



УДК 537.8

<http://dx.doi.org/10.15407/dopovidi2016.04.118>

О. С. Цибулін¹, І. Л. Якименко², Є. П. Сидорик³

¹Білоцерківський національний аграрний університет

²Національний університет харчових технологій, Київ

³Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р. Є. Кавецького НАН України, Київ

E-mail: alex.tsybulin@gmail.com

Захисний ефект монохроматичного червоного світла LED від оксидативної дії надвисокочастотного електромагнітного випромінювання

(Представлено академіком НАН України В. Ф. Чехуном)

Наявність виражених оксидативних ефектів низькоінтенсивного електромагнітного випромінювання надвисокочастотного (НВЧ) діапазону зумовлює необхідність пошуку нових шляхів захисту живих організмів від шкідливої дії цього виду випромінювання. У роботі показано достовірний протекторний антиоксидантний ефект монохроматичного червоного світла світлодіодів (LED, $\lambda = 630 \div 650$ нм) щодо ембріонів перепела японського, попередньо опромінених низькоінтенсивним НВЧ випромінюванням стандарту GSM 900 МГц.

Ключові слова: електромагнітне випромінювання, ембріогенез, оксидативний стрес, фототерапія, антиоксиданти.

Офіційне визнання електромагнітного випромінювання (ЕМВ) радіочастотного діапазону можливим канцерогеном для людини (група 2В) Міжнародною агенцією з дослідження раку, що є структурним підрозділом Всесвітньої організації охорони здоров'я, стало важливою віхою в оцінці глобальних ризиків, що несе для людства стрімкий розвиток бездротових технологій [1]. До того ж у ряді епідеміологічних досліджень було показано достовірне збільшення ризику ряду патологій, у тому числі пухлин головного мозку, невриноми слухового нерва, змін гормонального статусу та фізіологічних показників у осіб, що перебувають під тривалим впливом ЕМВ радіочастотного діапазону [2]. У той же час відсутність чітких уявлень про молекулярні механізми таких впливів ЕМВ була однією з перешкод на шляху широкого визнання даного феномену. Проте протягом останніх років у багатьох лабораторіях світу було виявлено виражені оксидативні ефекти ЕМВ радіодіапазону, у тому

© О. С. Цибулін, І. Л. Якименко, Є. П. Сидорик, 2016

числі з активацією ключових клітинних систем генерації активних форм кисню (АФК) та окисним ушкодженням ДНК [3]. При цьому окисдаційні ефекти спостерігалися при дуже низьких інтенсивностях випромінювання, на 3–4 порядки менших, ніж міжнародні норми електромагнітної безпеки для неіонізуючого випромінювання.

Раніше нами було показано, що монохроматичне червоне світло гелій-неонового лазера або світлодіодів (LED) за певних режимів справляють виражену антиоксидантну дію на ембріони птиці [4]. У даній роботі нами проведено оцінку ефективності використання червоного світла LED для захисту ембріональних клітин від негативних ефектів ЕМВ радіочастотного діапазону стандарту GSM.

У дослідженні використовували ембріони перепела японського (*Japanese quail*). Було сформовано три групи свіжих інкубаційних яєць ($n = 8 \div 10$). Перша група служила контролем, другу групу піддавали дії НВЧ випромінювання стандарту GSM 900 МГц, третю групу опромінювали НВЧ випромінюванням і додатково — монохроматичним червоним світлом LED. Ембріони інкубували *in ovo* до 38-ї години розвитку, після чого оцінювали рівень їх розвитку за кількістю пар диференційованих сомітів, а також показники прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в ембріональних клітинах.

За джерело ЕМВ НВЧ діапазону використовували 3G USB-модем Huawei E173 та комерційну модель мобільного телефону Nokia 3120, які активізували комп'ютерною програмою автододзвону в такому режимі: 48 с — “увімкнено”, 12 с — “вимкнено”. В стані “увімкнено” система випромінювала ЕМВ стандарту GSM 900 МГц з інтенсивністю 14 мВт/см^2 у зоні розташування біологічного об'єкта. Інтенсивність випромінювання оцінювали за допомогою вимірювача ЕМВ радіочастотного діапазону (RF Field Strength Meter, Alfabab Inc., США).

Як джерело монохроматичного червоного світла використовували світлодіодну матрицю (20 світлодіодів L7113 PDC/H, $\lambda = 630 \div 650 \text{ нм}$), що давала в зоні знаходження біологічного об'єкта інтенсивність світла $0,1 \text{ мВт/см}^2$. Перепелині ембріони другої групи опромінювали ЕМВ НВЧ діапазону стандарту GSM 900 МГц *in ovo* в такому режимі: 120 год — до інкубації та 38 год — протягом перших двох діб інкубації. Ембріони третьої групи опромінювали НВЧ випромінюванням у такому ж режимі та додатково протягом 180 с ($3 \times 60 \text{ с}$) монохроматичним червоним світлом LED під час інкубації.

Ембріони дослідних і контрольної груп інкубували в однакових стандартних умовах з екрануванням металевою фольгою однієї групи від іншої. Ембріональний розвиток зупиняли після 38 год інкубації. Інтенсивність ембріонального розвитку оцінювали за кількістю пар диференційованих сомітів на 38-му годину інкубації (мікроскопічно).

Стан прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в ембріональних клітинах оцінювали за рівнем пероксидних ліпідних сполук, що реагували з тіобарбітуровою кислотою (ТБК-РС) [5]. Крім цього, визначали активність ферментів антиоксидантного захисту (супероксиддисмутази (СОД) та каталази) [6, 7]. В експериментах *in vitro* визначали вплив ЕМВ радіочастотного діапазону стандарту GSM 900 МГц на активність модельних розчинів СОД та каталази (під час постановки реакції щодо визначення ферментативної активності). Час впливу ЕМВ в експериментах *in vitro* становив 10 хв, інтенсивність випромінювання — $0,25 \text{ мВт/см}^2$. Крім того, в експерименті *in vitro* визначали можливість реактивації ферментів антиоксидантного захисту монохроматичним червоним світлом LED (інтенсивністю $0,1 \text{ мВт/см}^2$; час впливу 10 хв).

Опромінення ембріонів ЕМВ НВЧ діапазону стандарту GSM 900 МГц призвело до незначного, але достовірного пригнічення сомітогенезу, що виявлялося в зменшенні кількості пар диференційованих сомітів на 11,2% ($p < 0,05$) порівняно з контролем. У той же час за

умов додаткового опромінення ембріонів монохроматичним червоним світлом LED відбувалося відновлення інтенсивності сомітогенезу до рівня контролю (рис. 1, табл. 1).

ЕМВ стандарту GSM 900 МГц викликало виражений оксидативний стрес у ембріональних клітинах. Зокрема, рівень ТБК-реагуючих пероксидних ліпідних сполук у клітинах НВЧ опромінених ембріонів виявився на 37,5% ($p < 0,05$) вищим за контроль. Крім того, активність СОД і особливо каталази була значно знижена в клітинах НВЧ опромінених ембріонів: активність СОД на 17,3%, а каталази на 78,6% ($p < 0,01$) порівняно з контролем.

Опромінення ембріонів монохроматичним червоним світлом LED ($\lambda = 630 \div 650$ нм) привело до достовірного відновлення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в ембріональних клітинах. Зокрема, рівень ТБК-реагуючих пероксидних ліпідних сполук у клітинах ембріонів, опромінених ЕМВ стандарту GSM 900 МГц та монохроматичним червоним світлом LED, знизився на 30,4% ($p < 0,001$) порівняно з показником ембріонів, опромінених тільки ЕМВ стандарту GSM. Крім того, активність каталази істотно, на 99,2% ($p < 0,01$), підвищилася після дії монохроматичного червоного світла на ембріони, попередньо опромінені ЕМВ стандарту GSM, і практично повернулася до контрольного рівня (див. табл. 1).

Для з'ясування, чи є зміна активності ферментів антиоксидантного захисту реакцією на зміну рівня АФК у клітинах, чи обумовлена прямою дією випромінювання на ферменти, нами були проведені модельні опромінення розчинів ферментів *in vitro*. Виявилося, що опромінення розчину кристалічного ферменту СОД (10 мкМ) НВЧ випромінюванням стандарту GSM 900 МГц інтенсивністю 0,25 мВт/см² протягом 10 хв викликало істотне, на 64,3% ($p < 0,001$), зменшення активності ферменту порівняно з контрольним (неопроміненим) розчином ферменту. Разом з тим за умов додаткової дії на розчин СОД монохроматичного червоного світла LED ($\lambda = 630 \div 650$ нм, 0,1 мВт/см², 10 хв) одночасно з НВЧ випромінюванням стандарту GSM спостерігалось істотне, на 46% ($p < 0,05$), відновлення активності ферменту (рис. 2).

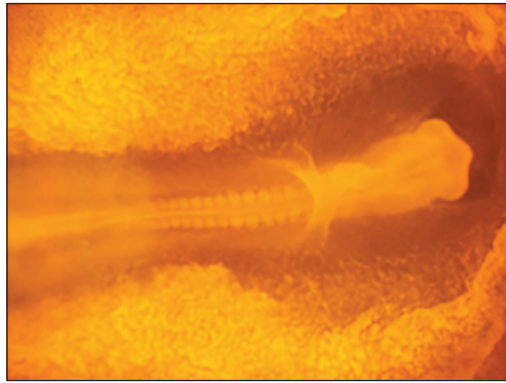
Аналогічно, опромінення гомогенату тканин 38-год перепелиного ембріона *in vitro* протягом 10 хв НВЧ випромінюванням стандарту GSM 900 МГц приводило до достовірного, на 23,4% ($p < 0,001$), пригнічення активності каталази. Одночасна дія на гомогенат монохроматичного червоного світла LED сприяла відновленню активності каталази на 21,4% ($p < 0,05$) порівняно зі зразками, опроміненими тільки НВЧ випромінюванням (рис. 3).

Отримані нами дані засвідчують значний оксидативний потенціал ЕМВ радіочастотного діапазону малих інтенсивностей. Слід відзначити, що протягом останніх років оксидативні ефекти ЕМВ радіодіапазону виявлені на різних біологічних моделях під дією інтенсивностей випромінювання, що є значно меншими за офіційно визнані міжнародні стандарти

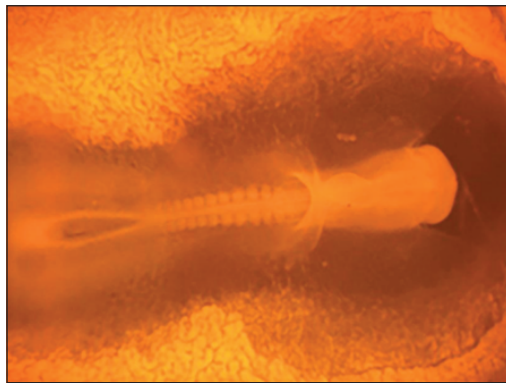
Таблиця 1. Вплив НВЧ випромінювання стандарту GSM 900 МГц та монохроматичного червоного світла LED ($\lambda = 630 \div 650$ нм) на інтенсивність сомітогенезу та показники прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в клітинах 38-год перепелиних ембріонів, $n = 7$; $M \pm m$.

Показник	Контроль	Дослідна I	Дослідна II
Випромінювання	–	НВЧ	НВЧ + LED
Доза опромінення, мДж/см ²	–	6370	6370 + 18
Кількість сомітів, шт	11,63 ± 0,42	10,33 ± 0,33*	11,71 ± 0,56
ТБК-РС, мкмоль/г	0,797 ± 0,099	1,096 ± 0,025*	0,763 ± 0,054 ⁺⁺⁺
Активність СОД, ум. од.	0,163 ± 0,026	0,139 ± 0,012	0,112 ± 0,021
Активність каталази, нкат/г	7,921 ± 0,855	4,434 ± 0,517**	8,834 ± 1,086 ⁺⁺

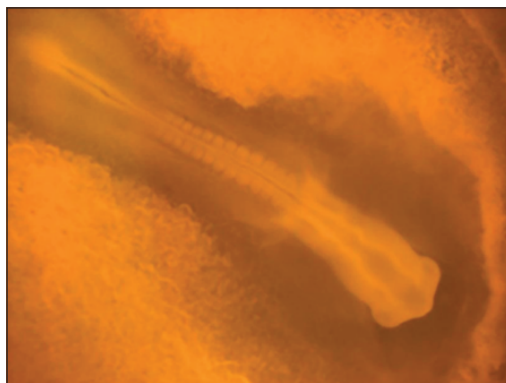
* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ порівняно з контролем; ⁺⁺ $p < 0,01$, ⁺⁺⁺ $p < 0,001$ порівняно з дослідною групою I.



a



б



в

Рис. 1. Мікрофотографії ($\times 24$) 38-год ембріонів перепела японського: *a* — контроль (12 пар сомітів), *б* — після дії НВЧ випромінювання стандарту GSM 900 МГц (9 пар сомітів), *в* — після дії НВЧ випромінювання стандарту GSM 900 МГц та монохроматичного червоного світла LED, $\lambda = 630 \div 650$ нм (12 пар сомітів)

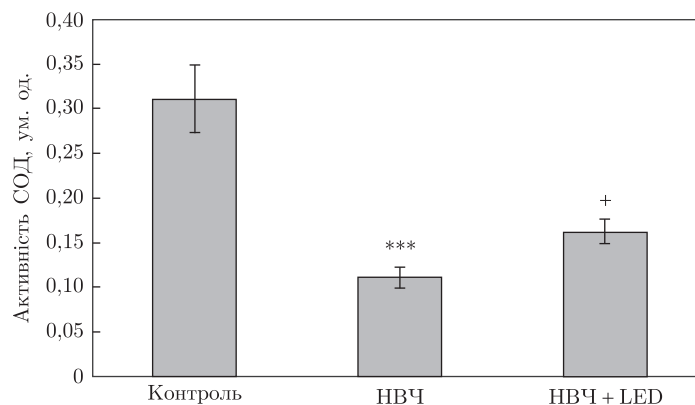


Рис. 2. Активність СОД у 10 мкМ розчині ферменту після дії HFV випромінювання стандарту GSM 900 МГц та монохроматичного червоного світла LED ($\lambda = 630 \div 650$ нм); $n = 7$; $M \pm m$.
 *** $p < 0,001$ порівняно з контролем; + $p < 0,05$ порівняно з HFV-групою

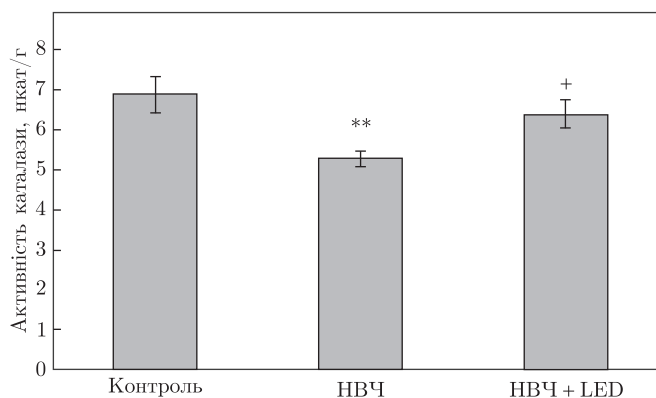


Рис. 3. Активність каталази в гомогенаті тканин 38-год перепелиних ембріонів після дії *in vitro* HFV випромінювання стандарту GSM 900 МГц та монохроматичного червоного світла LED ($\lambda = 630 \div 650$ нм); $n = 7$; $M \pm m$.
 ** $p < 0,01$ порівняно з контролем; + $p < 0,05$ порівняно з HFV-групою

електромагнітної безпеки [8, 9]. Застосовані в наших експериментах інтенсивності ЕМВ стандарту GSM 900 МГц (0,25 та 14 мкВт/см²) також на 2–3 порядки менші за рекомендовані Міжнародною комісією із захисту від неіонізуючого випромінювання [10]. При цьому нами вперше встановлено прямий ефект ЕМВ стандарту GSM 900 МГц надмалих інтенсивностей на активність ключових ферментів антиоксидантного захисту — СОД та каталазу в експериментах *in vitro*.

Важливим є те, що виявлення оксидативного механізму дії низькоінтенсивного ЕМВ радіодіапазону відкриває нові шляхи для зменшення негативного впливу даного виду випромінювання на живі системи. Зокрема, у ряді лабораторій було доведено ефективність класичних антиоксидантів (вітамін С і Е, глутатіон) для зменшення оксидативного стресу у клітинах, що був спричинений дією ЕМВ радіочастотного діапазону [11, 12]. У той же час відомо, що низькоінтенсивне монохроматичне червоне світло лазерів та LED за певних режимів чинить виражений антиоксидантний ефект. Зокрема, раніше нами було показано виражені регуляторні та антиоксидантні ефекти червоного світла гелій-неонового лазера та LED на моделі ембріона птиці [4, 13]. З огляду на це встановлений у даному дослідженні

виражений нормалізуючий та антиоксидантний вплив монохроматичного червоного світла LED на перепелині ембріони, попередньо опромінені ЕМВ стандарту GSM, є цілком логічним. Більше того, виявлені нами *in vitro* реактивуючі можливості монохроматичного червоного світла щодо ферментів антиоксидантного захисту — СОД та каталази, також були прогнозованими, оскільки раніше можливість реактивації цих ферментів червоном лазерним світлом було доведено, наприклад, в експериментах з пригніченням активності ферментів внаслідок зміни рН середовища [14]. Важливо, що обидва ферменти мають виражені піки поглинання в червоній ділянці спектра, механізми їх реактивації були описані раніше. Водночас отримані нами ефекти прямого пригнічення активності цих ферментів низькоінтенсивним ЕМВ стандарту GSM 900 МГц не мають чіткого пояснення і потребують подальшого вивчення. Адже енергії радіовипромінювання недостатньо для прямої активації електронів атомів та молекул речовини. Разом з тим раніше було експериментально показано, що радіочастотне випромінювання НВЧ діапазону здатне спричиняти конформаційні зміни в біологічно важливих макромолекулах і значно змінювати активність АФК-генеруючих систем, зокрема активність НАДН-оксидази [15].

У цілому отримані нами дані засвідчують виражені оксидативні ефекти низькоінтенсивного ЕМВ радіочастотного діапазону стандарту GSM 900 МГц на ембріональні клітини в умовах *in vivo* та активність ферментів антиоксидантного захисту в умовах *in vitro*. Крім того, встановлено виражений нормалізуючий вплив монохроматичного червоного світла LED на ранній розвиток ембріонів птиці та стан прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в ембріональних клітинах, що дає підставу розглядати цей фактор як потенційний засіб ефективного зменшення ризиків від надлишкового опромінення живих систем НВЧ випромінюванням від сучасних систем бездротового зв'язку.

Робота виконана за підтримки НАН України, грант № 2.2.5.376.

Цитована література

1. Baan R., Grosse Y., Lauby-Secretan B. et al. Carcinogenicity of radiofrequency electromagnetic fields // *Lancet. Oncol.* – 2011. – **12**. – P. 624–626.
2. 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**. – P. 62–70.
3. Yakymenko I., Sidorik E., Henshel D., Kyrylenko S. Low intensity radiofrequency radiation: a new oxidant for living cells // *Oxid. Antioxid. Med. Sci.* – 2014. – **3**. – P. 1–3.
4. Якименко И. Л., Сидорик Е. П. Регулирующее действие низкоинтенсивного лазерного излучения на состояние антиоксидантной системы организма // *Укр. биохим. журн.* – 2001. – **73**. – С. 16–23.
5. Андреева Л. И., Кожемякин Л. А., Кишкун А. А. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // *Лаб. дело.* – 1988. – № 11. – С. 41–43.
6. Чевари С., Чаба И., Секей Й. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах // *Лаб. дело.* – 1985. – № 11. – С. 678–681.
7. Королюк М. А., Иванова Л. И., Майорова И. Г., Токарев В. Е. Метод определения активности каталазы // *Лаб. дело.* – 1988. – № 1. – P. 16–19.
8. Burlaka A., Tsybulin O., Sidorik E. et al. Overproduction of free radical species in embryonal cells exposed to low intensity radiofrequency radiation // *Exp. Oncol.* – 2013. – **35**. – P. 219–225.
9. Oksay T., Naziroğlu M., Doğan S. et al. Protective effects of melatonin against oxidative injury in rat testis induced by wireless (2.45 GHz) devices // *Andrologia.* – 2014. – **46**. – P. 65–72.
10. ICNIRP. Guidelines for limiting exposure to time-varying electric, magnetic and electromagnetic fields (up to 300 GHz) // *Health Phys.* – 1998. – **74**. – P. 494–522.
11. Jelodar G., Akbari A., Nazifi S. The prophylactic effect of vitamin C on oxidative stress indexes in rat eyes following exposure to radiofrequency wave generated by a BTS antenna model // *Int. J. Radiat. Biol.* – 2013. – **89**. – P. 128–131.

12. Oral B., Guney M., Ozguner F. et al. Endometrial apoptosis induced by a 900-MHz mobile phone: preventive effects of vitamins E and C // Adv. Ther. – 2006. – **23**. – P. 957–973.
13. Якименко І. Л., Цибулін О. С. Регуляторна дія низькоінтенсивного видимого світла на сомітогенез птці // Доп. НАН України. – 2007. – № 2. – P. 163–168.
14. Vladimirov Y. A., Gorbatenkova E. A., Paramonov N. V., Azizova O. A. Photoreactivation of superoxide dismutase by intensive red (laser) light // Free Radic. Biol. Med. – 1988. – **5**. – P. 281–286.
15. Friedman J., Kraus S., Hauptman Y. et al. Mechanism of short-term ERK activation by electromagnetic fields at mobile phone frequencies // Biochem. J. – 2007. – **405**. – P. 559–568.

References

1. Baan R., Grosse Y., Lauby-Secretan B. et al. Lancet. Oncol., 2011, **12**: 624–626.
2. Yakymenko I., Sidorik E., Kyrylenko S., Chekhun V. Exp. Oncol., 2011, **33**: 62–70.
3. Yakymenko I., Sidorik E., Henshel D., Kyrylenko S. Oxid. Antioxid. Med. Sci., 2014, **3**: 1–3.
4. Yakymenko I. L., Sidorik E. P. Ukr. Biohim. J., 2001, **73**: 16–23 (in Russian).
5. Andreeva L. I., Kozhemiakin L. A., Kishkun A. A. Lab. delo, 1988, No 11: 41–43 (in Russian).
6. Chavari S., Chaba I., Sekui I. Lab. delo, 1985, No 11: 678–681 (in Russian).
7. Koroluk M. A., Ivanova L. I., Majorova I. G., Tokarev V. E. Lab. delo, 1988, No 1: 16–19 (in Russian).
8. Burlaka A., Tsybulin O., Sidorik E. et al. Exp. Oncol., 2013, **35**: 219–225.
9. Oksay T., Naziroglu M., Doğan S. et al. Andrologia, 2014, **46**: 65–72.
10. ICNIRP. Health Phys., 1998, **74**: 494–522.
11. Jelodar G., Akbari A., Nazifi S. Int. J. Radiat. Biol., 2013, **89**: 128–131.
12. Oral B., Guney M., Ozguner F. et al. Adv. Ther., 2006, **23**: 957–973.
13. Yakymenko I. L., Tsybulin O. S. Dop. NAN Ukraine, 2007, No 2: 163–168 (in Ukrainian).
14. Vladimirov Y. A., Gorbatenkova E. A., Paramonov N. V., Azizova O. A. Free Radic. Biol. Med., 1988, **5**: 281–286.
15. Friedman J., Kraus S., Hauptman Y. et al. Biochem. J., 2007, **405**: 559–568.

Надійшло до редакції 06.07.2015

А. С. Цибулін¹, І. Л. Якименко², Е. П. Сидорик³

¹Белоцерковский национальный аграрный университет

²Национальный университет пищевых технологий, Киев

³Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, Киев

E-mail: alex.tsybulin@gmail.com

Защитный эффект монохроматического красного света LED от окислительного действия сверхвысокочастотного электромагнитного излучения

Наличие выраженных окислительных эффектов низкоинтенсивного электромагнитного излучения сверхвысокочастотного (СВЧ) диапазона обуславливает необходимость поиска новых путей защиты живых организмов от вредного воздействия этого вида излучения. В работе продемонстрирован достоверный защитный антиоксидантный эффект монохроматического красного света светодиодов (LED, $\lambda = 630 \div 650$ нм) на эмбрионах перепела японского, предварительно облученных низкоинтенсивным СВЧ излучением стандарта GSM 900 МГц.

Ключевые слова: электромагнитное излучение, эмбриогенез, окислительный стресс, фототерапия, антиоксиданты.

O. S. Tsybulin¹, I. L. Yakymenko², E. P. Sidorik³

¹Bila Tserkva National Agrarian University

²National University of Food Technologies, Kiev

³R. E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology of the NAS of Ukraine, Kiev

E-mail: alex.tsybulin@gmail.com

Protective effect of monochromatic red light of LED against the oxidative effects of microwave radiation

Oxidative mechanisms of hazard effects of radiofrequency radiation (RFR) were elucidated recently, and this opens new approaches for the protection of living organisms against harmful effects of RFR. We demonstrate the significant protective effect and the antioxidant potential of monochromatic red light of light-emitting diodes (LED, $\lambda = 630 \div 650$ nm) in microwave GSM 900 MHz exposed embryos of Japanese quails.

Keywords: electromagnetic radiation, embryogenesis, oxidative stress, phototherapy, antioxidants.