

Neshumova T.V. Organ blood flow and characteristics of oxygen transport in muscles. *The study of the energy of the movement of the fish*, 1984, pp. 78-115. (In Russ.)]

8. Soldatov A.A. Organ blood flow and vessels of microcirculatory bed in fish (review). *J. Evolutionary Biochem. Physiol.* (Springer), 2006, vol. 42, no. 3, pp. 243-252.

9. Soldatov A.A. Physiological Aspects of Effects of Urethane Anesthesia on the Organism of Marine Fishes. *Hydrobiol. J.* (Begell House), 2005, vol. 41, no. 1, pp. 113-126.

10. Киселева А.Ф., Житников А.Я., Кейсевич Л.В. [и др.] *Морфофункциональные методы исследования в норме и при патологии*. Киев: Здоров'я, 1983, 168 с. [Kiseleva A.F., Zhitnikov A.Ya., Keisevich L.V., *Morphological and functional methods of research in norm and at a pathology*. Kiev: Zdorov'ye, 1983, 168 p. (In Russ.)]

11. Houston A.H. Blood and circulation. *Methods for fish biology*, 1990, pp. 273-334.

12. Кучеренко Н.Е., Васильев А.Н. *Липиды*. Киев: Вища школа, 1985, 247 с. [Kucherenko N.E., Vasiliev A.N. *Lipids*. Kiev: Vishcha shkola, 1985, 247 p. (In Russ.)]

13. Соколова Г.П. Определение содержания и удельной радиоактивности общих липидов в тканях. *Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен)*, 1982, с. 55-58. [Sokolova G.P. Determination of content and specific radioactivity of total lipids in the tissues. *Methods of biochemical studies (lipid and energy metabolism)*, 1982, pp. 55-58. (In Russ.)]

14. Londraville R.L., Sidell B.D. Ultrastructure of aerobic muscle in antarctic fishes may contribute to maintenance of diffusive fluxes. *J. Exp. Biol.*, 1990, vol. 150, pp. 205-220.

15. Driedzic W.R., Phleger C.F., Fields J.H.A., French C. Alterations in energy metabolism associated with the transition from water to air breathing in fish. *Can. J. Zool.* 1978, vol. 56, no. 4(2), pp. 730-735.

16. Шульман Г.Е., Щепкин В.Я., Яковлева К.К., Хоткевич Т.В. Липиды и их использование при плавании рыб. *Элементы физиол. и биох. общего и активного обмена у рыб*, 1978, с. 100-121. [Shulman G.E., Shchepkin V.Ya., Yakovleva K.K., Khotkevich T.V. Lipids and their use in swimming fish. *Elements of physiology and biochemistry total and active metabolism in fish*, 1978, pp. 100-121. (In Russ.)]

17. Юнева Т.В. Сезонная динамика жирно-кислотного состава липидов черноморских рыб – хамсы и шпрота. *Биоэнергетика гидробионтов*, 1990, с. 196-207. [Yuneva T.V. Seasonal dynamics of fatty acid composition of lipids of sea fish – the anchovy and sprat. *Bioenergetics of aquatic animals*, 1990, pp. 196-207. (In Russ.)]

18. Love R.M. *The chemical biology of fish*. Vol. 2. London: Academic Press, 1980, 943 p.

ДЕЙСТВИЕ СЛАБЫХ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ НА ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИЮ КРОВИ У КРЫС В ОПЫТАХ *IN VITRO* И *IN VIVO*

Новиков В.В., Яблокова Е.В., Фесенко Е.Е.

ФГБУН Институт биофизики клетки РАН

ул. Институтская, 3, г. Пущино, Московская обл., 142290, РФ

e-mail: docmag@mail.ru

Аннотация. Показано, что воздействие комбинацией постоянным (42 мТл) и коллинеарным ему очень слабым переменным низкочастотным (1 Гц, 600 нТл; 4,4 Гц, 100 нТл; 16,5 Гц, 160 нТл) магнитными полями на гепаринизированную и разбавленную фосфатным буфером венозную кровь крыс при физиологических температурах вызывает резкое усиление ее хемилюминесценции после добавки люминола. В опытах *in vivo* при воздействии магнитными полями на весь организм так же, как и в опытах *in vitro* отмечаются значительные изменения интенсивности хемилюминесценции крови. В этом случае отмечены и изменения в кинетике процесса люминол-зависимой хемилюминесценции. Появляется дополнительный отсроченный пологий максимум (приблизительно 500 секунд после введения люминола), который отсутствует в опытах *in vitro* и у контрольных животных.

Ключевые слова: магнитное поле, кровь, активные формы кислорода, хемилюминесценция

EFFECTS OF WEAK MAGNETIC FIELDS ON BLOOD CHEMILUMINESCENCE IN EXPERIMENTS ON RATS *IN VITRO* AND *IN VIVO*

Novikov V.V., Yablokova E.V., Fesenko E.E.

Institute of Cell Biophysics, Russian Academy of Sciences,

Institutskaya St., 3, Pushchino, 142290, Russia

e-mail: docmag@mail.ru

Abstract. It is shown that the combined effect of a static magnetic field (42 mT) and low-frequency collinear very weak alternating magnetic field with low frequency (1 Hz, 600 nT; 4.4 Hz, 100 nT; 16.5 Hz, 160 nT) on heparinized and diluted with phosphate buffer venous blood of rats at physiological temperatures causing a sharp increase in its chemiluminescence after addition of luminol. In experiments *in vivo* when exposed to magnetic fields of the entire organism as well as in *in vitro* experiments show significant changes in blood chemiluminescence intensity. In this case was detected changes in the kinetics of luminol-dependent chemiluminescence. In this case the additional deferred flat maximum was observed (approximately 500 seconds after the injection of luminol), which is absent in experiments *in vitro* and in control animals.

Key words: magnetic field, blood, reactive oxygen species, chemiluminescence

Влияние, которое оказывают слабые магнитные поля (СМП) на процессы в живых организмах, является предметом исследований, не прекращающихся в течение многих лет. Это представляет академический и практический интерес, связанный с чувствительностью многих людей к действию магнитных бурь, и с тем, что все мы подвергаемся электромагнитному облучению все возрастающим числом приборов и бытовой техники. Отсутствие единого объяснения является естественным следствием сложности объекта – живого организма, а также многообразия возможных биофизических механизмов действия СМП [1]. К настоящему времени достигнут определенный прогресс в исследованиях эффектов и механизмов действия слабых и крайне слабых постоянных и переменных магнитных полей с параметрами, соответствующими диапазону естественных (геомагнитных) и искусственных (техногенных) МП – нано- и микротесловые интенсивности и низкие частоты (единицы, десятки и сотни Гц) [2-4].

Разработаны теоретические модели механизмов действия СМП [3, 4], в которых определены наиболее вероятные первичные мишени их действия (магнитные моменты ядер биологически важных атомов; магнитные диполи электронных спинов, носителями которых являются парамагнитные молекулы, например, кислород, радикалы и ион-радикалы). Сделан прогноз биологически активных параметров поля, определены вероятные пути трансдукции от первичных мишеней к эффекторным молекулам, которые, как и в случае для более сильных полей, могут являться активными формами кислорода, перекисями и пероксирадикалами [4].

Ранее нами исследовано влияние комбинированных магнитных полей (КМП) с крайне слабой переменной низкочастотной компонентой на генерации свободных радикалов кровью человека [5, 6]. Для определения радикалов и других АФК в крови, был использован метод хемилюминесценции (ХЛ), основанный на регистрации ХЛ в присутствии химических активаторов. В результате экспериментов обнаружено, что воздействие слабых постоянного (42 мкТл) и коллинеарного ему переменного низкочастотного магнитных полей (диапазон амплитуд 0,11-3,44 мкТл; частоты 1; 4,4; 16,5 Гц), на гепаринизированную и разбавленную фосфатным буфером венозную кровь при физиологических температурах, вызывает значительное усиление ее хемилюминесценции, после добавки люминола или люцигенина. Акцептор свободных радикалов эдаравон (МСІ – 186) и ингибитор НАДФН-оксидазы апоцинин снижают интенсивность хемилюминесценции крови и нивелируют этот эффект действия магнитных полей, что явно указывает на вовлеченность свободнорадикальных процессов в механизм действия слабых КМП. Усиление люцигенин-активированной ХЛ при действии КМП, а также блокирование эффектов апоцинином являются аргументами в пользу участия супероксидных радикалов в исследуемых процессах.

Для всестороннего анализа механизма обнаруженного нами эффекта КМП представляет интерес проведение экспериментов на крови лабораторных животных (крысы, кролики) в системе *in vitro*, а также изучение реакции крови при общей обработке КМП целого организма.

Материалы и методы. Изучение роли свободных радикалов и других АФК в механизмах действия СМП затруднено тем, что определение природы и концентрации свободных радикалов обычными биохимическими методами невозможно из-за нестабильности этих частиц и их крайне низкой стационарной концентрации в живых системах. Поэтому при выполнении работ используется комплекс методов определения радикалов и других АФК в крови лабораторных животных, основанный на регистрации показателей хемилюминесценции в присутствии активаторов [7].

Для исследований на крови крыс-самцов линии Вистар или кроликов использовались свежие образцы венозной крови из хвостовой вены (крысы) или ушной вены (кролики) с гепарином в качестве антикоагулянта. Кровь разводили в фосфатном буфере. Для опытов готовили образцы следующего состава и объема 200 мкл фосфатного буфера, 25 мкл гепаринизированной (20 М.Е. на 1 мл) крови (предварительно разведенной в соотношении 1 к 3). Образцы инкубировали при 37°C в плоскодонных цилиндрических кварцевых пробирках закрытых парафильмом, в которых затем проводили регистрацию ХЛ. Типичное время инкубации, подобранное экспериментально, составляло 1 час. Образцы контрольных групп находились в локальном геомагнитном поле с постоянной составляющей 42 мкТл и уровнем магнитного фона на 50 Гц 15-50 нТл, соответствующим этим показателям в экспериментальных группах, за исключением заданной искусственно переменной компоненты поля.

Установка для воздействия слабым КМП состояла из двух пар коаксиально расположенных колец Гельмгольца диаметром 140 см, ориентированных вдоль вектора геомагнитного поля. На одну пару колец подавали постоянный ток для формирования заданной величины постоянной составляющей МП $42 \pm 0,1$ мкТл. На вторую пару колец подавали электрический ток от генератора синусоидальных сигналов для формирования переменной компоненты поля. Амплитуда переменной компоненты составляла 860 ± 10 нТл, что соответствует диапазону естественных (геомагнитных) и искусственных (техногенных) магнитных полей. В опытах были использованы моночастоты, а также трехчастотный сигнал (сумма частот: 1; 4,4 и 16,5 Гц), показавший наибольшую активность в предыдущих опытах [5, 6, 8], с амплитудами отдельных частот 600; 100 и 160 нТл соответственно. Величины действующих МП определяли прямым измерением с помощью феррозондового датчика Mag – 03 MS 100 (Bartington, UK).

После часовой инкубации измерялась интенсивность хемилюминесценции образцов крови в контрольных и опытных случаях после добавки в них 10 мкл раствора люминола или люцигенина (Enzo Life Sciences, США) с концентрацией 10 мМ (рабочие концентрации 0,425 мМ). В работе использован хемилюминометр Lum-5773 (ООО ДИСофт, Россия), измеряющий интенсивность света, возникающего в биологических образцах. Значения

интенсивности свечения соответствовали световому потоку, т.е. количеству фотонов в единицу времени. При этом 1 мВ соответствует 1 фотону/сек. Для анализа данных хемилюминесценции использована программа PowerGraph.

В опытах *in vivo* воздействию КМП с такими же, как и в случае *in vitro*, параметрами подвергались группы крыс ($n = 4$) в течение 2 часов. Контрольные группы животных находились в локальном геомагнитном поле. У части животных кровь забирали до и после воздействия. Аналогичным образом брали кровь у животных контрольных групп. Последующие процедуры (разведение крови, добавка люминола и регистрация ХЛ), соответствовали вышеописанным в опытах *in vitro*.

Результаты статистически обработаны с применением t -критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение.

Как видно на рисунке 1 часовая обработка разбавленной фосфатным буфером венозной крови крыс вызывает резкую активацию ХЛ образца, после добавки в него люминола. Представленные результаты, полученные в опытах *in vitro*, однозначно свидетельствуют о реакции крови млекопитающих на воздействие слабыми МП с переменной низкочастотной компонентой менее 1 мкТл.

Интересно, что венозная кровь кроликов не показала реакции на воздействие КМП (данные не приводятся), что может оказаться важным при анализе механизма этого эффекта.

В опытах *in vivo* при воздействии КМП на весь организм у крыс так же, как и в опытах *in vitro* отмечаются значительные изменения параметров интенсивности ХЛ крови (см. рис. 2). Однако в этом случае отмечены и изменения в кинетике процесса люминол-зависимой ХЛ. Появляется дополнительный отсроченный пологий максимум (500 секунд после введения люминола), который отсутствует в опытах *in vitro* и у контрольных животных.

В настоящий момент сложно ответить на вопрос, чем обусловлены различия в кинетике люминол-зависимой ХЛ цельной крови при действии КМП в опытах *in vivo* и *in vitro*. Для выяснения механизмов следует учесть вклад всех вероятных участников процесса: супероксида, перекиси водорода, гидроксильных радикалов, металлов переменной валентности, гипохлорита, антиоксидантов, а также активность пероксидаз. Предварительные выводы, основанные на анализе кинетики и интенсивности ХЛ крови, сводятся к тому, что в случае *in vitro* речь может идти о количественном изменении компонентов, обеспечивающих люминол-зависимую ХЛ цельной крови, так как кинетические характеристики процессов в контроле и опыте близки, а отличия проявляются лишь в большей интенсивности ХЛ после действия КМП. В случае *in vivo*, по-видимому, возможны качественные изменения в соотношениях молекулярных компонентов, обеспечивающих ХЛ, на что указывает появление дополнительного высокоамплитудного максимума на кинетической кривой.

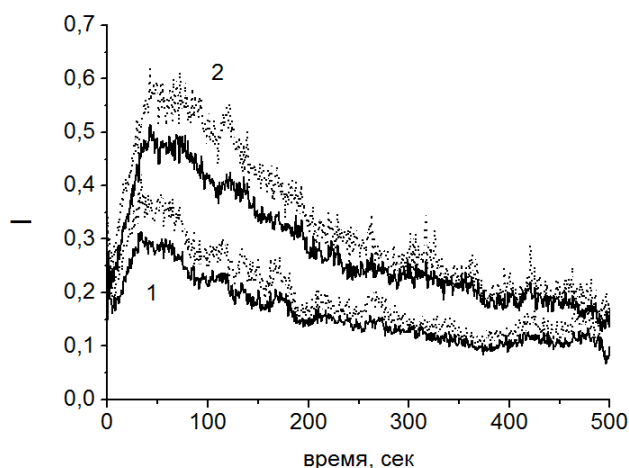


Рисунок 1 – Влияние слабых МП (постоянное МП 42 мкТл, переменное МП 16,5 Гц, 160 нТл; 4,4 Гц, 100 нТл; 1 Гц, 600 нТл) на хемилюминесценцию венозной крови у крыс (опыты *in vitro*) при добавлении люминола.

Контрольные (1) и опытные (2) образцы инкубировали 60 минут при 37°C.

Пунктирными линиями обозначены стандартные отклонения.

Ось абсцисс – время в секундах (t , с) с момента введения люминола;

Ось ординат – интенсивность хемилюминесценции в $V(I)$, где 1000 фотон/с=1V

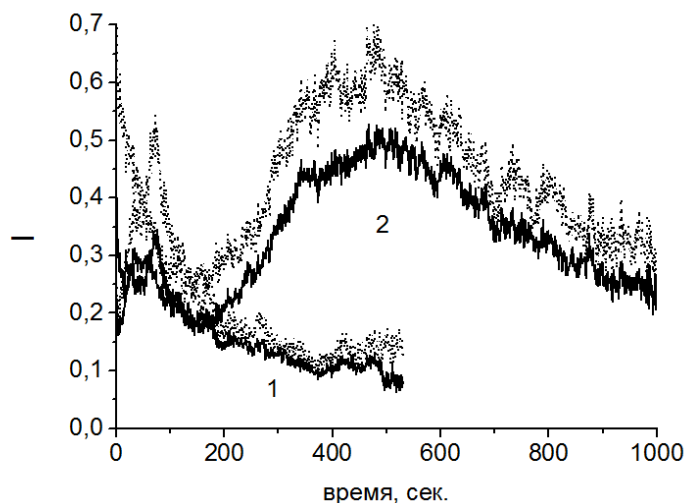


Рисунок 2 – Влияние слабых МП (постоянное МП 42 мкТл, переменное МП 16,5 Гц, 160 нТл; 4,4 Гц, 100 нТл; 1 Гц, 600 нТл) на хемилюминесценцию венозной крови у крыс (опыты *in vivo*) при добавлении люминола. Контрольные (1) и опытные (2) образцы крови из хвостовой вены. Опытные группы животных находились в КМП в течение 2 часов. Пунктирными линиями обозначены стандартные отклонения.

Ось абсцисс – время в секундах (t , с) с момента введения люминола;

Ось ординат – интенсивность хемилюминесценции в $V(I)$, где $1000 \text{ фотон/с} = 1V$

Участие свободных радикалов и других активных форм кислорода (АФК) в эффектах сильных магнитных и электромагнитных полей с индукцией магнитной компоненты свыше 100 мкТл обосновано с позиций спиновой химии [1, 9]. Разрабатываются подходы к обоснованию биологических эффектов и более слабых полей с амплитудами сравнимыми и меньшими чем геомагнитное поле (50 мкТл) [4], содержащих крайне слабую низкочастотную компоненту. Известно, что в нормальных условиях кислород находится в основном в триплетном состоянии. Для реализации зарегистрированных нами эффектов (генерация АФК) требуется синглетный кислород, который может быть получен при действии СМП на магнитные моменты протонов в аквакомплексах среды, и их организующем влиянии на систему электронных спинов в ходе реакции радикалов с молекулами кислорода [4]. Этот описанный ранее теоретически процесс, по-видимому, может являться источником необходимой энергии для перехода между триплетным и синглетным состояниями реакционного комплекса, в частности, в компонентах крови млекопитающих, что хорошо согласуется с полученными в данной работе экспериментальными данными, как по направленности процессов (стимуляция производства АФК); так и по величинам частот и амплитуд переменной компоненты поля. Кроме того, при рассмотрении механизма влияния СМП на цельную кровь млекопитающих следует также учитывать степень оксигенации гемоглобина. Известно, что дезоксигемоглобин эритроцитов периферической венозной крови является магниточувствительным [10]. При окислении гемоглобина его магнитные свойства утрачиваются (оксигемоглобин диамагнитен). По-видимому, парамагнетизм гемоглобина и кислорода могут влиять на чувствительность крови к действию СМП с амплитудой переменной компоненты $\sim 1 \text{ мкТл}$. В этой связи важно отметить, что обнаруженные нами эффекты СМП зарегистрированы именно в венозной периферической крови млекопитающих (человек, крысы).

В анализе первичных механизмов действия слабых КМП на кровь млекопитающих следует учесть порфириновую гипотезу действия низкоинтенсивного лазерного облучения, сформулированную Ю.А. Владимировым [11]. Согласно этой гипотезе, поглощение энергии эндогенным фотосенсибилизатором усиливает липидную пероксидацию в мембране, увеличивая в связи с этим ее проницаемость для ионов кальция, и, как следствие активизирует внутриклеточные процессы, вызывая в частности, прайминг фагоцитов. Аналогичный процесс, по-видимому, может быть рассмотрен и в нашем случае.

Работа поддержана грантом № 14-44-03676 р_центр_а РФФИ и Министерства инвестиций и инноваций Московской области.

Список литературы / References:

1. Бинги В.Н. *Принципы электромагнитной биофизики*. М: Физматлит, 2011, 592 с. [Binhi V.N. *Principles of Electromagnetic Biophysics*. Moscow: Fizmatlit, 2011, 592 p. (In Russ.)]
2. Новиков В.В., Пономарев В.О., Новиков Г.В., Кувичкин В.В., Яблокова Е.В., Фесенко Е.Е. Эффекты и молекулярные механизмы биологического действия слабых и сверхслабых магнитных полей. *Биофизика*, 2010, т. 55, № 4, с. 631-639. [Novikov V.V., Ponomarev V.O., Novikov G.V., Kuvichin V.V., Yablokova E.V. Fesenko E.E. Effects and molecular mechanisms of the biological action of weak and extremely weak magnetic fields. *Biophysics* (Moscow), 2010, vol. 55, no. 4, pp. 565-572. (In Russ.)]

3. Леднев В.В. Биологические эффекты крайне слабых переменных магнитных полей: идентификация первичных мишеней. В сб. «*Моделирование геофизических процессов*». М: Объединенный институт физики Земли им. О. Ю. Шмидта РАН, 2003, с. 130-136. [Lednev V.V. Biological effects of the extremely weak alternating magnetic fields: the identification of primary targets. In “*Modeling of Geophysical Processes*”, Moscow: Schmidt Institute of the Physics of the Earth RAS, 2003, pp. 130-136. (In Russ.)]
4. Пономарев В.О., Новиков В.В. Действие низкочастотных переменных магнитных полей на скорость биохимических реакций, приводящих к образованию активных форм кислорода. *Биофизика*, 2009, т. 54, № 2, с. 235-241. [Ponomarev V.O., Novikov V.V. Effect of low-frequency alternating magnetic fields on the rate of biochemical reactions proceeding with formation of reactive oxygen species. *Biophysics (Moscow)*, 2009, vol. 54, no. 2, pp. 163-168. (In Russ.)]
5. Новиков В.В., Яблокова Е.В., Фесенко Е.Е. Действие комбинированных магнитных полей с очень слабой переменной низкочастотной компонентой на люминолзависимую хемилюминесценцию крови млекопитающих. *Биофизика*, 2015, т. 60, № 3, с. 530-533. [Novikov V.V., Yablokova E.V., Fesenko E.E. The action of combined magnetic fields with a very weak low-frequency alternating component on luminol-dependent chemiluminescence in mammalian blood. *Biophysics (Moscow)*, 2015, vol. 60, no. 3, pp. 429-432. (In Russ.)]
6. Новиков В.В., Яблокова Е.В., Фесенко Е.Е. Действие слабых магнитных полей на хемилюминесценцию крови человека. *Биофизика*, 2016, т. 61, № 1, с. 126-130. [Novikov V.V., Yablokova E.V., Fesenko E.E. The effect of weak magnetic fields on the chemiluminescence of human blood. *Biophysics (Moscow)*, 2016, vol. 61, no. 1, pp. 105-108. (In Russ.)]
7. Владимиров Ю.А., Проскурина Е.В. Свободные радикалы и клеточная хемилюминесценция. *Успехи биологических наук*, 2009, т. 49, с. 341-388. [Vladimirov Yu.A., Proskurina E.V. Free radicals and cellular chemiluminescence. *Usp. Biol. Nauk*, 2009, vol. 49, pp. 341-388. (In Russ.)]
8. Novikov V.V., Novikov G.V., Fesenko E.E. Effect of weak combined static and extremely low-frequency alternating magnetic fields on tumor growth in mice bearing the Ehrlich ascites carcinoma. *Bioelectromagnetics*, 2009, vol. 30, pp. 343-351.
9. Бучаченко А.Л. Магнитно-зависимые молекулярные и химические процессы в биохимии, генетике и медицине. *Успехи химии*, 2014, т. 83, № 1, с. 1-12. [Buchachenko A.L. Magnetic-dependent molecular and chemical processes in biochemistry, genetics and medicine. *Usp. Khim*, 2014, vol. 83, no. 1, pp. 1-12. (In Russ.)]
10. Блюменфельд Л.А. Гемоглобин и обратимое присоединение кислорода. М: Сов. Наука, 1957, 191 с. [Blumenfeld L.A. *Hemoglobin and Reversible Oxygen Addition*. Moscow: Sovetskaya Nauka, 1957, 191 p. (In Russ.)]
11. Владимиров Ю.А. Три гипотезы о механизме действия лазерного облучения на клетки и организм человека. В кн.: *Эфферентная медицина*. М: ИБМХ РАМН, 1994, с. 51-67. [Vladimirov Yu.A. Three hypotheses about the mechanism of action of laser radiation on cells and the human body. In “*Efferent medicine*”, Moscow: Institute of Biomedical Chemistry RAMS, 1994, pp. 51-67. (In Russ.)]

COMPENSATORY RESPONSE OF 2-CELL MOUSE EMBRYO TO HYPOOSMOTIC STRESS

Pogorelov A.G., Panait A.I., Pogorelova V.N.
Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, RAS
Pushchino, 142290, Russia
e-mail: agpogorelov@rambler.ru

Abstract. Compensatory response of blastomeres in two-cell mouse embryo to hypoosmotic stress was studied employing the direct measurement of cellular volume with Laser Scanning Microtomography followed by 3-D reconstruction (QLSM). It was shown that embryos exposed to hypotonicity first swelled and then returned to the initial size. Swelling phase was defined by a water permeability coefficient (L_p) of 0.4 micron/(min·atm). The next compensatory phase of regulatory volume decrease (RVD) in embryonic cells was not dependent on Na^+/K^+ -ATPase inhibition or low pH (6.4), but RVD was abolished by Cytochalasine B (Cyto B) treatment.

Key words: two-cell mouse embryo, regulatory volume decrease, Na^+/K^+ -ATPase, Cytochalasine B, laser scanning microscopy, 3D-reconstruction.

The Nernst-Plank model considers three sources for the solvent transport across membrane. The van't Hoff osmosis, due to diffusion, results from concentration gradient. The electroosmosis represents the water flux indirectly caused by an electric field [1]. The anomalous osmosis, the convection factor, is a term distinctly unique to ion-exchange membranes [2]. The electroosmosis and anomalous osmosis are osmotic phenomena which induce the “abnormal” liquid flow via a membrane contrary to van't Hoff concept of normal osmosis. Two are intrinsic to these osmotic phenomena - an electrolyte solution and a charged membrane [3, 4]. The above factors reside commonly in a living cell.

It is likely that electroosmosis and anomalous osmosis can be involved in adaptive reaction of cell subjected to osmotic shock. These species of osmosis seem to equilibrate at least partially the van't Hoff osmosis. This offers the additional basis for an explanation of cellular volume recovery following, for instance, hypotonic stress [5-7]. Cited investigations were performed for the culture of differentiated cells. At what manner cellular volume of early mammalian embryo is appreciably altered by the anisotonic extracellular solution is not understood. Originally, a little attention was paid to this direction since there were no effective ways to determine the volume of embryonic cell (blastomere). Even