

ОСОБЛИВОСТІ ГІДРОЛІЗУ АТФ Na^+ , K^+ -АТФ-азою МЕМБРАН ЗАРОДКІВ В'ЮНА ЗА ДІЇ ВИПРОМІНЮВАННЯ ЧАСТОТИ МОБІЛЬНОГО ЗВ'ЯЗКУ

М. Яремчук, С. Мандзинець, М. Бура, Н. Гарасим, Д. Санагурський

Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна

e-mail: manisvit@gmail.com

Досліджено кінетику гідролізу АТФ Na^+ , K^+ -АТФ-азою мембран зародків в'юна після одноразового опромінення мобільним телефоном тривалістю 5 та 20 хв. Виявлено інгібуючий вплив мікрохвильового електромагнітного випромінювання на гідролітичну активність ферменту за умовно безконкурентним типом інгібування. Зміни кінетичних параметрів АТФ-ази вказують на залежність кінетики гідролізу від стадії розвитку зародка та тривалості опромінення, однак достовірної дозозалежності таких змін від тривалості опромінення мобільним телефоном не встановлено. Загалом опромінення сприяє зростанню спорідненості Na^+ , K^+ -АТФ-ази до субстрату, а зниження максимальної швидкості свідчить про зміни у каталітичному центрі ферменту.

Ключові слова: зародки в'юна, Na^+ , K^+ -АТФ-аза, мікрохвильове випромінювання, константа Міхаеліса, максимальна швидкість.

Електромагнітне випромінювання (ЕМВ) – це сукупність усіх змінних станів електричного і магнітного полів, які поширюються у вигляді хвиль. Одним з потужних джерел електромагнітного випромінювання в останні десятиріччя є системи мобільного зв'язку [12]. Відомо, що стільникова радіотелефонія є сьогодні однією з найбільш розвинутих телекомунікаційних систем. Наразі тільки в Україні нараховується більше 50 мільйонів абонентів, які користуються послугами цього виду рухомого (мобільного) зв'язку. Вітчизняні оператори мобільного зв'язку використовують системи стандартів GSM – 900: діапазон робочих частот базових станцій 925–965 МГц, мобільних радіотелефонів – 890–915 МГц та стандарту GSM – 1800: - 1805–1880 МГц, 1710–1785 МГц відповідно [7].

Показано, що мікрохвильове випромінювання низької інтенсивності може зумовлювати як прискорення, так і сповільнення біохімічних реакцій [2]. В обох випадках це спричиняє порушення нормального функціонування живого організму та може викликати ті чи інші захворювання [20, 22, 23, 25, 27].

В якості маркера негативної дії ЕВМ, який відображає структурні перебудови мембрани і цитоскелету клітин обрано інтегральний білок – Na^+ , K^+ -АТФаза [10, 11, 14]. Цей фермент ліпідзалежний, а його активність в значній мірі визначається мікрооточенням і залежить від фазового стану ліпідного матриксу [17]. Зміна активності цього ферменту призводить до зміни вмісту основних метаболітів, зокрема АТФ, що є фактором функціональної активності і цілісності клітини [5]. Окрім того даний фермент можна використовувати як модель для з'ясування механізму реалізації впливу фізичних і хімічних факторів середовища. Зокрема, у роботах Горшкової та співавт. (1998) показано, що близькоспоріднені сполуки можуть мати різний механізм інгібування Na^+ , K^+ -АТФази [19]. Попередньо встановлено, що електромагнітне випромінювання, частотою мобільного зв'язку 900 МГц, пригнічує активність Na^+ , K^+ -АТФази [14]. Таким чином, метою нашого дослідження було вивчення особливостей гідролізу АТФ Na^+ , K^+ -АТФазою зародкових клітин за впливу електромагнітного випромінювання частотою 900 МГц.

Методи та матеріали

Для отримання зародків прісноводної риби в'юна *Misgurnus fossilis* L., овуляцію стимулювали внутрішньом'язовим введенням самкам хоріонічного гонадотропіну (500 од). Ікру одержували через 36 год після стимуляції та запліднювали у чашках Петрі суспензією спермій за Нейфахом [9]. Сім'яники отримували після декапітації та розтину черевної порожнини самців. Через 5–10 хв після запліднення зиготи відмивали та інкубували у фізіологічному розчині Гольтфретера при температурі 20–22°C. Стадії розвитку зародків контролювали візуально бінокулярним мікроскопом МБС-9.

Отримані зиготи піддавали опроміненню на частотах мобільного зв'язку 900 МГц. Опромінювали одноразово відразу після запліднення протягом 5 та 20 хв з наступним відбором зародків на досліджуваних стадіях. Як джерело мікрохвильового випромінювання використовували мобільний телефон, що перебував у режимі розмови та містився над чашками Петрі на відстані 3 см. Частота випромінювання становила 900 МГц. Рівень питомого коефіцієнту поглинання електромагнітної енергії (Specific Absorption Rate - SAR), згідно з паспортом телефону, становить 1,1 Вт/кг.

Дослідження проводили на зародках в'юна *Misgurnus fossilis* L. через 60, 210, 330 хв після запліднення яйцеклітин під час стадій, які відповідають першому поділу зиготи (2 бластомери), шостому (64 бл.), десятому (1024 бл.). Мікросомну фракцію мембран одержували методом диференційного центрифугування гомогенату зародків у градієнті густини сахарози [8]. Реакцію проводили шляхом додавання аліквоти суспензії мембранного препарату мікросомної фракції (10 мкл) в стандартне середовище інкубації, яке містило (ммоль/л): NaCl –30,0; KCl –125,0; MgCl_2 – 3,0; трис- Cl – 50,0 (pH=7,4; t= 20°C). Для оцінки

кінетичних параметрів реакцію ініціювали додаванням АТФ у концентраціях 0,1, 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5 та 3 ммоль/л та інкубували 15 хв при $t=23^{\circ}\text{C}$, а зупиняли додаванням 10% ТХО. Na^+ , K^+ -АТФазну активність визначали за різницею між вмістом P_i у стандартному безкальцієвому середовищі при додаванні та за відсутності оубаїну (1 ммоль/л).

Питому активність Na^+ , K^+ -АТФазної системи досліджуваних клітин оцінювали за різницею між кількістю P_i , що утворився в середовищі інкубації за наявності та відсутності фрагментів мембран, з урахуванням поправки на вміст ендogenous P_i в мембранному препараті й виражали в мкмольях P_i у перерахунку за год на 1 мг білка. Кількість продукту реакції P_i визначали за модифікованим методом Фіске-Суббароу [26], а вміст білка в суспензії мембранного препарату – за методом Лоурі [28].

Статистичне опрацювання даних здійснювали з використанням програмного пакета для персональних комп'ютерів Microsoft Excel, достовірність змін встановлювали за t -критерієм Стьюдента, константу Міхаеліса K_m та максимальну швидкість V_{\max} розраховували застосовуючи регресійний аналіз [4].

Результати і їхнє обговорення

Епідеміологічні дослідження вказують, що для прояву негативних наслідків для здоров'я людини вагомий вплив має довготривале опромінення електромагнітним випромінюванням систем мобільного зв'язку. Разом з тим деякі модельні дослідження демонструють виражену негативну дію короткотривалого випромінювання мобільних телефонів на біологічні системи. Виявлено, що вплив випромінювання стандартної моделі мобільного телефону з експозицією одна година на зразки сперми людини призводить до достовірного пониження рухливості спермій і зростанню рівня активних форм кисню в них [12]. Показано, що дія ЕМВ призводить до утворення глію [14, 27]. Дослідник Gos та ін. (2000 р.) опромінювали культуру дріжджів в діапазоні хвиль 900 МГц і вивчили їхній генотоксичний потенціал. Інші дослідження стверджують, що ними не було виявлено мутагенного і рекомбінантного ефектів [18]. Довготривалий сумісний вплив електромагнітного поля 900 МГц та Cs-137 призводять до зниження здатності розмноження щурів унаслідок зменшення кількості живих плодів у приплоді, зростання загальної загибелі ембріонів та порушення параметрів фізичного розвитку потомства. Виявлені у деяких самиць новоутворення (переважно в ділянці кишківника) можуть бути віднесені до канцерогенної дії досліджуваних факторів [1].

Є кілька моделей впливу ЕМВ на біологічні системи [16, 21, 24, 29, 30]. Необхідно відзначити модель взаємодії неіонізуючого ЕМВ з рухомими електричними зарядами [24], що базується на дії саме магнітної компоненти ЕМВ. У клітині рух електричних зарядів може бути пов'язаний із певною біологічною функцією, що може призводити до змін унаслідок дії ЕМВ. Експериментально це показано на таких ферментах як Na^+ , K^+ -АТФ-аза і

цитохромоксидаза, зміни електричних потоків яких були пропорційні індукованому магнітному полю [21, 24].

Для з'ясування різних аспектів впливу мікрохвильового ЕМВ досліджено зміни кінетики гідролізу АТФ Na^+ , K^+ -АТФ-азою за експозиції 5 та 20 хв на різних стадіях синхронних поділів.

Встановлено, що на стадії 2 бластомерів за дії досліджуваного чинника тривалістю 5 та 20 хв кінетика гідролізу АТФ ферментом змінювалась у порівнянні з контролем (рис. 1, а). У контролі активність ферменту зі збільшенням субстрату (до 3 мМ АТФ) наростала до рівня $11,6 \pm 0,78$ мкмоль P_i /год-мг білка [11], тоді як після опромінення зародків за експозицій 5 та 20 хв, активність Na^+ , K^+ -АТФ-ази за цих умов становила $5,4 \pm 0,18$ та $2,9 \pm 0,15$ мкмоль P_i /год-мг білка, відповідно ($p > 0,95$, $n = 7$).

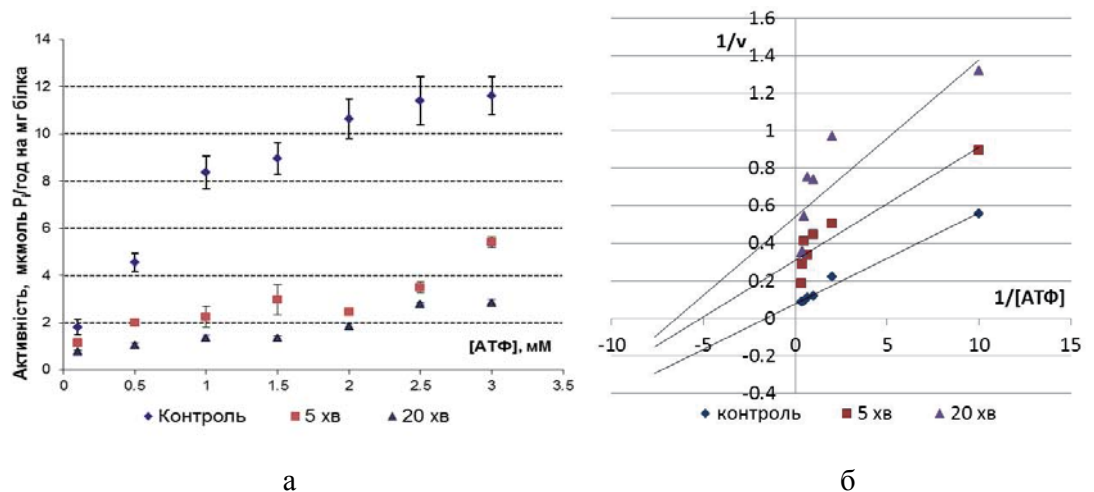


Рис. 1. Залежність активності Na^+ , K^+ -АТФ-ази мембран зародків в'юна від концентрації субстрату (АТФ) на стадії 2 бластомерів за дії ЕМВ (а) та кінетичний аналіз у координатах Лайнуївера-Берка (б).

Відмічено зміни характеру наростання ферментативної активності: для контрольних зразків залежність активності ензиму від концентрації субстрату характеризувалась стрімким наростанням у діапазоні концентрації субстрату від 0,1 до 2 мМ АТФ, а для опромінених зразків таке наростання відсутнє (рис. 1, а).

Для визначення кінетичних параметрів проведено лінеаризацію отриманих залежностей у координатах Лайнуївера-Берка (рис. 1, б) [6, 11]. За результатами регресійного аналізу встановлено основні кінетичні параметри, такі як K_m та V_{max} (табл. 1). Аналіз показав, що абсолютні значення K_m та V_{max} знижуються, що є характерною ознакою безконкурентного типу інгібування ферменту [6]. Зокрема, зниження значень максимальної швидкості та константи Міхаеліса для опромінених зразків вказує, що вплив ЕМВ реалізується через зміну функціонування ділянок зв'язування субстрату з ензимом і каталітичного центру [6]. Однак

тривалість опромінення істотноше впливає на такий параметр, як V_{max} , ніж на зміну K_m . Оскільки реального зв'язування квантів ЕМВ з ферментом бути не може, тому даний тип інгібування є умовним.

Таблиця 1

Кінетичні параметри гідролізу АТФ на стадії 2 бластомерів
($p > 0,95$ для лінійної регресії)

Кінетичні параметри	Контроль	5 хв	20 хв
K_m , мМ	0,61	0,20	0,15
V_{max} , мкмоль Р/год·мг білка	12,63	3,23	1,84

На стадії 64 бластомерів після опромінення тривалістю 5 хв активність ензиму (рис. 2, а) за наявності у середовищі інкубації найвищої досліджуваної концентрації АТФ (3 мМ), становила $8,4 \pm 0,10$ мкмоль Р/год·мг білка, а після опромінення ферменту тривалістю 20 хв – $9,1 \pm 0,20$ мкмоль Р/год·мг білка.

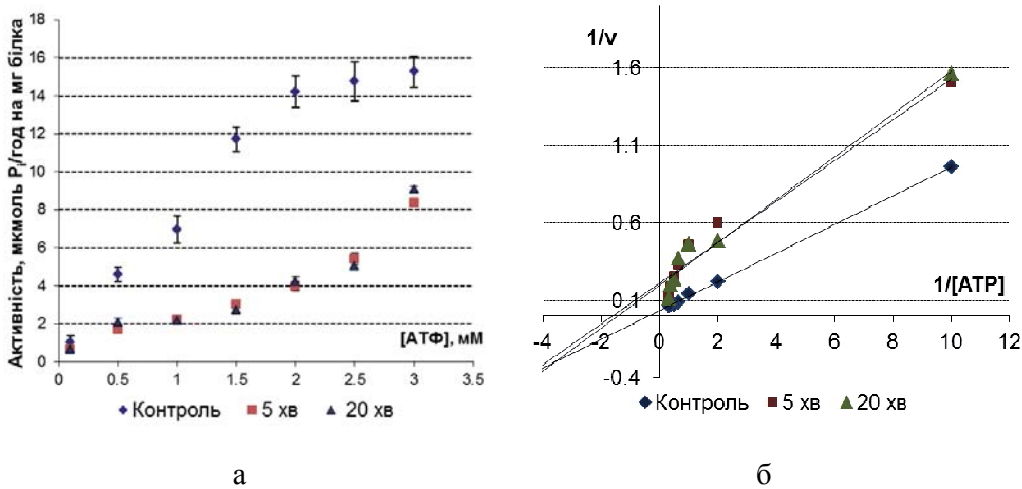


Рис. 2. Залежність активності Na^+ , K^+ -АТФ-ази мембран зародків в'юна від концентрації субстрату (АТФ) на стадії 64 бластомерів за дії ЕМВ (а) та кінетичний аналіз у координатах Лайнуівера-Берка (б).

Загалом характер змін активності ферменту від концентрації субстрату після опромінення тривалістю 5 та 20 хв співпадають і достовірної різниці між ними немає. Однак отримані криві залежностей мають подібний перегин як у контролі (у діапазоні концентрацій АТФ (0,5–1,5 мМ)), проте він зсунутий у бік більшої концентрації АТФ (1–2 мМ), і менш виражений (рис. 2, а).

Аналіз кінетичних параметрів гідролізу ферментом на цій стадії розвитку після опромінення ЕМВ впродовж 5 та 20 хв встановив відмінність K_m і V_{max} у порівнянні з контролем та відсутність різниці досліджуваних показників за різної тривалості опромінення. У опроміненних зразках K_m становила – 0,63 та 0,71 мМ, а максимальні швидкості V_{max} – 4,74, та 5,12 мкмоль P_i /год·мг білка, відповідно (табл. 2). У порівнянні з попередньою стадією розвитку виявлено зростання досліджуваних параметрів.

Таблиця 2

Кінетичні параметри гідролізу АТФ на стадії 64 бластомерів

Кінетичні параметри	Контроль	5 хв	20 хв
K_m , мМ	2,90	0,63	0,71
V_{max} , мкмоль P_i /год·мг білка	31,12	4,74	5,12

На стадії 10 поділу бластомерів (рис. 3) за наявності у середовищі інкубації 3 мМ АТФ активність Na^+ , K^+ -АТФ-ази становить $4,84 \pm 0,23$ і $5,03 \pm 0,06$ мкмоль P_i /год·мг білка після опромінення 5 і 20 хв відповідно.

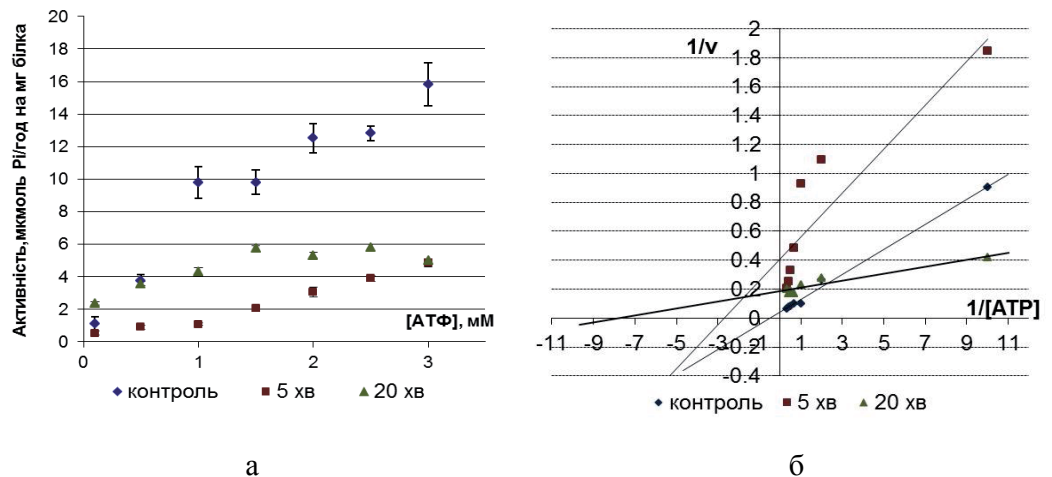


Рис. 3. Залежність активності Na^+ , K^+ -АТФ-ази мембран зародків в'юна від концентрації субстрату (АТФ) на стадії 10 поділу бластомерів за дії ЕМВ (а) та кінетичний аналіз у координатах Лайнуівера-Берка (б).

Цікавим був факт, що крива залежності активності ферменту від концентрації АТФ (0,1÷2 мМ) після опромінення тривалістю 5 хв має протилежний вигин у порівнянні з кривою залежності активності ензиму після опромінення впродовж 20 хв, у діапазоні концентрацій АТФ. Однак, за наявності у середовищі інкубації АТФ у концентрації 3 мМ активність ферменту була однаковою в обох випадках.

Лінеаризація залежності активності Na^+ , K^+ -АТФ-ази мембран зародків в'юна від концентрації АТФ на стадії 10 поділу бластомерів у координатах Лайнуівера–Берка та застосування засобів лінійної регресії дозволили розрахувати кінетичні параметри (табл. 3). Встановлено, що K_m для ферменту після опромінення тривалістю 5 хв становить 0,37, а після 20 хв – 0,13 мМ, тоді як в контролі – 2,00 мМ. Константа Міхаеліса зменшувалась у порівнянні з попередньою стадією, зокрема після опромінення протягом 20 хв це зменшення більш виражено. Тоді як V_{max} навпаки залишилась практично без змін – 5,38 мкмоль Р/год·мг білка, і зменшилась у двічі після опромінення тривалістю 5 хв – 2,44 мкмоль Р/год·мг білка (табл. 3).

Таблиця 3

Кінетичні параметри гідролізу АТФ на стадії 10 поділу

Кінетичні параметри	Контроль	5 хв	20 хв
K_m , мМ	2,00	0,37	0,13
V_{max} , мкмоль Р/год·мг білка	23,07	2,44	5,38

Отримані результати свідчать, що кінетика гідролізу АТФ ферментом змінюється залежно від стадії розвитку зародків в'юна. Зокрема, у контролі знижується спорідненість ферменту до АТФ (K_m зростає від 0,61 до 2,00 мМ). Після опромінення тривалістю 5 та 20 хв спорідненість ферменту до субстрату спочатку зростає (K_m – 0,20 та 0,15, відповідно) (табл. 1), знижується на стадії 64 бластомерів (K_m – 0,63 та 0,71, відповідно) (табл. 2) та зростає на останній досліджуваній стадії розвитку (табл. 3). Це, в свою чергу, може вказувати на залежність спорідненості АТФ-гідролази до субстрату від стадії розвитку. Проте опромінення тривалістю 20 хв приводить до зростання спорідненості ферменту до АТФ майже удвічі у порівнянні з п'ятихвилинним опроміненням (K_m – 0,13 і 0,37, відповідно). Зниження максимальних швидкостей гідролізої реакції свідчить про зміни у каталітичному центрі Na^+ , K^+ -АТФ-ази внаслідок опромінення. Достовірного дозозалежного впливу тривалості опромінення мобільним телефоном на зміну кінетичних параметрів не встановлено.

Для пояснення механізму умовного безконкурентного типу інгібування можна запропонувати щонайменше три гіпотези механізму реалізації впливу ЕМВ на досліджуваний фермент зародків:

1. Відомо, що вплив ЕМВ призводить до порушення будови ДНК, унаслідок чого порушується біосинтез білка і синтезується змінений фермент [16]. Враховуючи, що клітини зародків піддавались впливу ЕМВ у цілісному стані, досліджувані порушення у функціонуванні Na^+ , K^+ -АТФ-ази можуть бути наслідком балансу між пошкодженням ДНК,

подальшим процесом синтезу ферменту та процесами репарації ДНК.

2. Функціональна стабільність Na^+ , K^+ -АТФази мембран зародків залежить від ліпідного оточення [3]. Інтенсифікація процесів перекисного окислення ліпідів викликає пригнічення активності даного ферменту [17]. У роботах Яремчук М.М. та співробітників встановлено підвищення кількості малонового діальдегіду в опромінених зародках в'юна, тому інтенсифікація перекисного окислення ліпідів [15] призводить до порушень ліпідного оточення ферменту, які у свою чергу впливають на гідроліз субстрату ферментом.

3. Як і кожен фермент, Na^+ , K^+ -АТФаза чутлива до дії таких екзогенних факторів як: рН, температура, концентрація АТФ тощо. Ці фактори впливають на фермент на рівні як самого каталітичного циклу, так і на функціональну організацію АТФ-ази. Згідно «біофізичної моделі» взаємодії електромагнітного поля та клітини через появу «силових вібрацій», які діють з боку електромагнітного поля на вільні іони на поверхні плазматичної мембрани, коливання зарядів на поверхні мембрани в зовнішньому електромагнітному полі можуть бути певними сигналами для подальшої поведінки живої системи [30]. Не виключено, що сам фермент, поглинаючи енергію ЕМВ, здатний змінювати власну конформацію та взаємодію з іонами, що призводить до змін у конформації та порушень його каталітичної активності, і проявляється у зміні кінетичних параметрів гідролізу АТФ.

Отже, гідроліз АТФ Na^+ , K^+ -АТФазою мембран зародків в'юна змінюється залежно від стадії розвитку та тривалості опромінення, однак достовірної дозозалежності таких змін від тривалості опромінення мобільним телефоном не встановлено. Загалом опромінення сприяє зростанню спорідненості Na^+ , K^+ -АТФази до субстрату, а зниження максимальної швидкості свідчить про зміни у каталітичному центрі ферменту, проте спосіб реалізації поглинутої енергії потребує подальшого дослідження.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Андрієнко Л. Г., Уманський В. Ю. Сумісний вплив електромагнітного поля 900 МГц та іонізуючого випромінювання на ембріогенез білих щурів при довготривалій їх дії до вагітності // Гігієна населених місць. 2011. № 58. С. 212–216.
2. Баран Б. А., Березюк О. Я., Голонжжа В. М. Екологія людини та мобільний зв'язок // Вісн. Вінниц. політех. ін-ту. 2006. № 5. С. 55–58.
3. Гойда Е. А., Медына И. Р., Чабан В. В. и др. Роль активности Na^+/K^+ -АТФ-азы и уровня рН в регуляции ионной проводимости мембран эмбриональных клеток // Цитология. 1990. Т. 32. № 9. С. 924–925.
4. Деркач М. П., Гумецький Р. Я., Чабан М. Е. Курс варіаційної статистики. К.: Вища шк., 1977. 208 с.

5. Доценко О. І., Конюхова Н. Р., Трощинська Я. О. Регуляція структурного стану білків цитоскелету еритроцитів при дії на них низькочастотної вібрації // Вісн. Донецьк. ун-ту. Сер. А: Природничі науки. 2013. № 1. С. 149–156.
6. Келети Т. Основы ферментативной кинетики: Пер. с англ. М.: Мир, 1990. 350 с.
7. Крушевський Ю. В., Кравцов Ю. І., Бородай Я. О. Вплив електромагнітного випромінювання пристроїв стільникового зв'язку на людину // Наук. праці ВНТУ. 2008. № 1. С. 1–6.
8. Луцык М. Д., Кусень С. И., Лукьяненко А. В. Очистка и частичная характеристика плазматических мембран клеток зародышей вьюна // Онтогенез. 1986. Т. 17. № 3. С. 314–321.
9. Нейфах А. Е. Молекулярная биология процессов развития. М.: Наука, 1977. 311 с.
10. Семочко О. М., Мандзинець С. М., Бура М. В. та ін. Аналіз впливу синього світла на активність Na^+ , K^+ -залежної, Mg^{2+} -активованої АТФази плазматичних мембран зародків в'юна // Експериментальна і клінічна фізіологія і біохімія. 2011. № 4. С. 25–33.
11. Целевич М. В., Мандзинець С. М., Санагурський Д. І. Кінетичні характеристики Na^+ , K^+ -АТФази клітин зародків в'юна // Вісн. Харків. ун-ту. Сер. біофізичний вісник. 2008. Вип. 1 (20). С. 28–36.
12. Якименко И. Л., Хеншель Д., Сидорик Е. П. та ін. Влияние электромагнитного излучения мобильного телефона на сомитогенез птицы // Доп. НАН України. 2011. № 1. С. 146–152.
13. Яремкевич О. С., Санагурський Д. І. Зміни мембранного потенціалу у зародків шпорцевої жаби (*xenopus laevis*) після впливу електромагнітних та постійних магнітних полів // Біологія тварин. 2007. Т. 9. № 1–2. С. 217–223.
14. Яремчук М. М., Мандзинець С. М., Дика М. В. та ін. Зміна ферментативної активності Na^+ , K^+ -АТФази зародків в'юна за впливу мікрохвильового випромінювання // Біофіз. вісн. 2013. Вип. 30 (2). С. 95–101.
15. Яремчук М., Дика М., Санагурський Д. Процеси ліпопероксидації зародків в'юна за впливу мікрохвильового випромінювання // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2014. Вип. 64. С. 82–89.
16. Яремчук М. Вплив електромагнітного випромінювання радіочастотного діапазону на біологічні об'єкти // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2014. Вип. 65. С. 34–49.
17. Arkhipenko Yu. V., Meerson F. Z., Sazontova T. G., Kagan V. E. Mode of lipid peroxidation-induced inhibition of Na, K-ATPase // Acta Physiol. Pharmacol. Bulg. 1985. Vol. 11. N 1. P. 70–78.
18. Bormusov E., Dovrat A. Effects of electromagnetic radiation on intact bovine lens epithelium

- in culture conditions // Actual problems of transport medicine. 2005. N 1. P. 90–94.
19. *Gorshkova I. A., Kalinin V. I., Gorshkov B. A., Stonik V. A.* Two different modes of inhibition of the rat brain Na,K-ATPase by triterpene glycosides, psolusosides A and B from the holothurian *Psolus fabricii* // Comp. Biochem. Physiol. C Pharmacol. Toxicol. Endocrinol. 1999. Vol. 122. N 1. P. 101–108.
 20. *Balci M., Devrim E., Durak I.* Effects of mobile phones on oxidant/antioxidant balance in cornea and lens of rats // Curr. Eye Res. 2007. Vol. 32. N 1. P. 21–25.
 21. *Blank M., Soo L.* Electromagnetic acceleration of electron transfer reactions // J. Cell Biochem. 2001. Vol. 81. N 2. P. 278–283.
 22. *Dasdag S., Ketani M. A., Akdag Z. et al.* Whole-body microwave exposure emitted by cellular phones and testicular function of rats // Urol. Res. 1999. Vol. 27. N 3. P. 219–223.
 23. *Desai N. R., Kesari K. K., Agarwal A.* Pathophysiology of cell phone radiation: oxidative stress and carcinogenesis with focus on male reproductive system // Reprod. Biol. Endocrinol. 2009. Vol. 7. N 1. P. 114–122.
 24. *Goodman R., Blank M.* Insights into electromagnetic interaction mechanisms // J. Cell Physiol. 2002. Vol. 192. N 1. P. 16–22.
 25. *Goodman R., Henderson A. S.* Exposure of salivary gland cells to low-frequency electromagnetic fields alters polypeptide synthesis // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1988. Vol. 85. N 11. P. 3928–3932.
 26. *Fiske C. H., Subbarow Y.* The colorimetric determination of phosphorus // J. Biol. Chem. 1925. Vol. 66. P. 375–400.
 27. *Hardell L., Carlberg M., Söderqvist F., Mild K. H.* Long-term use of cellular phones and brain tumours: increased risk associated with use for > or =10 years // Occup. Environ. Med. 2007. Vol. 64. N 9. P. 626–632.
 28. *Lowry O. H., Rosebrough N. G., Farr A. L. et al.* Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. 1951. Vol. 193. P. 265–275.
 29. *Marino A. A., Carrubba S., Frilot C. et al.* Evidence that transduction of electromagnetic field is mediated by a force receptor // Neurosci. Lett. 2009. Vol. 452. N 2. P. 119–123.
 30. *Panagopoulos D. J., Karabarounis A., Margaritis L. H.* Mechanism for action of electromagnetic fields on cells // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2002. Vol. 298. N 1. P. 95–102.

Стаття: надійшла до редакції 03.06.14

доопрацьована 02.10.14

прийнята до друку 03.10.14

**PARTICULARITIES OF HYDROLYSIS ATP BY MEMBRANE Na⁺, K⁺-ATP-ase
LOACH EMBRYOS AFTER ACTION OF MOBILE PHONE FREQUENCY RADIATION**

M. Yaremchuk, S. Mandzynets, M. Bura, N. Garasim, D. Sanagurskij

Ivan Franko National University of Lviv

4, Hrushevskiy St., Lviv 79005, Ukraine

e-mail: manisvit@gmail.com

The kinetic of hydrolysis ATP by membrane Na⁺, K⁺-ATP-ase loach embryos after once irradiation of mobile phone during 5 and 20 min was investigated. We showed that microwave radiation inhibits hydrolytic activity of enzyme by the conventionally uncompetitive type inhibition. The changes in the kinetic parameters indicate the dependence of the kinetics of hydrolysis of the development stage the embryo and duration of irradiation. The significant dose-dependence this changes from duration irradiation wasn't show. Overall the radiation of mobile phone contributes to affinity Na⁺, K⁺-ATP-ase to ATP, and reducing the maximum speed indicates changes in the catalytic center of the enzyme.

Keywords: loach embryos, Na⁺, K⁺-ATP-ase, microwave radiation, Michaelis constant, maximum velocity.

**ОСОБЕНОСТИ ГИДРОЛИЗА АТФ Na⁺, K⁺-АТФ-азой МЕМБРАН ЗАРОДЫШЕЙ
ВЬЮНА ПРИ ДЕЙСТВИИ ОБЛУЧЕНИЯ ЧАСТОТЫ МОБИЛЬНОЙ СВЯЗИ**

М. Яремчук, С. Мандзинец, М. Бура, Н. Гарасым, Д. Санагурский

Львовский национальный университет имени Ивана Франко

ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина

e-mail: manisvit@gmail.com

Исследовано кинетику гидролиза АТФ Na⁺, K⁺-АТФ-азой мембран зародышей вьюна после однократного облучения мобильным телефоном в течении 5 и 20 минут. Обнаружено ингибирующее влияние микроволнового электромагнитного излучения на гидролитическую активность фермента по типу условно бесконкурентного ингибирования. Изменения кинетических параметров указывают на зависимость кинетики гидролиза от стадии развития зародыша и от длительности облучения, но достоверной дозозависимости подобных изменений от длительности облучения мобильным телефоном не установлено. В целом облучение способствует увеличению сродства Na⁺, K⁺-АТФ-азы к АТФ, а снижение максимальных скоростей свидетельствует об изменениях в каталитическом центре фермента.

Ключевые слова: зародыши вьюна, Na⁺, K⁺-АТФ-аза, микроволновое излучение, константа Михаэлиса, максимальная скорость.