



УДК 577.115.4.043:537-962]:597.551.2-053.13

## Вміст вторинних продуктів ліпопероксидації у зародках в'юна за впливу мікрохвильового випромінювання

М.М. ЯРЕМЧУК<sup>1</sup>, О.М. СЕМОЧКО<sup>1</sup>, А.Б. ГЕНЕГА<sup>1</sup>, М.В. ДИКА<sup>1</sup>,  
 А.В. ТАРНОВСЬКА<sup>1</sup>, Ю.Г. ШКОРБАТОВ<sup>2</sup>, Д.І. САНАГУРСЬКИЙ<sup>1</sup>,  
 О.М. ЩЕБЕНТОВСЬКА<sup>3</sup>, А.К. КОСТИНЮК<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка, Львів, Україна  
 E-mail: yaremchukmariya16@gmail.com

<sup>2</sup>Харківський національний університет імені Василя Каразіна, Харків, Україна

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

Унаслідок збільшення «електромагнітного забруднення» навколишнього середовища привертає увагу проблема впливу електромагнітних полів (ЕМП) на біологічні об'єкти [1,2]. Впровадження технологічного обладнання різного призначення, що використовує надвисокочастотне випромінювання, змінні та імпульсні магнітні поля, медичні терапевтичні та діагностичні установки, електропобутові прилади, індивідуальні засоби зв'язку (мобільні телефони) тощо призводить до посилення впливу електромагнітного випромінювання (ЕМВ) на живі організми. Унаслідок довготривалого та інтенсивного використання мобільного зв'язку виявлено достовірне зростання ризиків розвитку гліом, менінгіом, невриноом слухового нерва, пухлин білявушних слинних залоз, болю голови, відчуття фізичного дискомфорту у людей [3]. Процеси взаємодії ЕМП з живою клітиною, живим організмом складні та залишаються не до кінця вивченими. Відомо, що цей фізичний чинник є потужним оксидативним стрес-фактором для живої клітини [4]. Оксидативні ефекти радіочастотного випромінювання можуть бути пов'язані зі змінами у функціонуванні АФК-генеруючих систем клітин; прямим впливом на молекули води; конформаційними змінами важливих макромолекул тощо [5]. Відомо, що найбільш чутливими до впливу мікрохвильового випромінювання є ембріональні об'єкти. Дослідження на модельному об'єкті, яким є зародки *Misgurnus fossilis* L., актуальні з погляду виявлення біологічної дії ЕМП на ембріональний розвиток.

Метою роботи було дослідити вплив мікрохвильового опромінення на зміну вільнорадикальних процесів у зародках в'юна.

**Матеріали й методи дослідження.** Досліди проводили на зародках в'юна *Misgurnus fossilis* L. Яйцеклітини отримували і запліднювали за методом, описаним Нейфахом [6]. Для отримання ікри самицям внутрішньом'язово вводили хоріонічний гонадотропін за 24–48 год перед проведенням експерименту. Доза гормону становила від 250 МО (лютий–червень) до 500 МО (з жовтня). Самця декапітували, сім'яники подрібнювали і за-

ливали відстояною водопровідною водою. Усі досліди з в'юнами проводили з дотриманням вимог Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, яких використовують з експериментальною та науковою метою.

Запліднення ікри проводили в чашках Петрі, додаючи суспензію сперміїв. Для задовільного запліднення ікри контакт зі спермою становив 5–10 хв. Потім запліднену ікру відмивали від сперміїв та інкубували за температури 21–22°C у розчині Гольтфретера. Стадії розвитку контролювали візуально під бінокулярним мікроскопом МБС9. Дослідження проводили на зародках в'юна, які відповідали: першому дробленню зиготи (2 бластомери), четвертому (16 бластомерів), шостому (64 бластомери), восьмому (256 бластомерів), десятому (1024 бластомери).

Як джерело електромагнітних хвиль 1850 МГц використовували генератор ЕМВ, який був розроблений ученими Харківського національного університету ім. В. Н. Каразіна. Зародки піддавали одноразовому опроміненню відразу після запліднення на відстані 15 см при густині потоку електромагнітної енергії 0,00197 мкВт/см<sup>2</sup> протягом 5, 10 та 20 хв.

У відібраних зразках визначали інтенсивність процесів ліпопероксидації за вмістом вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ТБК-позитивних продуктів) [7]. Концентрацію білка в кожному зразку визначали за методом Лоурі [8]. Статистичну обробку результатів досліджень проводили з використанням програми «Excel2016» для Windows. Для оцінки достовірності різниці між статистичними характеристиками двох альтернативних сукупностей даних обчислювали коефіцієнт Стьюдента. Достовірною вважалася різниця при показнику достовірності  $p \geq 0,95$  (або рівні значущості  $P < 0,05$ ),  $p \geq 0,99$  (або рівні значущості  $P < 0,01$ ),  $p \geq 0,999$  (або рівні значущості  $P < 0,001$ ).

Експериментальний матеріал опрацьовували методом двофакторного дисперсійного аналізу. Визначали відносні частки впливу джерела мікрохвильового випромінювання за тривалості опромінення 5, 10 і 20 хв та фактора часу розвитку (60, 150, 210, 270 і 330 хв) на зміну вмісту ТБК-позитивних продуктів на фоні дії чинників, які не враховували в експерименті. Результати обробки подані у вигляді рисунків.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Вплив різноманітних фізико-хімічних чинників на живу систему призводить до порушення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги [9,10,11]. У літературі є суперечливі дані про вплив ЕМВ на вільнорадикальні процеси. Це можна пояснити різними умовами експериментів: частотними характеристиками ЕМП, густиною потужності, різною тривалістю опромінення, стадією розвитку організмів, на якій проводився вплив. Відомо, що ЕМВ РЧ діапазону спричиняє як зростання, так і зниження рівня МДА у тканинах щурів [10,12,13]. У наших попередніх роботах було встановлено, що мікрохвильове випромінювання спричиняє істотну активацію вільнорадикальних процесів [14,15].

У результаті досліджень встановлено, що за дії мікрохвильового випромінювання (1850 МГц) в зародках в'юна порушується вміст продуктів ліпопероксидації. На стадії розвитку 2 бластомерів зародків в'юна вміст ТБК-позитивних продуктів за впливу ЕМВ РЧ діапазону протягом 5 хв зростає на  $16,5 \pm 3,5$  %, щодо контролю, що відповідає  $0,72 \pm 0,02$  мкмоль/мг білка (рис. 1). Однак на стадії 16 бластомерів ЕМВ такої ж тривалості не викликає достовірних змін досліджуваного показника. На стадіях розвитку 64, 256 та 1024 бластомерів після опромінення генератором ЕМВ протягом 5 хв вміст вторинних продуктів ПОЛ достовірно знижується, порівняно з контролем на  $26 \pm 5,9$  %,  $21,2 \pm 6,6$  % та  $31,4 \pm 2,8$  % відповідно, що становить  $0,65 \pm 0,03$ ,  $0,54 \pm 0,02$ ,  $0,73 \pm 0,02$  мкмоль/мг білка.

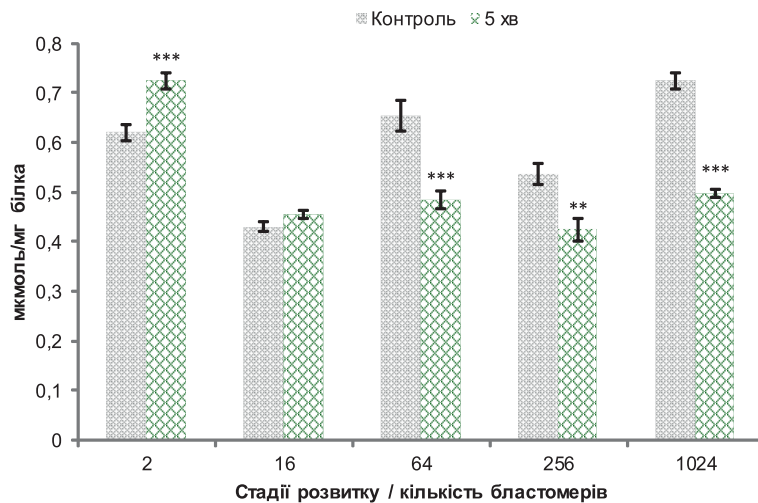


Рис. 1. Вміст ТБК-позитивних продуктів зародків в'юна за впливу електромагнітного випромінювання радіодіапазону тривалістю 5 хв упродовж ембріогенезу. Тут і далі вірогідні зміни порівняно із контролем: \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$

Встановлено істотне зниження вмісту вторинних продуктів ліпопероксидації на стадіях розвитку 64, 256 та 1024 бластомерів за впливу ЕМВ тривалістю 10 хв. Досліджуваний показник знижується щодо контролю на  $44,1 \pm 6,4$  %,  $49,2 \pm 5,5$  %,  $28,4 \pm 2,7$  %, відповідно, що становить  $0,36 \pm 0,02$ ,  $0,27 \pm 0,01$ ,  $0,52 \pm 0,008$  мкмоль/мг білка. Проте на стадії 16 бластомерів зародків в'юна спостерігається вірогідне зростання вмісту вторинних продуктів ПОЛ на  $15,9 \pm 3,6$  %, що становить  $0,5 \pm 0,01$  мкмоль/мг білка.

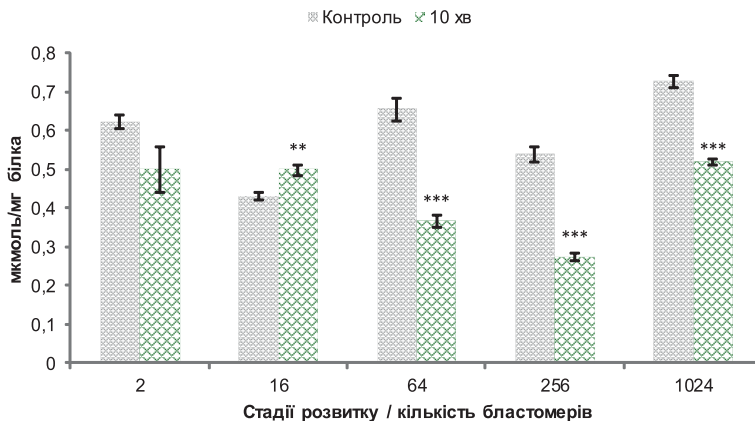


Рис. 2. Вміст ТБК-позитивних продуктів зародків в'юна за впливу електромагнітного випромінювання радіодіапазону тривалістю 10 хв упродовж ембріогенезу

Збільшення експозиції ЕМВ РЧ зародків до 20 хв спричиняє зниження вмісту ТБКпозитивних продуктів у зародкових об'єктах на стадіях розвитку 2, 16, 64 та 256 бластомерів на 26–42 %, порівняно з контролем (рис. 2). Мінімальних значень вміст вторинних продуктів ПОЛ досягає на стадії 8-го поділу бластомерів і становить  $0,22 \pm 0,009$  мкмоль/мг білка, що на  $58,8 \pm 5,6$  % менше, ніж у контролі. Проте відсутня вірогідна різниця у вмісті ТБК-позитивних продуктів на стадії 10-го поділу бластомерів зародків в'юна за дії ЕМВ радіодіапазону тривалістю 20 хв.

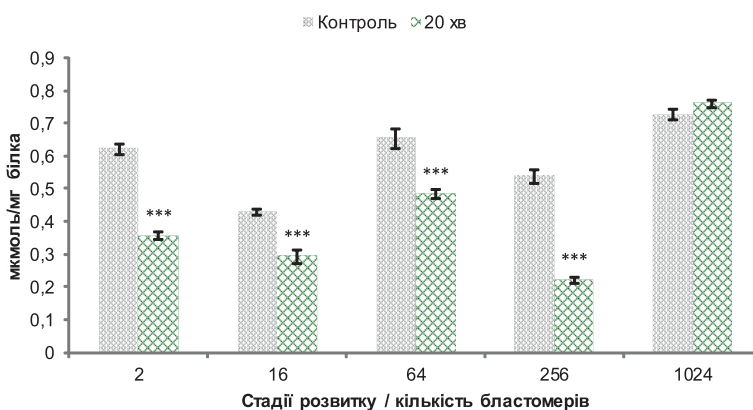


Рис. 3. Вміст ТБК-позитивних продуктів зародків в'юна за впливу електромагнітного випромінювання радіодіапазону тривалістю 20 хв упродовж ембріогенезу

Істотне зниження процесів вільнорадикального окиснення впродовж ембріогенезу в'юна може свідчити про запуск репараційних процесів у клітині.

Для визначення причин, від яких більше залежить зміна вмісту вторинних продуктів ліпопероксидації впродовж ембріогенезу зародків в'юна, ми вважали за доцільне кількісно оцінити вплив ЕМВ та тривалості розвитку.

У результаті проведеного аналізу встановлено (рис. 4), що частка впливу ЕМВ радіодіапазону тривалістю 5 хв на зміни вмісту ТБК-позитивних продуктів зародків в'юна неістотна (3,4 %), тоді як внесок фактора тривалості розвитку становить 70,3 %. Зі збільшенням тривалості опромінення до 10 та 20 хв частка впливу ЕМВ у мінливість вмісту вторинних продуктів ПОЛ зростає до 40,7 % та 59,6 % ( $P < 0,05$ ) відповідно. Внесок фактора часу розвитку становить 23,4 % та 34,2 % за експозиції 5 та 10 хв відповідно.

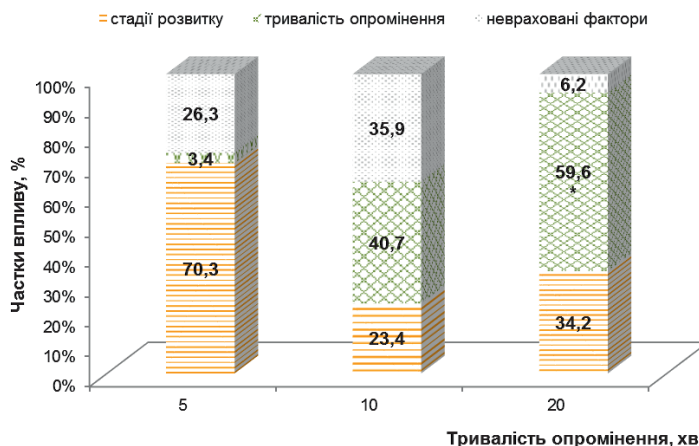


Рис. 4. Дисперсійний аналіз впливу зміни тривалості електромагнітного випромінювання радіодіапазону та часу розвитку на вміст ТБК-позитивних продуктів упродовж ембріогенезу в'юна

Проаналізувавши частки впливу досліджуваних чинників на вміст ТБК-позитивних продуктів, можна зробити висновок, що ЕМВ радіодіапазону тривалістю 20 хв має суттєвий внесок у мінливість вищевказаного показника.

**Висновки.** Аналіз отриманих результатів дає підстави зробити висновок про те, що на ранніх стадіях розвитку зародків в'юна знижується вміст вторинних продуктів ліпопероксидації, що може свідчити про перебіг адап-

таційних процесів та меншу чутливість досліджуваного об'єкта до впливу ЕМВ тривалістю 5–20 хв.

Отже, нами встановлено, що вплив мікрохвильового випромінювання низької інтенсивності (1850 МГц) призводить до порушення процесів ліпопероксидації, про що свідчить зміна вмісту ТБК-позитивних продуктів. Результати потребують проведення подальших досліджень та вивчення впливу ЕМВ РЧ діапазону на активність ензимів антиоксидантної системи захисту впродовж ембріогенезу в'юна.

*Рекомендовано до друку комісією з біоетики*

#### ПОСИЛАННЯ

1. Redlarski G, Lewczuk B, Żak A, Koncicki A, Krawczuk M. The Influence of electromagnetic pollution on living organisms: historical trends and forecasting changes. *BioMed Res. Int.* 2015;1–18. Article ID 234098
2. Shchorbatov Y. The main approaches of studying the mechanisms of action of artificial electromagnetic fields on cell. *J. Electr. Electron. Syst.* 2014;3(2):123.
3. Yakymenko I, Sidorik E, Kyrylenko S, Chekhun V. Long-term exposure to microwave radiation provokes cancer growth: evidences from radars and mobile communication systems. *Exp Oncol.* 2011;33:62–70.
4. Yakymenko I, Tsybulin O, Sidorik E, Henshel D, Kyrylenko O, Kyrylenko S. Oxidative mechanisms of biological activity of low-intensity radiofrequency radiation. *Electromagn. Biol. Med.* 2015;19:1–16.
5. Yakymenko I, Sidorik E, Henshel D, Kyrylenko S. Low intensity radiofrequency radiation: a new oxidant for living cells. *Oxid. Antioxid. Med. Sci.* 2014;3:1–3.
6. Нейфах АА, Тимофеева МЯ. Проблемы регуляции в молекулярной биологии развития. М.: Наука. 1978:336 (Neifach A, Timofeeva M. *Molecular biology of development processes.* М.: Наука. 1977:311. [in Russian]).
7. Тимирбулатов РР, Селезнев ЕИ. Метод повышения интенсивности свободнорадикального окисления липидосодержащих компонентов крови и его диагностическое значение. Лаб. Дело. 1981;4:209–11 (Timirbulatov R, Seleznev E. *Method for increasing intensity of free radical oxydation of blood lipid containing components and its diagnosis value.* Lab. Manuals. 1981;4:209–11. [in Russian]).
8. Lowry OH. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry.* 1951;193(1):404–15.
9. Семочко ОМ, Мандзынець СМ, Бура МВ, Санагурський ДІ, Ференсович ЯП. Вплив випромінювання синього та зеленого спектра на процеси ліпопероксидації зародків в'юна. Фізика живого. 2011;19(2):24–30 (Semochko O, Mandzynets S, Bura M, Sanagursky D, Ferensovich Ya. *Influence of the blue and green light on processes of lipid peroxidation loach embryos.* Physics of the alive. 2011;19(2):24–30. [In Ukrainian]).
10. Shahin S, Singh SP, Chaturvedi CM. 2.45 GHz microwave radiation induced oxidative and nitrosative stress mediated testicular apoptosis: Involvement of a p53 dependent bax-caspase-3 mediated pathway. *Environmental Toxicology.* 2018;33(9):931–45.
11. Yakymenko I, Burlaka A, Tsybulin O, Brieieva O, Buchynska L, Tsehmistrenko S et al. Oxidative and mutagenic effects of low intensity GSM 1800 MHz microwave radiation. *Experimental Oncology.* 2018;40(4):282–7.
12. Sahin D, Ozgur E, Guler G, Tomruk A, Unlu I, Sepici-Dinçel A et al. The 2100 MHz radiofrequency radiation of a 3G-mobile phone and the DNA oxidative damage in brain. *Journal of chemical neuroanatomy.* 2016;75:94–8.
13. Achudume AC, Onibere B, Aina F. Bioeffects of electromagnetic base station on glutathione reductase, lipid peroxidation and total cholesterol in different tissues. *Biology and Medicine.* 2009;1:33–8.
14. Яремчук ММ, Дика МВ, Санагурський ДІ. Активність прооксидантно-антиоксидантної системи в зародків в'юна за впливу мікрохвильового випромінювання. Укр. біохім. журнал. 2014;86(5):142–150 (Yaremchuk M, Dyka M, Sanagursky D. *The activity of prooxidant-antioxidant system in loach embryos under the action of microwave radiation.* Ukr. Biochem. J. 2014;86(5):142–50 [In Ukrainian]).
15. Яремчук ММ, Дика МВ, Санагурський ДІ. Вплив мікрохвильового випромінювання на вільнорадикальні процеси і активність  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФ-ази зародків в'юна. Біологічні студії. 2015;9(1):97–108 (Yaremchuk M, Dyka M, Sanagursky D. *Microwave radiation influence on free-radical processes and  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase activity in loach embryos.* Studia Biologica. 2015;9(1):97–108). [In Ukrainian]).

## RESEARCH ARTICLE

**Lipid Peroxidation Processes in Loach Embryos  
under the Effect of Microwave Radiation**

M. YAREMCHUK<sup>1</sup>, O. SEMOCHKO<sup>1</sup>, A. HENEHA<sup>1</sup>, M. DYKA<sup>1</sup>, A. TARNOVSKA<sup>1</sup>,  
Yu. SHCORBATOV<sup>2</sup>, D. SANAGURSKY<sup>1</sup>, O. SHCHEBENTOVSKA<sup>3</sup>,  
A. KOSTYNIUK<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Ivan Franko Lviv National University, Lviv, Ukraine

E-mail: yaremchukmariya16@gmail.com

<sup>2</sup>V.N. Karazin Kharkiv National University, Kharkiv, Ukraine

<sup>3</sup>Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies, Lviv, Ukraine

Various physical and chemical factors influence leads to disruption of pro-oxidant and antioxidant systems. Interaction between electromagnetic field and living cell and organism are complicated and is currently obscure. Well known that embryonic objects are sensitive to the effects of radiofrequency electromagnetic radiation (RF EMR). The aim of this study was to evaluate the effect of microwave radiation on free radical processes changes in loach embryos.

The experiment has been carried out on loach embryos (*Misgurnus fossilis* L.). Zygotes were exposed to microwave radiation created by electromagnetic wave (EMW) generator and immediately after fertilization (5, 10 and 20 minutes exposure). EMW generator with 0,00197 mW/cm<sup>2</sup> energy intensity was in a distance of 3 centimeters above the Petri dishes. In selected samples determined the intensity of lipid peroxidation process by the content of secondary product of lipid peroxidation by Timirbulatov method. Quantitation of total protein content in the membrane preparation was determined by Lowry method. Statistical processing of experimental data was carried out by two-way analysis of variance.

The results of recent studies indicate that microwave radiation leads to significant activation of free radical processes. Current data indicates that effect of radiofrequency EMR at 5, 10 to 20 minutes duration causes reduction of lipid peroxidation at early stages of embryos development.

It was established that in the early hours of germs microwave radiation at 5 minutes leads to significant increasing of MDA level by 16,5±3,5 %, but on stage 16 blastomers there were tendency to the elevation as compared to control (P > 0.05). However, on stage 64, 256 and 1024 blastomers was found significant decreasing of MDA level by 21–31 % under the effect of RF EMR at 5 minutes duration.

Same tendency in MDA level changes observed under the action of 10 min exposure of low-intensity microwave radiation.

Higher exposure of radiofrequency EMR (20 minutes) leads to a significant decrease in MDA levels by 26–42 % on stage 2, 16, 64 and 256 blastomers compared with the control. However, 20 minutes exposure leads to not confidentially significant MDA level changes at the last stage of synchronous divisions of blastomers (X division, 330 minutes).

Analysis of variance results specify the significant EMR influence at 20 minute on lipid peroxidation indexes (59,6 %).

The results suggested that the influence of low-intensity microwave radiation (1850 MHz) leads to disruption of lipoperoxidation processes. Further studies on the effects of radiofrequency EMR on the enzyme activity of antioxidant defense system of loach embryos are needed.

**Key words:** microwave radiation, loach embryos, lipid peroxidation, malondialdehyde (MDA).