



УДК 591.3:597.551.2.043:537-962:577.115.4

ВПЛИВ МІКРОХВИЛЬОВОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ НА ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНІ ПРОЦЕСИ І АКТИВНІСТЬ Na^+ , K^+ -АТФ-ази ЗАРОДКІВ В'ЮНА

М. М. Яремчук, М. В. Дика, Д. І. Санагурський

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: m.yaremchuk@i.ua*

У статті наведено результати експериментального дослідження впливу електромагнітного випромінювання радіочастотного діапазону на процеси ліпопероксидації, активність ферментів антиоксидантної системи захисту зародків в'юна та Na^+ , K^+ -АТФ-ази. Встановлено, що мікрохвильове випромінювання призводить до інтенсифікації процесів пероксидного окиснення ліпідів, зниження активності Na^+ , K^+ -помпи протягом раннього ембріогенезу. З'ясовано, що за впливу електромагнітного випромінювання активність супероксиддисмутази зростає, тоді як активність глутатіонпероксидази знижується на всіх досліджуваних стадіях розвитку. Активність каталази знижується на стадіях розвитку I, IV, VI, VIII поділу бластомерів, однак на стадії X поділу активність ферменту зростає. Використовуючи двофакторний дисперсійний аналіз, провели оцінку впливу мікрохвильового випромінювання різної тривалості (1; 5; 10; 20 хв) та часу розвитку (I, IV, VI, VIII, X поділи бластомерів) на досліджувані показники протягом раннього ембріогенезу в'юна. З'ясовано, що значну частку впливу на мінливість вільнорадикальних процесів і активність Na^+ , K^+ -АТФ-ази, супероксиддисмутази та глутатіонпероксидази має мікрохвильове випромінювання і є найсильнішим фактором із досліджуваних ($p \geq 0,999$).

Ключові слова: мікрохвильове випромінювання, зародки в'юна, пероксидне окиснення ліпідів, Na^+ , K^+ -АТФ-аза, ферменти антиоксидантної системи захисту.

СКОРОЧЕННЯ

Електромагнітне випромінювання радіочастотного діапазону (ЕМВ РЧ діапазону); активні форми кисню (АФК); пероксидне окиснення ліпідів (ПОЛ); антиоксидантна система (АОС); Specific Absorption Rate (SAR); гідропероксидази (ГП); супероксиддисмутаза (СОД); каталаза (КТ); глутатіонпероксидаза (ГПО); малоновий діальдегід (МДА).

ВСТУП

Промислові та побутові прилади, що виробляють електромагнітне випромінювання радіочастотного діапазону, значною мірою впливають на живі організми.

Мобільний телефон став невід'ємним атрибутом у житті сучасної людини, тому виникла необхідність в експериментальних дослідженнях впливу мікрохвильового випромінювання на біологічні об'єкти [1, 3, 9, 19]. Встановлено, що ЕМВ РЧ діапазону викликає різноманітні функціональні зміни в системах організму [13, 20]. Однак результати впливу цього випромінювання на стан метаболічних систем організму протягом ембріонального розвитку є обмеженими [5].

З'ясовано, що ЕМВ низької інтенсивності на частотах мобільного зв'язку здатне викликати зміни внутрішньоклітинної концентрації іонів; зміни у швидкості синтезу різних біомолекул; зміни в показниках проліферації клітин; зміни в репродуктивній здатності тварин; зміни в експресії генів; пошкодження ДНК і загибель клітин; розвиток раку [6, 8, 10, 15, 22, 25]. Також встановлено, що мікрохвильове випромінювання призводить до порушення прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу організмів [3, 5, 19, 20, 23, 27]. Зокрема, зростає вміст АФК, продуктів ПОЛ, а також змінюється активність ферментів АОС за впливу мікрохвильового випромінювання [3, 5, 19, 20, 23, 27, 30]. Встановлено, що ЕМВ впливає на ембріональний розвиток тварин [8, 20, 29]. Аналіз літературних даних вказує на необхідність дослідити, насамперед, стан антиоксидантної та іон-транспортної систем зародків в'юна протягом раннього розвитку.

У попередніх роботах нами з'ясовано, що мікрохвильове випромінювання на частотах мобільного зв'язку ($SAR=1,1$ Вт/кг) викликає інтенсифікацію процесів ліпопероксидації, зміну активності ферментів АОС і зниження активності Na^+ , K^+ -АТФ-ази зародків в'юна [30, 31].

Важливим для розуміння аспектів і механізмів дії на клітину та розвиток організму в цілому є порівняння ефектів впливу мікрохвильового випромінювання на частотах мобільного зв'язку з різними коефіцієнтами питомого поглинання електромагнітної енергії.

Метою роботи було дослідити вплив мікрохвильового випромінювання ($SAR=0,99$ Вт/кг) на процеси ПОЛ, активність ферментів АОС та Na^+ , K^+ -АТФ-ази зародків в'юна.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проводили на зародках прісноводної риби в'юна *Misgurnus fossilis* L. через 60, 150, 210, 270 і 330 хв після запліднення яйцеклітин. Використовували зародки під час стадій, які відповідають I, IV, VI, VIII, X дробленню зиготи. Ікру одержували через 36 год після стимуляції самок в'юна хоріонічним гонадотропіном (500 од.) і запліднювали в чашках Петрі суспензією спермій, як описано у [21]. Через 5–10 хв після запліднення зиготи відмивали й інкубували у розчині Гольфретера при 21 °С.

Отримані зиготи піддавали опроміненню на частотах мобільного зв'язку. Як джерело мікрохвильового випромінювання використовували мобільний телефон, що перебував у режимі розмови і містився над чашками Петрі на відстані 3 см. Для оцінки рівня випромінювання використовували SAR, який є показником шкідливого впливу ЕМВ мобільних телефонів. Згідно з паспортом телефону, значення SAR становить 0,99 Вт/кг. Отримані зиготи опромінювали одноразово, відразу після запліднення, протягом 1; 5; 10 та 20 хв.

У відібраних зразках визначали інтенсивність процесів ПОЛ за вмістом первинних продуктів ліпопероксидації – гідропероксидів – і вторинних – сполук, що

реагують із тиобарбітуровою кислотою (ТБК-позитивні продукти), використовуючи методи В.В. Мирончика і Р.Р. Тимирбулатова, відповідно [24, 28].

Na^+ , K^+ -АТФ-азну активність визначали за різницею між вмістом P_i (неорганічного фосфату) у стандартному безкальцієвому середовищі за додавання та за відсутності оубаїну (1 ммоль/л). Кількість продукту реакції P_i визначали за модифікованим методом Фіске-Суббароу [7], а вміст білка в суспензії мембранного препарату – за методом Лоурі [16].

Активність ферментів АОС – супероксиддисмутази визначали за методом В.А. Костюка [12], каталази за методом М.А. Королюка [11] і глутатіонпероксидази за методом В.М. Моїна [18].

Статистичну обробку всіх результатів досліджень проводили з використанням програми "Excel-2007" для Windows.

Для оцінки достовірності різниці між статистичними характеристиками двох експериментальних вибірок даних визначали коефіцієнт Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ І ЇХНЕ ОБГОВОРЕННЯ

Важливим є визначення інтенсивності пероксидного окиснення як показника стану ліпідів, який впливає на активність мембранозв'язаних ферментів, швидкість проліферації клітин і транспортні властивості мембран [2, 17].

Визначаючи інтенсивність процесів ПОЛ за зміною вмісту ГП, первинного продукту процесів ліпопероксидації та МДА – вторинного продукту, було встановлено, що вплив мікрохвильового випромінювання одразу після запліднення упродовж 1÷20 хв викликає інтенсифікацію вільнорадикальних процесів. За впливу опромінення протягом 1 хв цей показник зростає на 40, 56 і 78 % на стадіях розвитку I, IV та VI поділу бластомерів, відповідно (рис. 1). Достовірне зростання вмісту ГП спостерігається за тривалості опромінення 5, 10 і 20 хв на 34–38, 41–64, 20–30 %,

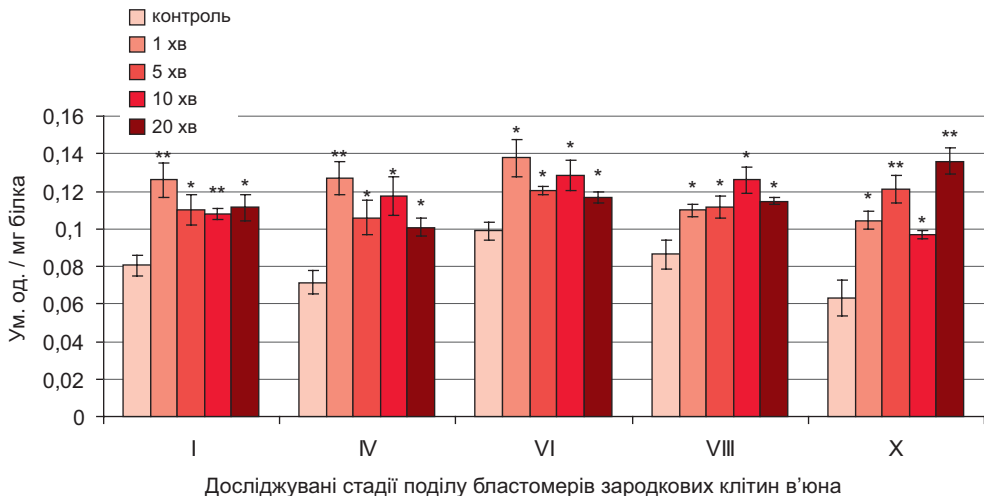


Рис. 1. Вміст гідропероксидів ліпідів у зародків в'юна за впливу мікрохвильового випромінювання різної тривалості ($M \pm m$, $n=6$) (* – $p \geq 0,95$; ** – $p \geq 0,99$ щодо контролю)

Fig. 1. The content of hydroperoxides in loach embryos under the action of microwave radiation of various duration (* – $p \geq 0.95$; ** – $p \geq 0.99$ – compared to control)

порівняно з контролем на цих етапах розвитку. Інтенсивність процесів ліпопероксидації на стадії VIII поділу зростає на 30–45 %. Мікрохвильове випромінювання тривалістю 1, 5, 10 і 20 хв викликає збільшення вмісту ГП у 1,5–2 рази, порівняно з контролем на останній із досліджуваних стадій розвитку.

Вплив ЕМВ РЧ діапазону тривалістю 1 та 20 хв після запліднення призводить до істотного ($p \geq 0,999$) зростання кількості вторинних продуктів ПОЛ на стадіях I, IV, VI та VIII поділу бластомерів (рис. 2). Інтенсивність ПОЛ зростає щодо контролю на 25–34 і 30–45 % за тривалості опромінення 1 та 20 хв, відповідно. Достовірне зростання вмісту ТБК-позитивних продуктів спостерігається за тривалості опромінення протягом 1 і 20 хв на стадії X поділу бластомерів лише на 17 % ($p \geq 0,95$). За впливу мікрохвильового випромінювання тривалістю 5 і 10 хв відмічено активацію процесів вільнорадикального окиснення ліпідів на стадіях розвитку I, IV, VI і VIII поділів на 20–40 %, порівняно з контролем. На стадії X поділу бластомерів, на відміну від інших досліджуваних етапів розвитку, мікрохвильове випромінювання викликає істотне зниження вмісту ТБК-позитивних продуктів за тривалості опромінення 5 і 10 хв.

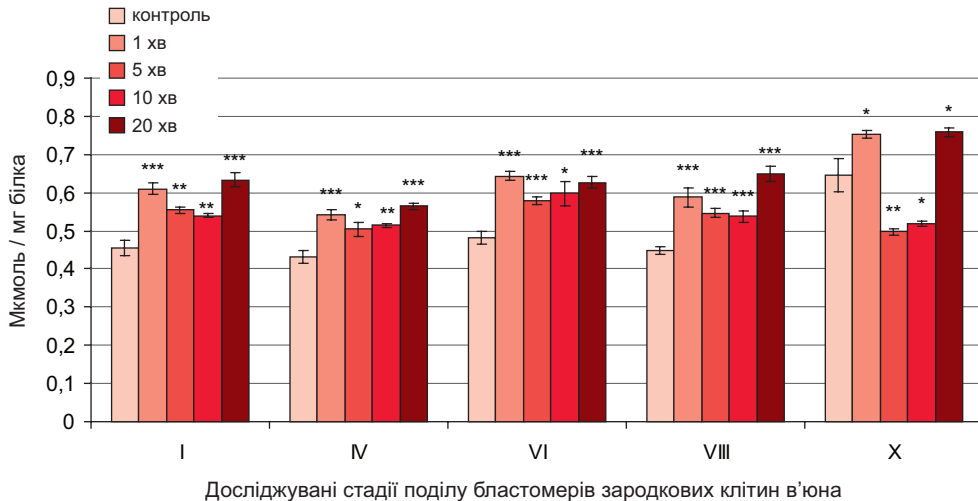


Рис. 2. Вміст ТБК-позитивних продуктів у зародків в'юна за впливу мікрохвильового випромінювання різної тривалості впродовж раннього ембріогенезу ($M \pm m$, $n=10$) (* – $p \geq 0,95$; ** – $p \geq 0,99$; *** – $p \geq 0,999$ – тут і надалі вірогідні зміни порівняно з контролем)

Fig. 2. The content of TBA-reactive products in loach embryos under the action of microwave radiation of various duration during early embryogenesis ($M \pm m$, $n=10$) (* – $p \geq 0,95$; ** – $p \geq 0,99$; *** – $p \geq 0,999$ – confidence interval compared to control values)

Отже, отримані нами результати щодо вмісту ГП та ТБК-позитивних продуктів за впливу ЕМВ РЧ діапазону (Sony Ericsson K750i, SAR=0,99 Вт/кг) вказують на активацію процесів вільнорадикального окиснення ліпідів протягом раннього ембріогенезу. У серії досліджень, проведених за впливу ЕМВ на частотах мобільного зв'язку в режимі розмови (Nokia 5230, SAR=1,1 Вт/кг), також встановлено достовірні зміни вмісту продуктів ліпопероксидації [30]. Це узгоджується із результатами, описаними в літературних джерелах, де спостерігалась аналогічна тенденція за впливу мікрохвильового випромінювання [3, 5, 20, 27].

Зміна ліпідного мікрооточення внаслідок процесів пероксидного окиснення ліпідів може бути причиною зміни активності мембранозв'язаних ферментів [2, 4, 14].

Відомо, що Na^+ , K^+ -АТФ-аза є чутливою до АФК і безпосередньо бере участь в оксидативному стресі [2, 14]. Низкою досліджень встановлено, що фермент характеризується різною чутливістю до окисників: АТФ-аза є стійкою до дії супероксид-аніона, відносно стійкою до пероксиду водню, але дуже чутливою до гідроксильного радикала [2, 4, 14].

У дослідженнях впливу мікрохвильового випромінювання встановлено, що активність Na^+ , K^+ -АТФ-ази достовірно знижувалася на всіх досліджуваних стадіях поділу бластомерів (рис. 3), порівняно з контролем. Наприклад, на стадії I поділу бластомерів вплив ЕМВ протягом 1, 5 і 10 хв призводить до зниження активності АТФ-гідролази на 50 % щодо контролю, а у разі 20-хвилинного опромінення досліджуваний показник знижується на 60 %.

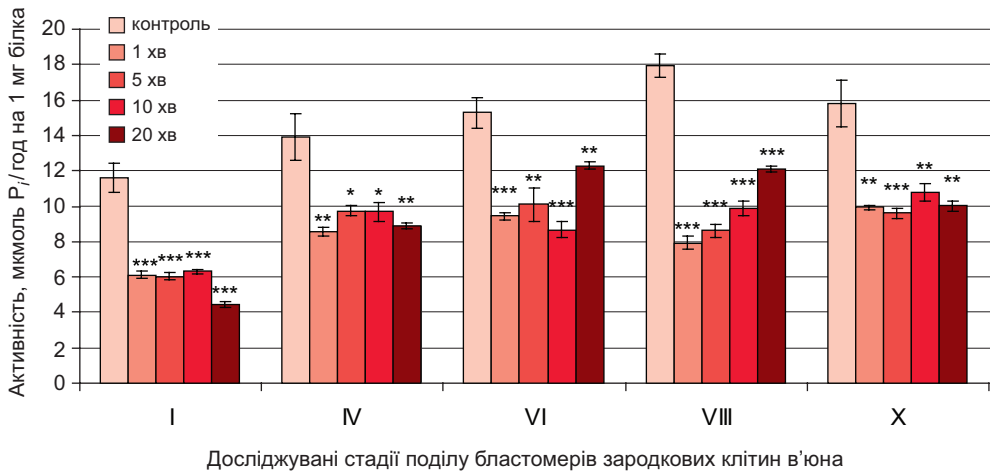


Рис. 3. Активність Na^+ , K^+ -АТФ-ази зародків в'юна за впливу мікрохвильового випромінювання різної тривалості впродовж раннього ембріогенезу ($M \pm m$, $n=10$)

Fig. 3. Na^+ , K^+ -ATPase activity in loach embryos under the action of microwave radiation of various duration during early embryogenesis ($M \pm m$, $n=10$)

Аналогічну тенденцію змін активності ферменту за впливу електромагнітного випромінювання спостерігали і на подальших стадіях раннього ембріогенезу. Зокрема, на стадії IV та X поділу бластомерів активність Na^+ , K^+ -АТФ-ази зародків вірогідно знижується на 30–39 %. Мікрохвильове випромінювання тривалістю 1, 5 і 10 хв призводить до інгібування даного ферменту на 33–43 %, порівняно з контролем на стадії VI поділу. За 20-хвилинного опромінення на цьому етапі розвитку активність АТФ-гідролази знизилася тільки на 20 % щодо контролю.

На стадії VIII поділу бластомерів вплив мікрохвильового випромінювання тривалістю 1, 5, 10 і 20 хв призводить до зниження активності Na^+ , K^+ -АТФ-ази, порівняно з контролем, на 55, 51, 45 і 32 %, відповідно.

Отже, ЕМВ РЧ діапазону достовірно інгібує активність Na^+ , K^+ -АТФ-ази зародків в'юна протягом раннього ембріогенезу. Аналогічні зміни активності ферменту спостерігали за впливу мікрохвильового випромінювання ($\text{SAR}=1,1 \text{ Вт/кг}$) [31].

Відомо, що у відповідь на ЕМВ РЧ діапазону розвивається оксидативний стрес [5, 19, 20, 23, 27]. У попередніх дослідженнях встановлено, що вплив мікрохвильового випромінювання на зародки в'юна супроводжується дисбалансом у проокси-

дантно-антиоксидантній системі, що, у свою чергу, призводить до збільшення продукції АФК і змін в активності ферментів антиоксидантного захисту [30]. Саме тому є всі підстави очікувати подібних змін системи антиоксидантного захисту зародків у відповідь на вплив ЕМВ, джерелом якого є мобільний телефон з іншим коефіцієнтом питомого поглинання електромагнітної енергії.

Під час дослідження впливу мікрохвильового випромінювання на активність СОД нами встановлено, що у зародків в'юна, опромінених протягом 1; 5, 10 і 20 хв, одразу після запліднення, активність ензиму суттєво ($p \geq 0,95$) зростає на всіх досліджуваних стадіях, порівняно з контролем (рис. 4). Найменша тривалість опромінення (протягом 1 хв) викликає зростання активності СОД на 15–20 % протягом раннього ембріогенезу. На стадіях розвитку I, IV, VI, VIII та X поділу бластомерів ЕМВ РЧ діапазону тривалістю 5, 10 та 20 хв призводить до зростання досліджуваного показника на 25–33, 35–57, 36–64, 20–40 і 36–46 %, відповідно. Отже, вплив мікрохвильового випромінювання призводить до активації ферменту СОД на всіх досліджуваних стадіях раннього ембріогенезу в'юна.

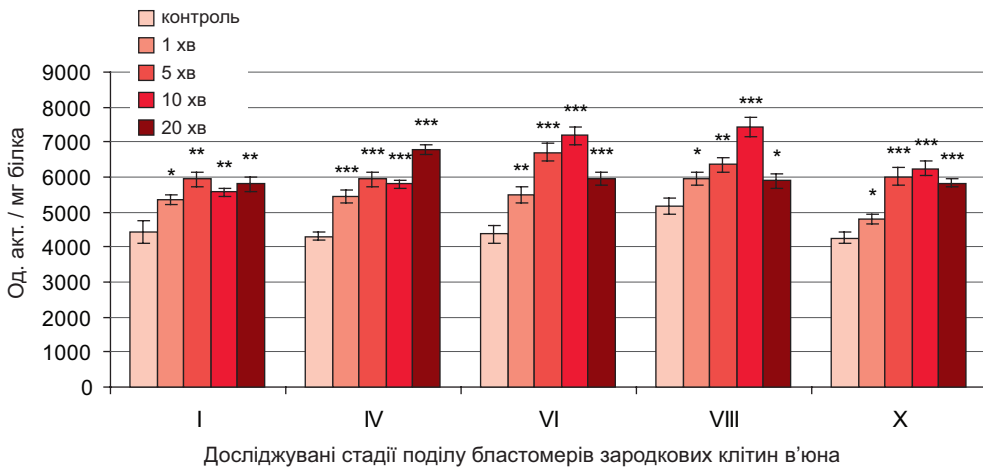


Рис. 4. Активність супероксиддисмутази зародків в'юна за впливу мікрохвильового випромінювання різної тривалості впродовж раннього ембріогенезу ($M \pm m$, $n=10$)

Fig. 4. Superoxide dismutase activity in loach embryos under the action of microwave radiation of various duration during early embryogenesis ($M \pm m$, $n=10$)

Синергістом супероксиддисмутази у клітині є каталаза. Вона запобігає накопиченню продукту супероксиддисмутазної реакції інгібітора СОД – пероксиду водню [17].

Після проведених досліджень з'ясовано, що мікрохвильове випромінювання призводить до зниження активності каталази на стадіях I, IV, VI і VIII поділу бластомерів (рис. 5). Зокрема, на стадії I поділу встановлено достовірне зниження активності ферменту ($p \geq 0,99$) за впливу мікрохвильового випромінювання досліджуваної тривалості на 25–44 % щодо контролю. Аналогічна тенденція спостерігалась і під час дослідження активності ферменту на стадіях розвитку IV, VI та VIII поділу бластомерів. Однак на стадії X поділу відмічено достовірне зростання активності КТ ($p \geq 0,95$) за різної тривалості опромінення на 21–67 % щодо контролю (рис. 5).

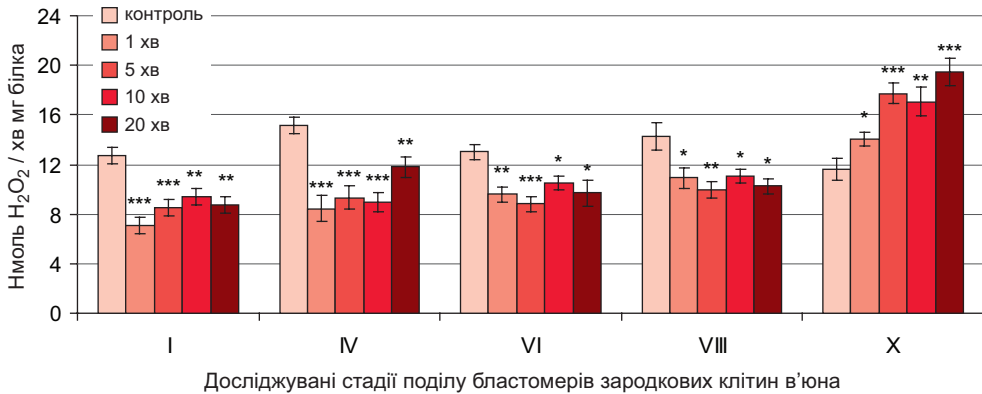


Рис. 5. Активність каталази зародків в'юна за впливу мікрохвильового випромінювання різної тривалості впродовж раннього ембріогенезу ($M \pm m$, $n=10$)

Fig. 5. Catalase activity in loach embryos under the action of microwave radiation of various duration during early embryogenesis ($M \pm m$, $n=10$)

На стадії X поділу бластомерів починається процес гастрюляції. Ядра вже діляться асинхронно, триває синтез РНК [26]. Ці процеси у поєднанні зі змінами, викликаними мікрохвильовим випромінюванням, і спричиняють, на нашу думку, таке суттєве зростання активності КТ на відповідному етапі розвитку в'юна.

Активізація ГПО пов'язана з реакцією знешкодження пероксиду водню, детоксикацією інших пероксидів, насамперед ліпідних, що входять до складу біомембран [17].

Під час дослідження впливу мікрохвильового випромінювання на активність ГПО встановлено, що в зародків в'юна, опромінених протягом 1, 5, 10 і 20 хв, активність ферменту достовірно знижується на 23–40 %, порівняно з контролем на досліджуваних стадіях розвитку (рис. 6). Цей показник досягає значень $25\text{--}33 \pm 1,5$ мкмоль G-SH/хв мг білка за впливу мікрохвильового випромінювання різної тривалості протягом раннього ембріогенезу. Тоді як у контролі активність ГПО становить $41,9 \pm 2,9$; $50 \pm 2,9$; $42,1 \pm 2,4$; $46,2 \pm 2,3$; $41,8 \pm 2,9$ мкмоль G-SH/хв мг білка на стадіях розвитку I, IV, VI, VIII та X поділу бластомерів, відповідно.

Подібні результати наводяться й іншими авторами [3, 5, 20, 23, 27]. Встановлено, що вплив ЕМВ низької інтенсивності веде до змін в активності ферментів антиоксидантної системи.

Для того, щоб з'ясувати сумарний вплив фактора часу та різної тривалості опромінення на мінливість показників вільнорадикальних реакцій, активність ензимів АОС та Na^+ , K^+ -АТФ-ази на різних етапах розвитку зародків в'юна, було проведено двофакторний дисперсійний аналіз із урахуванням контролю. У результаті проведеного аналізу встановлено (рис. 7), що частка впливу мікрохвильового випромінювання на вміст ГП у зародках в'юна становить 64,4 % ($p \geq 0,999$), тоді як внесок фактора часу є неістотним (10,4 %).

Частка впливу мікрохвильового випромінювання у мінливість ТБК-позитивних продуктів становить 50,1 % ($p \geq 0,99$), а внесок впливу фактора часу становить 24,4 %. Вплив обох чинників є достовірний.

Вплив мікрохвильового випромінювання на мінливість Na^+ , K^+ -АТФ-азної активності зародків в'юна становить 60,5 % ($p \geq 0,999$). Частка впливу часу розвитку на активність Na^+ , K^+ -АТФ-ази також істотна ($p \geq 0,999$).

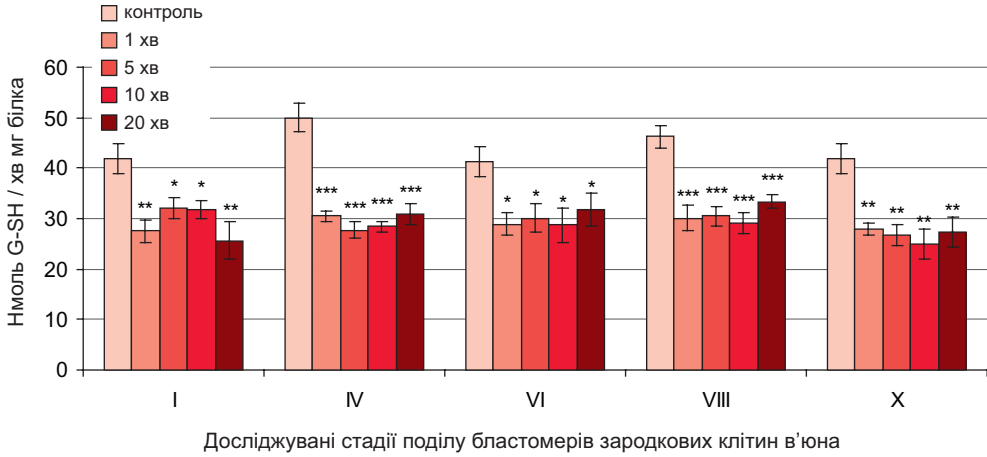


Рис. 6. Активність глутатіонпероксидази зародків в'юна за впливу мікрохвильового випромінювання різної тривалості впродовж раннього ембріогенезу (M±m, n=10)

Fig. 6. Glutathione peroxidase activity in loach embryos under the action of microwave radiation during of various duration early embryogenesis

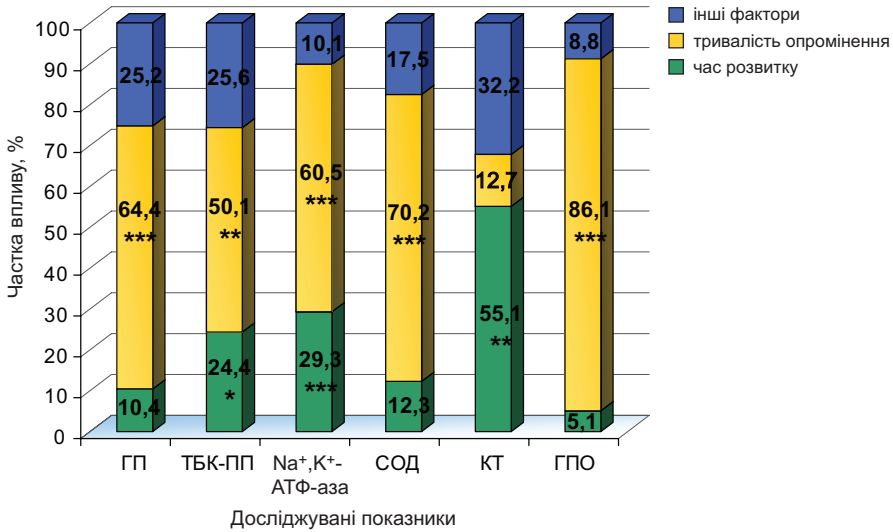


Рис. 7. Дисперсійний аналіз впливу часу розвитку та мікрохвильового випромінювання на ембріогенез в'юна

Fig. 7. Analysis of variance of development time and microwave radiation influence on loach embryogenesis

Значним є вплив мікрохвильового опромінення у зміні активності СОД. Частка його впливу перевищує 70 % (p≥0,999). Однак неістотним є внесок фактора часу у зміні активності цього ферменту (12,3 %).

У разі виявлення кількісного внеску впливу мікрохвильового випромінювання на активність КТ, встановлено, що частка впливу опромінення є неістотною і становить 12,7 %. На відміну від фактора ЕМВ, внесок фактора часу є достовірним і становить 55,1 % (p≥0,99).

Згідно з отриманими результатами проведеного дисперсійного аналізу, можна стверджувати, що активність ГПО є найбільш чутливою до впливу мікрохвильового випромінювання, на це вказує частка впливу 86 % ($p \geq 0,999$). Фактор часу не має істотного впливу на мінливість цього показника і становить 5 %.

Проаналізувавши частки впливу досліджуваних чинників на вільнорадикальні процеси, активність ферментів Na^+ , K^+ -АТФ-ази, СОД, ГПО, можна зробити висновок, що мікрохвильове випромінювання є найсильнішим фактором із досліджуваних, який спричиняє мінливість вищевказаних показників.

ВИСНОВКИ

У результаті проведених досліджень встановлено, що мікрохвильове випромінювання тривалістю 1; 5; 10 і 20 хв ініціює процеси ліпопероксидації, а також зумовлює зростання активності СОД і зниження активності КТ, ГПО, Na^+ , K^+ -АТФ-ази. Дисперсійний аналіз довів, що ЕМВ РЧ діапазону має істотний вплив на зміни досліджуваних показників.

1. *Aitken R.J., Bennetts L.E., Sawyer D.* et al. Impact of radiofrequency electromagnetic radiation on DNA integrity in the male germline. **International Journal of Andrology**, 2005; 28(3): 171–179.
2. *Andreoli Sh., McTeer J., Seifert S., Kempson S.* Oxidant-induced alterations in glucose and phosphate transport in LLC-PK1 cells: Mechanism of injury. **American Journal of Physiology**, 1993; 265: 337–384.
3. *Bodera P., Stankiewicz W., Zawada K.* Changes in antioxidant capacity of blood due to mutual action of electromagnetic field (1800 MHz) and opioid drug (tramadol) in animal model of persistent inflammatory state. **Pharmacological Reports**, 2013; 65: 421–428.
4. *Boldyrev A.A., Rouge E.K., Smirnova I.N., Tabak M.* Na, K-ATPase the role of lipids and Mg-ions in the activity regulation. **FEBS Letters**, 1977; 80(2): 303–307.
5. *Burlaka A., Tsybulin O., Sidorik E.* et al. Overproduction of free radical species in embryonal cells exposed to low intensity radiofrequency radiation. **Experimental Oncology**, 2013; 35(3): 219–225.
6. *Diem E., Schwarz C., Adlkofer F.* et al. Non-thermal DNA breakage by mobile-phone radiation (1800 MHz) in human fibroblasts and in transformed GFSH-R17 rat granulosa cells *in vitro*. **Mutation Research**, 2005; 583(2): 178–183.
7. *Fiske C.H., Subbarow Y.* The Colorimetric Determination of Phosphorus. **Journal of Biological Chemistry**, 1925; 66: 375–400.
8. *Grigor'ev Iu.G.* Biological effects of mobile phone electromagnetic field on chick embryo. **Radiats. Biol. Radioecol**, 2003; 43(5): 541–543. (In Russian).
9. *Güler G., Tomruk A., Ozgur E.* et al. The effect of radiofrequency radiation on DNA and lipid damage in female and male infant rabbits. **International Journal of Radiation Biology**, 2012; 88(4): 367–373.
10. *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. **Occupational and Environmental Medicine**, 2007; 64 (9): 626–632.
11. *Korolyuk M.A., Ivanova L.I., Mayorova I.G.* Method for determination of catalase activity. **Laboratornoe Delo**, 1988; 1: 16–19. (In Russian).
12. *Kostiuk V.A., Potapovich A.I., Kovaleva Zh.V.* A simple and sensitive method of determination of superoxide dismutase activity based on the reaction of quercetin oxidation. **Vopr. Med. Khim**, 1990; 36(2): 88–91. (In Russian).

13. Kovacic P., Somanathan R. Electromagnetic fields: mechanism, cell signaling, other bioprocesses, toxicity, radicals, antioxidants and beneficial effects. **Journal of Receptors and Signal Transduction**, 2010; 30(4): 214–226.
14. Kukreja R.C., Weaver A.B., Hess M.L. Sarcolemmal Na, K-ATPase: Inactivation by neutrophil-derived free radicals and oxidants. **American Journal of Physiology**, 1990; 259: 1330–1336.
15. Lai H., Singh N.P. Magnetic-field-induced DNA strand breaks in brain cells of the rat. **Environmental Health Perspectives**, 2004; 112(6): 687–694.
16. Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr A.L., Randall R. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, 1951; 193(1): 265–275.
17. Menshchikova E.B. **Oxidative stress. Prooxidants and antioxidants**. Moscow: Word, 2006. 556 p. (In Russian).
18. Moin V.M. A simple and specific method for determining glutathione peroxidase activity in erythrocytes. **Laboratornoe Delo**, 1986; 12: 724–727. (In Russian).
19. Moussa S.A. Oxidative stress in rats exposed to microwave radiation. **Romanian Journal of Biophysics**, 2009; 19(2): 149–158.
20. Naziroglu M., Yuksel M., Kose S.A., Ozkaya M.O. Recent reports of Wi-Fi and mobile phone-induced radiation on oxidative stress and reproductive signaling pathways in females and males. **Journal of Membrane Biology**, 2013; 246: 869–875.
21. Neifach A.A. **Molecular biology of developmental processes**. Moscow: Nauka, 1977. 311 p. (In Russian).
22. Nylund R., Leszczynski D. Mobile phone radiation causes changes in gene and protein expression in human endothelial cell lines and the response seems to be genome- and proteome-dependent. **Proteomics**, 2006; 6(17): 4769–4780.
23. Oktem F., Ozguner F., Mollaoglu H. et al. Oxidative damage in the kidney induced by 900-MHz- emitted mobile phone: protection by melatonin. **Archives of Medical Research**, 2005, 36: 350–355.
24. Oleksiuk N.P., Yanovych V.G. The activity of pro- and antioxidant systems in the liver of freshwater fishes in different seasons. **Ukrainian Biochemical Journal**, 2010; 82(3): 41–48. (In Ukrainian).
25. Rao V.S., Titushkin I.A., Moros E.G. et al. Nonthermal effects of radiofrequency-field exposure on calcium dynamics in stem cell-derived neuronal cells: elucidation of calcium pathways. **Journal of Radiation Research**, 2008; 169(3): 319–329.
26. Sanagursky D.I. **Objects of Biophysics**: Monograph. Lviv: Publishing Center of Ivan Franko National University of Lviv, 2008. 522 p. (In Ukrainian).
27. Shahin S., Singh V.P., Shukla R.K. et al. 2.45 GHz microwave irradiation-induced oxidative stress affects implantation or pregnancy in mice, *Mus musculus*. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, 2013; 169(5): 1727–1751.
28. Timirbulatov R.A., Seleznev E.I. Method for increasing the intensity of free radical oxidation of lipid-containing components of the blood and its diagnostic significance. **Laboratornoe Delo**, 1981, 4: 209–211. (In Russian).
29. Yakymenko I.L., Henshel D., Sidorik E.P. et al. Effect of mobile phone electromagnetic radiation on somitogenesis of birds. **Reports of the National Academy of Sciences of Ukraine**, 2011; 1: 146–152. (In Russian).
30. Yaremchuk M.M., Dyka M.V., Sanagursky D.I. The activity of prooxidant-antioxidant system in loach embryos under the action of microwave radiation. **Ukrainian Biochemical Journal**, 2014; 86(5): 142–150. (In Ukrainian).
31. Yaremchuk M.M., Mandzynets S.M., Dyka M.V. et al. Microwave radiation influence on the change of Na⁺, K⁺-ATPase activity of loach embryos. **Biophysical Bulletin**, 2013; 30(2): 95–101. (In Ukrainian).

MICROWAVE RADIATION INFLUENCE ON FREE-RADICAL PROCESSES AND Na⁺, K⁺-ATPase ACTIVITY IN LOACH EMBRYOS

M. M. Yaremchuk, M. V. Dyka, D. I. Sanagursky

*Ivan Franko National University of Lviv, 4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine
e-mail: m.yaremchuk@i.ua*

This article is devoted to the investigation of experimental results of radiofrequency electromagnetic radiation effect on lipid peroxidation processes, Na⁺, K⁺-ATPase activity and antioxidant protective system enzyme activity in loach embryos. It was established that microwave radiation leads to intensification of lipid peroxidation processes and decrease of Na⁺, K⁺-pump activity during early embryogenesis. Under the effect of electromagnetic radiation, we have admitted an increase in superoxide dismutase activity; whereas the glutathione peroxidase activity decreased at each developmental stage. Catalase activity decreased at the I, IV, VI, VIII stages of blastomere division, however, it had opposite effect on the X stage of division. Using two-factor analysis of variance, the estimation of microwave radiation effect (1; 5; 10; 20 min exposure) and developmental time (I, IV, VI, VIII, X stages of blastomere division) on investigated rates during early embryogenesis has been provided. It has been shown that microwave radiation plays a significant role on free-radical process variability, Na⁺, K⁺-ATPase activity, the activity of superoxide dismutase and glutathione peroxidase and is one of the strongest factor ($p \geq 0.999$).

Keywords: microwave radiation, loach embryos, lipid peroxidation, Na⁺, K⁺-ATPase, enzymes of the antioxidant defense system.

ВЛИЯНИЕ МИКРОВОЛНОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ И АКТИВНОСТЬ Na⁺, K⁺-АТФ-азы ЗАРОДЫШЕЙ ВЬЮНА

М. М. Яремчук, М. В. Дыка, Д. И. Санагурский

*Львовский национальный университет имени Ивана Франко
ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина
e-mail: m.yaremchuk@i.ua*

В статье приведены результаты экспериментального исследования влияния электромагнитного излучения радиочастотного диапазона на процессы липопероксидации, активность ферментов антиоксидантной системы защиты зародышей вьюна и Na⁺, K⁺-АТФ-азы. Установлено, что микроволновое излучение приводит к интенсификации процессов перекисного окисления липидов, снижению активности Na⁺, K⁺-насоса в течение раннего эмбриогенеза. Показано, что под влиянием электромагнитного излучения активность супероксиддисмутазы возрастает, тогда как активность глутатионпероксидазы снижается на всех исследуемых стадиях развития. Активность каталазы снижается на стадиях развития I, IV, VI, VIII деления бластомеров, однако на стадии X деления активность фермента возрастает. Используя двухфакторный дисперсионный анализ, провели оценку влияния микроволнового излучения различной длительности (1; 5; 10; 20 мин) и времени развития (I, IV, VI, VIII, X деления бластомеров) на исследуемые показатели в течение

раннего эмбриогенеза вьюна. Показано, что значительную долю влияния на изменчивость свободнорадикальных процессов и активность АТФ-гидролазы, супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы оказывает микроволновое излучение и является сильнейшим фактором из исследуемых ($p \geq 0,999$).

Ключевые слова: микроволновое излучение, зародыши вьюна, пероксидное окисление липидов, Na^+ , K^+ -АТФ-аза, ферменты антиоксидантной системы защиты.

Одержано: 25.11.2014