

Негативное влияние низкоинтенсивного импульсного электромагнитного излучения на гаметы и эмбрионы морских ежей

А.Л. Дроздов^{2,4}, В.М. Чудновский³, В.И. Юсупов^{1,3}

¹Институт проблем лазерных и информационных технологий РАН, Москва, г. Троицк, 142190; ²Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, Владивосток 690041; ³Тихоокеанский океанологический институт им. В. И. Ильичева ДВО РАН, Владивосток, 690041; ⁴Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, 690091

E-mail: anatoliyld@mail.ru

Аннотация

Однократное воздействие электромагнитными импульсами снижало количество активных сперматозоидов морских ежей и вызывало нарушения процессов дробления и гастрюляции у их эмбрионов.

Ключевые слова: гаметы, эмбрионы, морские ежи, импульсное электромагнитное поле, радиочастотный диапазон

The negative effect of low-intensity pulsed electromagnetic field on gametes and embryo of sea urchins

A.L.Drozhdov^{2,4}, V.M. Chudnovskiy³, V.I. Yusupov^{1,3}

¹Institute on Laser and Information Technologies of the Russian Academy of Sciences, Troitsk, Moscow, 142190; ²A.V. Zhirmunsky Institute of Marine Biology of the Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, Vladivostok 690041; ³V.I. Il'ichev Pacific Oceanological Institute of the Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, Vladivostok 690041; ⁴Far Eastern State University, Vladivostok 690950

E-mail: anatoliyld@mail.ru

Summary

The effect of pulsed electromagnetic radiation (carrier frequency 3 MHz) for gametes and embryos of sea urchins was recorded. Sperm motility decreased sharply and embryonic development of sea urchins was abnormal. Abnormal cell division and abnormal gastrulation at a considerable part of embryos of sea urchins was recorded.

Key words: gametes, embryo, sea urchins, low-intensity pulsed electromagnetic field, radio frequency range.

В биологии и медицине воздействие электромагнитных излучений (ЭМИ) радиочастотного диапазона на биологические объекты, в том числе и на человека, исследуют давно. Биологическая эффективность излучений, кроме частоты и длины волны, определяется также и энергией. Влияние ЭМИ может быть нейтральным, но может, как стимулировать, так и угнетать физиологические процессы [9; 14]. Показано, что ЭМИ могут способствовать возникновению злокачественных новообразований [1; 7; 11].

Установлено, что наибольшую биологическую активность имеют импульсные излучения [2], которые широко применяются в медицине и биотехнологиях. Медицина использует импульсное ЭМП радиочастотного диапазона для различных методов электролечения, таких как электростимуляция, диадинамотерапия, амплипульстерапия и др. В биотехнологиях импульсное ЭМИ применяются при обеззараживании воды и пищевых продуктов, для подавления активности ферментов, улучшения клеточной экстракции и гибридизации клеток. Во многих методиках используется кратковременные ($1 \times 10^{-9} - 3$ с) воздействие высоковольтными ($1 - 20$ кВ/см) импульсами [12; 18].

Доказано, что различные виды клеток неодинаково реагируют на одни и те же электрические импульсы с постоянно заданными параметрами в данном диапазоне. Предполагается, что эту особенность можно использовать в терапевтических целях для удаления патологических клеток, не причиняя вреда здоровым тканям [14; 16; 17]. В настоящее время рассматривается два основных механизма действия излучения радиочастотного диапазона на биологические объекты: тепловой, связанный с гипертермией, и нетепловой. Что касается действия низкоинтенсивных излучений, то они могут действовать только через нетепловой механизм, поскольку при их воздействии температура биологических систем практически не повышается [19].

Известно, что воздействие волн ультравысокой частоты 42,25 ГГц вызывало снижение плодовитости дафний и увеличивало их чувствительность к действию токсикантов [3], а воздействие низкочастотным магнитным полем с частотой 240 Гц приводило к снижению линейных размеров тела и биомассы рачков на протяжении пяти поколений [15].

Известно несколько гипотез, объясняющих действие низкоинтенсивных ЭМИ на биологические объекты смещением отдельных участков макромолекул (нетермическая денатурация), изменением белково-липидных взаимодействий в мембранах, изменением проницаемости клеточных мембран и нарушением ионных потоков, влиянием на процессы обмена веществ и т.д. [9], но некоторые исследователи отвергают возможность влияния ЭМИ малых интенсивностей на биологические объекты [20].

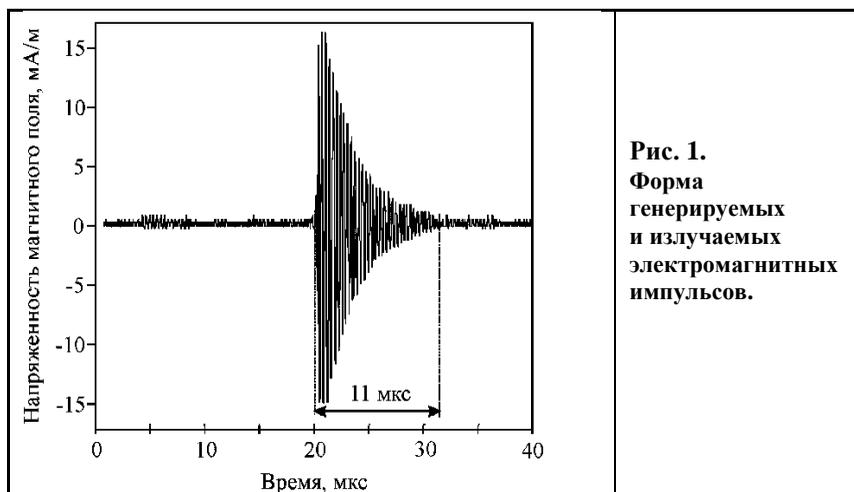
Использование гамет и эмбрионов беспозвоночных для биотестирования физико-химических факторов среды позволяет получать данные по отдалённым эффектам облучения, расширяющие представления о действии излучений на организмы. В биотестировании широко распространён биотест с использованием гамет, эмбрионов и личинок морских ежей [4; 5].

Целью настоящего исследования было изучение эффекта кратковременного воздействия низкоинтенсивного импульсного ЭМИ радиочастотного диапазона (3 МГц – граница СВ-КВ) на гаметы и эмбрионы морских ежей.

Материал и методы. Исследования проводились на Морской биологической станции «Восток» Института биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН. Объектом исследования служили гаметы, эмбрионы и личинки серого морского ежа *Strongylocentrotus intermedius* Agassiz, 1863 (Strongylocentrotidae, Echinoidea, Echinodermata). Морские ежи были отловлены в морском заказнике «Залив Восток» [11]. Для экспериментов гаметы получали инъекцией около 1 мл 1 М KCl в полость панциря готовых к нересту животных.

Исследования подвижности сперматозоидов проводили под микроскопом (Leica DM 2500, Germany), оборудованным цифровой камерой (Digital B/W camera RC-1002E, Taiwan), выполняющей съёмку со скоростью 25 кадров в секунду, что позволяло при покадровом сравнении определять скорости движения сперматозоидов. Для оценки степени воздействия низкоинтенсивного облучения на сперматозоиды применяли новую, разработанную авторами методику выделения активных сперматозоидов, основанную на определении фактора активности [6].

В качестве источника ЭМИ применялся оригинальный генератор затухающих импульсов длительностью 11 мкс, периодом 200 мкс, с частотой заполнения 3 МГц. Максимальная напряжённость магнитного поля под излучающей антенной - 17 мА/м, электрического - 6.4 В/м.



Облучение чашек Петри с гаметами и эмбрионами морских ежей производили в течение 30 секунд с расстояния 15 см. Эмбрионы облучали через 5-10 мин после осеменения, поскольку именно в этот момент происходят наиболее интенсивные перестройки

кортикального цитоскелета зигот, что имеет определяющее морфогенетическое значение [7; 8; 13].

Результаты и обсуждение. Влияние низкоинтенсивного импульсного излучения на сперматозоиды. В контроле сперматозоиды морских ежей *S. intermedius* сохраняли подвижность в течение суток, но доля подвижных спермиев постепенно падала с 92% в начальный момент до 72% через 12 ч и до 1 % через 23 ч. Через 6 ч после облучения достоверного уменьшения процента подвижных сперматозоидов по сравнению с контролем не наблюдалось, но через 12 ч этот показатель снизился в 16 раз (Рис. 2).

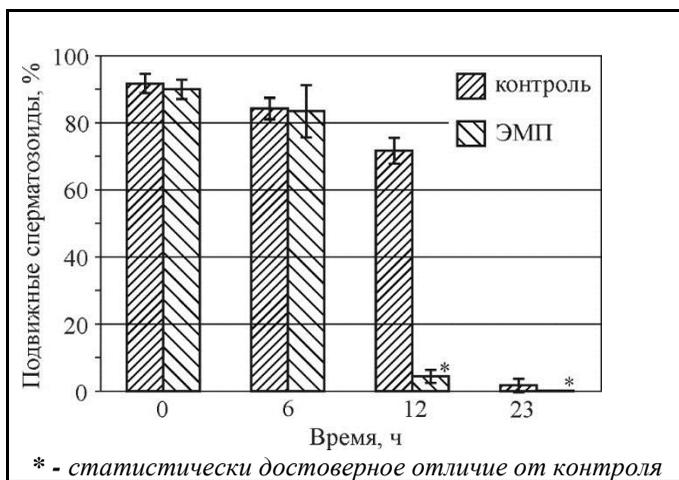


Рис. 2. Изменение подвижности сперматозоидов после кратковременного воздействия импульсным ЭМП.

Через 23 ч от момента воздействия в контрольных чашках ещё можно было наблюдать около 1% подвижных сперматозоидов, а чашках, подвергшихся облучению, все сперматозоиды неподвижно лежали на дне. Там же находились крупные агломераты из слипшихся сперматозоидов, погибших ранее, в течение всего опыта. Кроме того, в контрольных чашках наблюдалось большое

количество инфузорий и других эвкариотных простейших, относящихся к гетеротрофным жгутиконосцам, но в облучённых чашках живых организмов не было.

Влияние низкоинтенсивного импульсного излучения на эмбрионы. В контроле все эмбрионы развивались нормально до стадии поздней бластулы (Рис. 3А), а эмбрионы из облучённых яйцеклеток развивались аномально (Рис. 3Б).

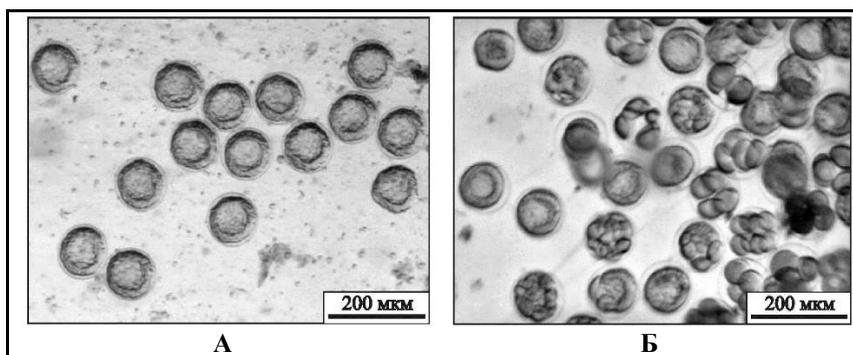


Рис. 3. А. Эмбрионы морского ежа *S. intermedius* в контроле.
Б. Аномальное развитие морского ежа *S. intermedius* через 24 ч после облучения яйцеклеток импульсным ЭМП.

На Рис. 3Б видны оплодотворённые яйца, иными словами, развитие некоторых подопытных организмов остановилось в первые же минуты после оплодотворения; видны также уродливые эмбрионы на стадиях 2, 4, 32 бластомера и морулы, иными словами, часть подопытных организмов развивалась с остановками, задержками и морфологическими аномалиями; лишь около 10 % эмбрионов развились до стадии поздней бластулы, как и в контроле.

Таким образом, выявлено губительное действие импульсного электромагнитного облучения радиочастотного диапазона (3 МГц), даже низкоинтенсивного и кратковременного, на гаметы и эмбрионы морских ежей *S. intermedius*. Облучение приводило к уменьшению подвижности сперматозоидов и к нарушению процессов дробления яйцеклетки и развития эмбрионов.

Работа выполнена при частичной поддержке Российского научного фонда (РНФ №14-25-00055).

Литература

1. Анисимов В.Н., Жукова О.В., Бениашвили Д.Ш., Биланишвили В.Г., Менабде М.З., Гупта Д. Влияние светового режима и электромагнитных полей на канцерогенез молочной железы у самок крыс // Биофизика. 1996. Т.41. Вып. 4. С.807-814.
2. Баньков В.И., Макарова Н.П., Николаев Э.К. Низкочастотные импульсные сложномодулированные электромагнитные поля в медицине и биологии. Екатеринбург: Изд-во Уральского университета, 1992. 100 с.
3. Гапочка Л.Д., Гапочка М.Г., Дрожжина Т.С. Исакова Е.Ф., Павлова А.С., Шавырина О.Б. Эффекты облучения электромагнитным полем миллиметрового диапазона низкой интенсивности культуры *Daphnia magna* на разных стадиях развития // Вестник Московского университета. Сер. 16. Биология. 2012. № 2. С. 43-48.
4. Диннел П.А. Эволюция и современный статус биотеста, основанного на оценке оплодотворяющей способности сперматозоидов морского ежа (Sea Urchin Sperm Test) // Биол. моря. 1995. Т. 21. № 6. С. 390-397.
5. Дроздов А.Л., Беленёва И.А., Лелёшкин Ф.Д., Устинович К.Б., Покровский О. И., Паренаго О.О. Влияние сверхкритических экстрактов зверобоя продырявленного и раствора гиперфорина на бактерий, гаметы, зиготы и эмбрионы морского ежа // Сверхкритические флюиды. Теория и практика. 2012. Т. 7, №. 4. С. 59-71.
6. Дроздов А. Л., Кару Т. Й., Чудновский В. М., Юсупов В. И., Баграташвили В. Н. Влияние низкоинтенсивного красного светодиодного и лазерного излучений на двигательную активность сперматозоидов морских ежей // Доклады АН. 2014. Т. 457, № 4. С. 487-490.
7. Дроздов А.Л., Подгорная О.И., Исаева В.В. Кортикальный цитоскелет неоплодотворенных и оплодотворенных яиц морского ежа // Цитология. 1986. Т. 29. № 3. С. 267-272.
8. Дроздов А.Л., Святогор Г.П. Морфогенетическая роль кортекса в развитии близнецов у морского ежа // Онтогенез. 1987. Т. 18, № 5. С. 540-546.
9. Межевикина Л.М., Колтун С.В., Горюшкин Г.Е., Тигранян Р.Э. Действие электромагнитного СВЧ-излучения на морфофункциональное состояние ранних зародышей мышей // Биофизика. 1990. Т. 35, вып. 5. С. 813-816.
10. Baum A., Mevissen M., Kamino K. et al. A histopathological study on alterations in dmbs-induced mammary carcinogenesis in rats with 50-Hz,

- 100-Mu-t magnetic-field exposure // *Carcinogenesis*. 1995. V.16, № 1. P. 119-125.
11. Dolganov S.M., Tyurin A.N. Marine Reserve «Zaliv Vostok» (Vostok Bay, Sea of Japan) // *Biodiversity and Environment of Far East Reserves = Биота и среда заповедников Дальнего Востока*. 2014. № 1. С. 9-24.
 12. Donthula V., Camps-Raga B., Islam N.E., Slusarz A., Lubahn D.B., Ganjam V. Effects of nanosecond pulsed electric fields on the human prostate cancer cell line Incap // *IEEE Trans. Dielec. Elec. Insul.* 2009. V. 16. P. 1311-1316.
 13. Drozdov A.L. The ultrastructure of cortical cytoskeleton in eggs and zygotes in sea urchins and its morphogenetic role in normal embryogenesis and in development of sea urchins twins // *Biology of Echinodermata*. Yanagisawa et al. (eds.). Rotterdam: Balkema. 1991. P. 517-521.
 14. Foster K. R. Mechanisms of interaction of extremely low frequency electric fields and biological systems // *Radiat. Prot. Dosimetry*. 2003. V. 106, №. 4. P. 301-310.
 15. Krylov V. V., Osipova E. A. The response of *Daphnia magna* Straus to the long-term action of low-frequency magnetic fields // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2013. V. 96. P. 213-219.
 16. Mi Y., Yao C., Li C., Sun C., Tang L., Liu H. Apoptosis induction effects of steep pulsed electric fields (spEF) on human liver cancer cell smmc-7721 in vitro // *IEEE Trans. Dielec. Elec. Insul.* 2009a. V. 16. P. 1302-1310.
 17. Mi Y., Yao, C.G., Li C.X., Sun C.X., Tang L.L., Liu H. In vitro apoptosis effects of Steep Pulsed Electric Fields (SPEF) on human liver cancer cell SMMC-7721 // *Chin. J. Biomed. Eng.* 2009b. V. 28. P. 743-748.
 18. Nuccitelli R., Pliquett U., Chen X., Ford W., Swanson R. J., Beebe S. J., Kolb K. J.F., Schoenbach H. Nanosecond pulsed electric fields cause melanomas to selfdestruct // *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2006. V. 343. P. 351-360.
 19. Raso J., Barbosa-Canovas G.V. Nonthermal preservation of foods using combined processing techniques // *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2003. V. 43. P. 265.
 20. Sadoul R., Dubois-Dauphin M., Fernandel P.A. et al. // *Adv. Neurol.* 1996. V. 71. P. 419-424.

УДК 574.2 – Организм и среда обитания

Статья поступила в редакцию 02.11.2015.