація в Україні та світі: Матеріали Всеукр. наук.-практ. Internet-конф. з міжнарод. участю, присв. 30-річчю заснування кафедри клін. фармакології та клін. фармації НФаУ (16–17 березня 2023 р., м. Харків). Харків, 2023. С. 164–165. [https://clinpharm.nuph.edu.ua/wp-content/uploads/2023/04/tezi\\_kf\\_30\\_rokiv\\_2023.pdf](https://clinpharm.nuph.edu.ua/wp-content/uploads/2023/04/tezi_kf_30_rokiv_2023.pdf)
5. Сімонова Л. І., Герман В. З. Перспективи застосування фотометричних технологій для лікування місцевих променевих ушкоджень // Журн. укр. радіол. 2008. № 16. С. 455–460.
6. Целевич М. В., Мандзинець С. М., Санагурський Д. І.  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  –АТФ-азна активність мембран зародків в'юна *Misgurnus fossilis* L. при дії антибіотиків // Фізіол. журн. 2004. Т. 50. № 5. С. 64–68.
7. Цибулін О. С., Якименко І. Л., Сидорук Є. П. Захисний ефект монохроматичного червоного світла LED від оксидативної дії надвисокочастотного електромагнітного випромінювання // Доп. НАН України. 2016. № 4. С. 118–124. <http://jnas.nbuv.gov.ua/uk/article/UJRN-0000814810>
8. Якименко І. Л., Цибулін О. С. Регуляторна дія низькоінтенсивного видимого світла на сомітогенез птиці // Доп. НАН України. 2007. № 2. С. 163–167.
9. Яремчук М. М., Семочко О. М., Генеза А. Б. Вміст вторинних продуктів ліпопероксидації у зародках в'юна за впливу мікрохвильового випромінювання // Експеримент. та клін. фізіологія і біохімія. 2020. Вип. 2 (90). С. 30–35. [https://web.archive.org/web/20201210121957id\\_/http://ecpb.org.ua/pdf/90/2/90.02.030.pdf](https://web.archive.org/web/20201210121957id_/http://ecpb.org.ua/pdf/90/2/90.02.030.pdf)
10. Evans W. H. Preparation and characterization of mammalian plasma membranes. Amsterdam; N.Y.; Cambridge: North-Holland Publ. Co., 1980. P. 177–183.

11. *Krassovka J. M., Suschek C. V., Prost M.* The impact of non-toxic blue light (453 nm) on cellular antioxidative capacity, TGF- $\beta$ 1 signaling, and myofibroblastogenesis of human skin fibroblasts // *J. Photochem. Photobiol. B: Biology*. 2020. Vol. 209. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1011134420304024>
12. *Li Jie Li Jie, Yang Xiu Juan, Yang Xiu Juan.* Effect of monochromatic light on antioxidative capacity of skeletal muscle in broiler during late-embryonic stage // *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*. 2018. Vol. 49. N 9. P. 1998–2004 ref. 26
13. *Tarnovska A., Heneha A., Semochko O, Yaremchuk M.* Free Radical Processes in Cold-Blooded and Warm-blooded Animals under the Action of Physico-Chemical Factors // *Ekologia w dyskursie. Wokół Animal Studies*. Wieloautorska praca monograficzna pod redakcją Daniela Kalinowskiego i Sebastiana Szmyjdy. Słupsk: Wydawnictwo Naukowe Akademii Pomorskiej w Słupsku, 2023. 271–293 st.
14. *Tsybulin O, Sidorik E., Kyrylenko S.* Monochromatic red light of LED protects embryonic cells from oxidative stress caused by radiofrequency radiation // *Oxid. Antioxid. Med. Scie*. 2016. Vol. 5. N 1. P. 1–7. <https://www.ejmoams.com/abstract/monochromatic-red-light-of-led-protects-embryonic-cells-from-oxidative-stress-caused-by-radiofrequency-radiation-47752.html>

Стаття надійшла до редакції 13.06.24

доопрацьована 23.09.24

прийнята до друку 25.09.24

## THE INFLUENCE OF RED AND BLUE ELECTROMAGNETIC RADIATION ON THE CATALASE ACTIVITY OF *MISGURNUS FOSSILIS* L.

O. Semochko<sup>1</sup>, A. Heneha<sup>2\*</sup>, M. Yaremchuk<sup>3</sup>, A. Tarnovska<sup>2</sup>, V. Ivanyuk<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Danylo Halytsky Lviv National Medical University  
69, Pekarska St., Lviv 79010, Ukraine*

<sup>2</sup>*Ivan Franko Lviv National University  
4, Hrushevskyyi St., Lviv 79005, Ukraine*

*e-mail: anastasiya.heneha@lnu.edu.ua; anastasiyah2@gmail.com*

<sup>3</sup>*Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine  
and Biotechnologies of Lviv  
50, Pekarska St., Lviv 79010, Ukraine*

Photobiomodulation therapy is widely used to treat various pathological conditions. This therapy is based on the use of monochromatic light radiation. The light of the visible spectrum induces different biological effects at the molecular and cellular levels, both therapeutic and toxic. The obtained effect depends on the length of radiation, exposure, etc. One of the possible mechanisms of such influence is the regulation of pro-oxidant-antioxidant homeostasis.

In order to clarify the mechanism of action of electromagnetic radiation (EMR) of different spectral composition, catalase (CAT) activity was investigated in germ cells of loach *Misgurnus fossilis* L. during embryogenesis. Since, loach embryos are an adequate system that reflects the physiological state of the cell both under normal conditions and as a result of the influence of various pharmacological, physical and chemical agents.

The resulting zygotes were irradiated (10 min) with blue and red LEDs ( $\lambda = 460$

and 660 nm, respectively). The activity of CAT was determined by the ability of hydrogen peroxide to form a stable colored complex with molybdenum salts. It was established that EMR of the red spectrum has the most pronounced biological effects and caused significant changes in catalase activity during embryogenesis relative to control and blue light. The maximum increase of the indicator occurs at the stage of 16 blastomeres, and at the stage of 8 and 10 divisions, a gradual decrease in enzymatic activity is observed. Irradiation by the light of the blue spectrum lasting 10 min did not cause significant changes in catalase activity relative to the control at the early stages of loach embryogenesis. The obtained results suggest that CAT, one of the key enzymes of the antioxidant defense system, undergoes photoactivation under the influence of red light.

*Keywords:* catalase, embryos, embryonic cells, electromagnetic radiation, LEDs