

В. Л. Борщовецька, аспірантка

Я. Р. Михальчук, магістр

М. М. Марченко, доктор біологічних наук, професор, директор інституту Кафедра біохімії та біотехнології інституту біології, хімії та біоресурсів Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича, м. Чернівці, вул. Коцюбинського 2, 58012, e-mail: v.borschovetska@chnu.edu.ua,

ОСОБЛИВОСТІ ЛІПІДНОГО ОБМІНУ У ЩУРІВ ЗА УМОВ ВВЕДЕННЯ БІСФЕНОЛУ А ТА НИЗЬКОРІВНЕВОГО ЛАЗЕРНОГО ОПРОМІНЕННЯ

У роботі встановлено, що введення бісфенолу А супроводжується порушенням ліпідного обміну, що виражалось у накопиченні холестеролу, триацилгліцеролів та вільних жирних кислот у тканині печінки. Водночас опромінення тварин низькорівневим діодним лазером червоного спектру дії корегує обезогенний вплив досліджуваного персистентного контамінанта.

Ключові слова: бісфенол А; низькоінтенсивне лазерне опромінення; обезоген; гіперхолестеролемія; триацилгліцеролемія

Надмірне споживання висококалорійної їжі, багатой жирами й вуглеводами, та низька фізична активність стали одними з основних чинників розвитку порушень обміну речовин, зокрема метаболічного синдрому. Проте, численні дослідження [3, 5, 17, 19, 27, 23] показали, що ряд харчових полуютантів, які діють як ендокринні дисраптори можуть виступати індукторами та впливати на розвиток метаболічних порушень.

До цієї групи сполук належить бісфенол А (2,2-біс(4-гідроксифеніл)пропан, ВРА) – синтетична промислова хімічна сполука, яка широко використовується з 1960-х років у виробництві полікарбонатних споживчих товарів (контейнери для їжі та напоїв, зубні герметики та термопапір) з метою запобігання їх пошкодження за багаторазового використання [17, 23, 16, 20]. Дана сполука виступає класичним ксеноестрогеном, проявляючи естрогенні ефекти, шляхом зв'язування з ядерними рецепторами: естрогеновими рецепторами α і β (ER α та ER β), або взаємодією з протеїнами та рецептор-спорідненими протеїнами, такими як "некласичний мембранний рецептор естрогенів", psmER, ERR γ , GPR30 та AhR. Проте все більшу увагу наукової спільноти привертають обезогенні та діабетичні ефекти даного ксеноестрогену. У дослідженнях [15, 18–21] показано, що ВРА за умов хронічної експозиції низькими дозами змінює енергетичний баланс, індукуючи адипогенез та накопичення ліпідів. Проте зазначені ефекти недостатньо досліджені за умов гострого ураження високими дозами.

Багатообіцяючим неінвазивним і безпечним методом корегування різних патологічних станів виступає низькорівневе лазерне опромінювання (*від англ.* Low level laser irradiation, LLLI). Це застосування монохроматичного когерентного світла низьких енергетичних рівнів, (що є різновидом електромагнітних коливань) червоного і ближнього інфрачервоного спектру (600–1000 нм), джерелом якого є лазер [12, 6, 26].

Терапевтичні та корегувальні ефекти LLLI є результатом первинних реакцій, пов'язаних з поглинанням світла певної довжини хвилі специфічними хромофорами у клітині, зокрема компонентами мітохондріального дихального ланцюга, такими як цитохроми, цитохром оксидаза та флавіндегідрогеназа; що призводить до зміни окисно-відновного стану цитоплазми. Перетворення енергії лазера у корисну для клітин енергію, завдяки фотохімічним та фотофізичним реакціям, може стимулювати мітохондріальне продукування аденозинтрифосфату, проліферацію клітин та синтез протеїну [4, 7, 11, 14].

Крім того, встановлено, що LLLI змінює експресію генів, індукує клітинну проліферацію та диференціацію. Зокрема, у дослідженнях *Jackson et al.* [13], показано, що лазерне світло низьких рівнів може пригнічувати холестерологенез шляхом зміни транскрипційних факторів, відповідальних за експресію основних генів, залучених в біосинтетичні процеси. Тому, LLLI може служити тонким, неінвазивним інструментом у зниженні рівня холестеролу в сироватці крові.

У зв'язку з цим **метою** роботи було дослідити особливості ліпідного обміну у щурів за умов введення ВРА та низькорівневого лазерного випромінювання.

Матеріали та методи досліджень

Досліди проводили на білих безпородних щурах, віком 2–3 місяці, масою 120–140 г. Утримання тварин та маніпуляції з ними проводили згідно з положеннями статті 26 Закону України № 3447-IV від 21.02.2006 «Про захист тварин від жорстокого поводження», «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та наукових цілей» (Страсбург, 1986), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», затверджених 20.09.2001 Першим Українським національним конгресом з біоетики.

На початку експерименту усіх тварин було поділено на три групи:

- I. контрольна група – інтактні тварини;
- II. дослідна група I – щури, яким вводили бісфенол А (попередньо розчинений в кукурудзяній олії) *per os* щоденно протягом 3 діб у дозі 50 мг/кг, що відповідає *LOAEL* – найнижчій дозі, при якій спостерігається несприятливий ефект (*від англ. Lowest observable adverse effect level*) [24].
- III. дослідна група II – тварини, яким вводили ксенобіотик та опромінювали низькорівневим діодним лазером.

Опромінення тварин проводили низькорівневим діодним лазером, червоного спектру 650 нм (50 mW, 1,5 J/cm² та 12,5 mW/cm²) через 6 годин після

кожного введення ВРА (3 рази). Опромінювали анатомічну ділянку черевної порожнини на відстані 10 см від поверхні шкіри протягом 2 хв.

Дослідження ліпідного профілю сироватки крові та вмісту ліпідів у тканині печінки проводили через 78 годин після початку експерименту (через 24 години після останнього опромінення). Тварин зважували та піддавали етаназії під легким ефірним наркозом. Для дослідження видаляли печінку та проводили забір крові через нижню порожнисту вену. Сироватку крові отримували шляхом центрифугування при 3000 g протягом 15 хв.

Екстракцію загальних ліпідів з тканини печінки тварин проводили за методом Фолча [8], принцип якого полягає у екстракції ліпідів з тканини хлороформ-метанольною сумішшю. Визначення вмісту загального холестеролу та триацилгліцеролів у сироватці крові та тканині печінки проводили ензиматичним колориметричним методом за допомогою стандартних наборів («Фелісіт Діагностика», м. Дніпропетровськ) відповідно до інструкції виробника і виражали в мкмоль/л та ммоль/л відповідно.

Виділення ліпопротеїнів високої густини (HDL) проводили за методом [2], принцип якого полягає в початковому осадженні гепарином в присутності іонів марганцю ($MnCl_2$) β -ліпопротеїнів (ліпопротеїнів низької густини, LDL). Визначення холестеролу ліпопротеїнів дуже низької густини (VLDL) та LDL у сироватці крові проводили розрахунковим методом використовуючи формули Фрідевальда (Friedewald) [9].

Визначення вмісту вільних жирних кислот проводили за методом [22], принцип якого полягає у тому, що солі жирних кислот із купрумом екстрагуються з водних розчинів при нейтральних та слабколужних рН сумішшю хлороформ-гептан-метанол. За цих умов іони купруму залишаються у водному середовищі. Відповідно, кількість купруму, що перейшли в органічну фазу, відображає вміст неетерифікованих (вільних) жирних кислот. Купрум визначають за кольоровою реакцією з 1,5-дифенілкарбазидом. Вміст вільних жирних кислот у тканині печінки виражали у ммоль/г тканини.

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програми *BioStat*, використовуючи однофакторний дисперсійний аналіз (*one-way ANOVA*) з наступним застосуванням апостеріорного критерію Тьюкі (*Tukey's HSD post hoc test*). Вірогідними вважали відмінності між групами при $P \leq 0,05$. На графіках величини позначені різними буквеними індексами (*a*, *b*, *c*) статистично достовірно відрізняються; зокрема величини позначені літерою *a* статистично достовірно відрізняються як від величин, позначених літерою *b*, так і літерою *c*; між величинами позначеними однаковими буквеними індексами статистично вірогідної різниці немає.

Результати дослідження та їх обговорення

Результати наших досліджень показали, що введення *per os* тваринам 50 мг/кг ВРА супроводжувалося розвитком гіперхолестеролемії у сироватці

крові. Показник вмісту загального холестеролу у сироватці крові у 2,1 разів перевищував його вміст у групі інтактних тварин (рис. 1а).

Гіперхолестеролемія сироватки крові, що спостерігалась у тварин після експозиції ВРА може бути результатом порушення метаболізму холестеролу у печінці. У наших дослідженнях, введення ВРА супроводжувалось 2-разовим підвищенням вмісту холестеролу у тканині печінки (рис. 1б).

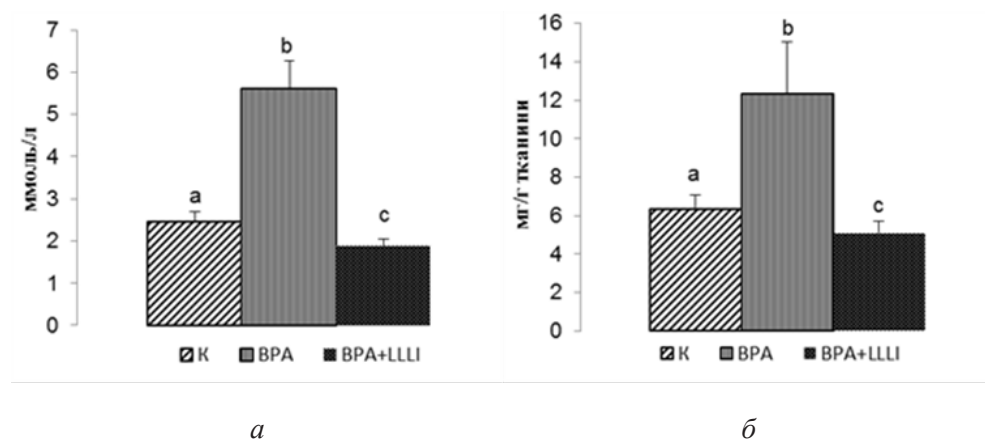


Рис. 1. Вміст загального холестеролу у сироватці крові (а) та печінці (б) щурів за умов введення ВРА та LLL1.

Примітка (тут і надалі): величини, позначені різними буквеними індексами статистично-вірогідно відрізняються, $P \leq 0,05$

Гостра експозиція високими дозами бісфенолу А супроводжується розвитком оксидативного стресу у печінці. Зокрема, нашими попередніми дослідженнями [24] показано, що 3-разове введення тваринам 50 мг/кг даного ксенобіотика супроводжується посиленням генеруванням активних форм кисню та індукцією вільнорадикального пошкодження субклітинних фракцій печінки, в тому числі ендоплазматичного ретикулуму. З літератури відомо, що стрес останнього в деяких клітинах може стимулювати синтез ліпідів, зокрема холестеролу, через активацію різноманітних транскрипційних факторів, таких як SREBPs, CAAT/EBP та PPAR γ [10].

Крім того, введення ВРА супроводжується зростанням вмісту жирних кислот у 2,1 рази у печінці дослідної групи щурів, порівняно із відповідним показником у контрольній групі тварин (Рис. 2а). Підвищений вміст жирних кислот у тварин при введенні ВРА може бути пов'язаний з прооксидантними властивостями даного ксенобіотика. Результатами попередніх досліджень показано, що ВРА у дозі 50 мг/кг індукує вільнорадикальні процеси у мітохондріальній фракції. Це в свою чергу могло призвести до порушеного функціонування метаболічних процесів, що відбуваються у даному компартменті клітини, в тому числі β -окиснення жирних кислот.

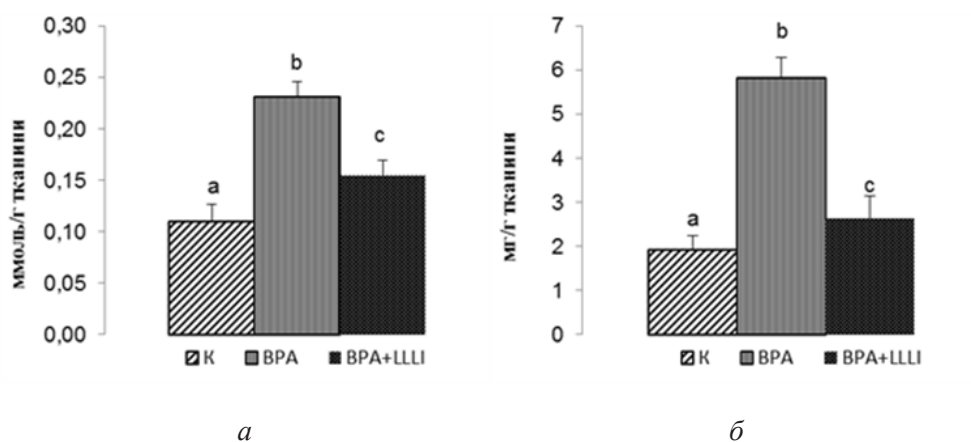


Рис. 2. Вміст вільних жирних кислот (А) та триацилгліцеролів в печінці (Б) щурів за умов введення ВРА та LLLI

Неокисненні жирні кислоти спрямовуються на ліпогенез *de novo*, для зберігання їх у формі нейтральних жирів у тканині печінки. Це підтверджено у наших дослідженнях зростанням у 3 рази вмісту триацилгліцеролів у печінці щурів після введення ксенобіотика, порівняно із групою тварин контрольної групи (Рис. 2б).

Водночас накопичення нейтральних жирів в тканині печінки супроводжується надмірною секрецією триацилгліцеролів у складі ліпопротеїнів дуже низької густини. Вони являють собою механізм, за допомогою якого жирні кислоти експортуються з печінки та транспортуються до м'язів для окислення, та жирової тканини для зберігання відповідно. При проведеній кількісній оцінці стану дисліпідемії було зафіксовано зростання рівня ліпопротеїнів дуже низької густини в сироватці крові на 72%, порівняно із групою інтактних тварин (Рис. 3а). З цими результатами узгоджується зростання у 1,9 разів рівня триацилгліцеролів, які транспортуються та складають основу вищезгаданих ліпопротеїнів, у сироватці крові (Рис. 3в) тварин після введення ВРА порівняно із відповідним показником контрольної групи.

Одночасно, у цій групі тварин зафіксовано зростання вмісту ліпопротеїнів низької густини у сироватці крові тварин, що виконують провідну роль у транспорті холестеролу з печінки до периферійних тканин. Даний показник у ВРА-експозиційних тварин у 2,2 рази порівняно з вмістом LDL контрольної групи (Рис. 3б).

Водночас, опромінення тварин низькорівневим діодним лазером, після введення бісфенолу А, призводило до зниження у 2,3-рази вмісту загального холестеролу у сироватці крові, і навіть цей показник був нижчий від даного показника у групі інтактних тварин. Отримані результати, в першу чергу, ймовірно, зумовлені інгібуванням процесів холестеролгенезу, що підтверджено у наших

дослідженнях зниженням вмісту холестеролу у тканині печінки (Рис. 1.). Отримані результати, в першу чергу, пов'язані із тим, що LLLI може пригнічувати холестерологенез шляхом зміни транскрипційних факторів, відповідальних за експресію основних генів, залучених в біосинтетичні процеси [12].

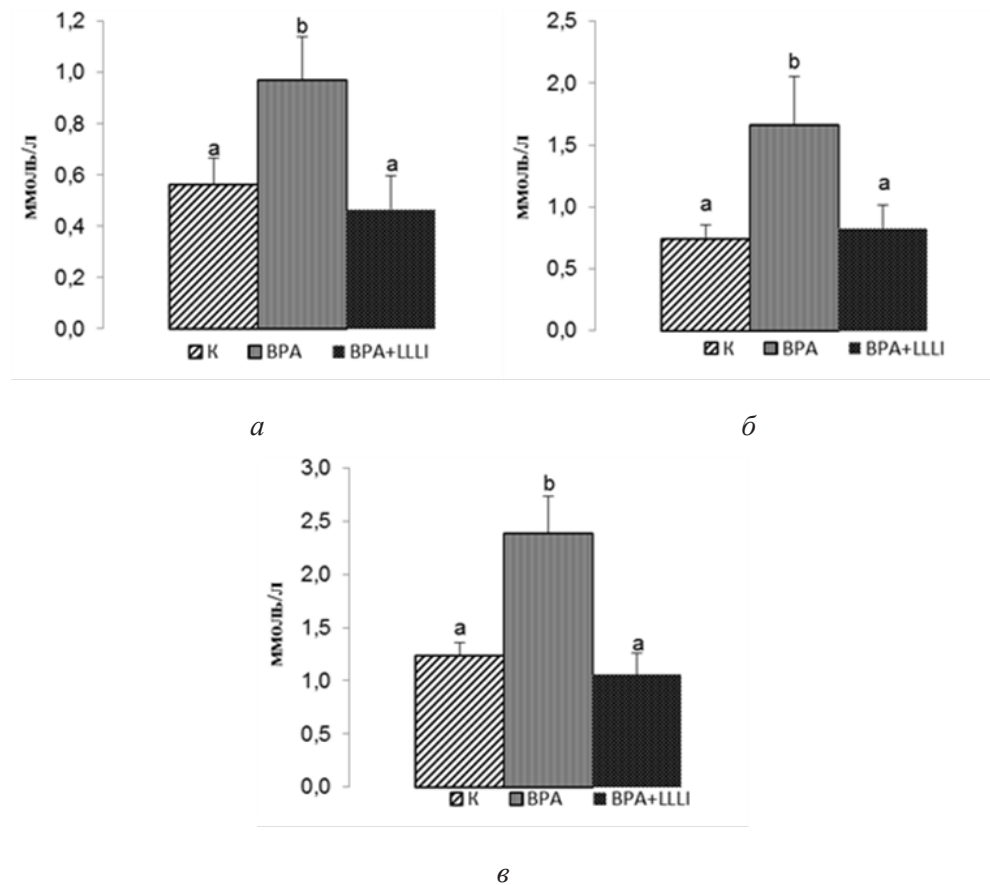


Рис. 3. Вміст ліпопротеїнів дуже низької (а), низької (б) густини та триацилгліцеролів (в) в сироватці крові щурів за умов введення ВРА та LLLI

Крім того, у ВРА-експозиційних тварин, після опромінення діодним лазером червоного спектру дії, спостерігалось зниження вмісту вільних жирних кислот на 36% у печінці порівняно із групою тварин, яким вводили обезоген. Проте даний показник так і не досягав рівнів показників контрольної групи. Отриманий результат може бути пов'язаний із тим, що LLLI стимулює утворення cAMP, що, в свою чергу, активує цитоплазматичну ліпазу, що викликає перетворення триацилгліцеролів у жирні кислоти та гліцерол [1]. З іншого боку, за дії LLLI може відбуватись посилене генерування активних форм кисню та азоту, внаслідок активації цитохром оксидази – первинного акцептора поглинання червоного

світла. Вільні радикали, в свою чергу, індукують пошкодження мітохондріальної мембрани, і таким чином відбувається зсув окислення жирних кислот до їх етерифікації в триацилгліцероли для зберігання в печінці. Вміст останніх за дії лазера знижувався на 50% порівняно із групою тварин, яким вводили ксенобіотик, проте як і вміст жирних кислот, не досягав показника групи інтактних тварин (Рис. 2.).

Логічним, з огляду на зафіксовані нами зниження вмісту холестеролу та триацилгліцеролів у печінці, було встановлене зниження вмісту ліпопротеїнів дуже низької та низької густини, що є транспортерами холестеролу та нейтральних жирів з печінки, у сироватці крові, при опроміненні ВРА-експозиційних тварин низькорівневим діодним лазером, порівняно із групою тварин, яким вводили обезоген. Крім того, ці показники статистично-вірогідно не відрізнялися від відповідних тварин контрольної групи (Рис. 3.). Таким чином, опромінення тварин діодним лазером червоного спектру дії корегує обезогенний вплив ВРА.

Отже, введення бісфенолу А супроводжується порушенням ліпідного обміну, що полягає в активації процесів ліпогенезу при введенні даного ксенобіотика, шляхом підвищення активності основних ключових ензимів синтезу холестеролу та жирних кислот. Водночас опромінення тварин низькорівневим діодним лазером корегує обезогенний вплив досліджуваного ксенобіотика, що пов'язано з пригніченням дії SREBP та зниження активності основних ензимів, що відіграють ключову роль у процесах ліпогенезу та ліполізу.

Висновки

1. Пероральне введення тваринам 50 мг/кг бісфенолу А протягом 3 діб супроводжується розвитком гіперхолестеролемії та триацилгліцеролемії у сироватці крові, дисбалансом вмісту основних ліпопротеїнів та збільшенням вмісту холестеролу, триацилгліцеролів та вільних жирних кислот у печінці.

2. Опромінення тварин діодним лазером червоного спектру дії після введення ксенобіотика сприяло зниженню вмісту основних показників ліпідного профілю сироватки крові та вмісту триацилгліцеролів, холестеролу та жирних кислот у печінці тварин.

Стаття надійшла до редакції 13.08.2020

Список використаної літератури

1. Antonio E. Low-level laser therapy (LLLT) combined with swimming training improved the lipid profile in rats fed with high-fat diet / E. Antonio Jr. Aquino, M. Sene-Fiorese, F. R. Paolillo, F. O. Duarte, J. C. Oishi, A. A. Pena Jr, A. C. G. O. Duarte, M. R. Hamblin, V. S. Bagnato, N. A. Parizotto // *Lasers in medical science*. – 2013. – Vol. 28, № 5. – P. 1271-1280. doi:10.1007/s10103-012-1223-z.
2. Bachorik P. S. High-density-lipoprotein cholesterol in heparin-MnCl₂ supernates determined with the Dow enzymic method after precipitation of Mn²⁺ with HCO₃⁻ / P.S. Bachorik, R. E. Walker, D. G. Virgil // *Clinical Chemistry*. – 1984. – Vol. 30, № 6. – P. 839-842.
3. Batista T. M. Short-term treatment with Bisphenol-A leads to metabolic abnormalities in adult male

- mice / T. M. Batista, P. Alonso-Magdalena, E. Vieira, M. E. C. Amaral, C. R. Cederroth, S. Nef, I. Quesada, E. M. Carneiro, A. Nadal // *PLoS One*. – 2012. – Vol. 7, № 3. – P. 1-10. doi: 10.1371/journal.pone.0033814.
4. Baxter G. D. Low level laser therapy (Photobiomodulation therapy) for breast cancer-related lymphedema: a systematic review / G. D. Baxter, L. Liu, S. Petrich, A. S. Gisselman, C. Chapple, J. J. Anders, S. Tumilty // *BMC Cancer*. – 2017. – Vol. 17, № 1. – P. 833. doi: 10.1186/s12885-017-3852-x
 5. Bhandari R. Urinary bisphenol A and obesity in US children / R. Bhandari, J. Xiao, A. Shankar // *American journal of epidemiology*. – 2013. – Vol. 177, № 11. – P. 1263–1270. doi: 10.1093/aje/kws391
 6. Chang B. The effects of photobiomodulation on MC3T3-E1 cells via 630 nm and 810 nm light-emitting diode / B. Chang, H. Qiu, H. Zhao, X. Yang, Y. Wang, T. Ji, Y. Zhang, Q. Quan, Y. Li, J. Zeng, H. Meng, Y. Gu // *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research*. – 2019. – Vol. 25. – P. 8744-8752. doi: 10.12659/MSM.920396
 7. Flieger R. Low-Level Laser Therapy with a 635 nm Diode Laser Affects Orthodontic Mini-Implants Stability: A Randomized Clinical Split-Mouth Trial / R. Flieger, T. Gedrange, K. Grzech-Leśniak, M. Dominiak, J. Matys // *Journal of Clinical Medicine*. – 2019. – Vol. 9, № 112. – P. 1–11. doi: 10.3390/jcm9010112
 8. Folch J. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues / J. Folch, M. Lees, G. H. Sloane // *The Journal of biological chemistry*. – 1953. – Vol. 226, № 1. – P. 497-509.
 9. Friedewald W. T. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge / W. T. Friedewald, R. I. Levy, D. S. Fredrickson // *Clinical Chemistry*. – 1972. – Vol. 18, № 6. – P. 499-502.
 10. Fu S. The role of endoplasmic reticulum in hepatic lipid homeostasis and stress signaling. / S. Fu, S. M. Watkins, G. S. Hotamisligil // *Cell Metabolism*. – 2012. – Vol. 15. – P. 623-634. doi: 10.1016/j.cmet.2012.03.007
 11. Gonnelli F. A. S. Low-level laser therapy for the prevention of low salivary flow rate after radiotherapy and chemotherapy in patients with head and neck cancer / F. A. S. Gonnelli, L. F. Palma, A. J. Giordani, A. L. S. Deboni, R. S. Dias, R. A. Segreto, H. R. C. Segreto // *Radiologia Brasileira*. – 2016. – Vol. 49, № 2. – P. 86-91. doi: 10.1590/0100-3984.2014.0144.
 12. Iwahara L. K. da F. Low-power red and infrared laser effects on cells deficient in DNA repair / L. K. da F. Iwahara, F. de Paoli, A. de S. da Fonseca // *Journal of Lasers in Medical Sciences*. – 2019. – Vol. 10, № 3. – P. 157-162. doi: 10.15171/jlms.2019.25.
 13. Jackson R. F. Reduction in Cholesterol and Triglyceride Serum Levels Following Low-Level Laser Irradiation: A Noncontrolled, Nonrandomized Pilot Study / R. F. Jackson, G. C. Roche, K. Wisler // *The American Journal of Cosmetic Surgery*. – 2010. – Vol. 27, № 4. – P. 177-184.
 14. Jówko E. The effect of low level laser irradiation on oxidative stress, muscle damage and function following neuromuscular electrical stimulation. A double blind, randomised, crossover trial / E. Jówko, P. Maciej, M. Cie, T. Sacewicz, I. Cie, M. Jarocka // *BMC sports science, medicine & rehabilitation*. – 2019. – Vol. 11, № 38. – P. 1-14.
 15. Ke Z. Bisphenol A Exposure May Induce Hepatic Lipid Accumulation via Reprogramming the DNA Methylation Patterns of Genes Involved in Lipid Metabolism / Z. Ke, J. Pan, L. Jin, H. Xu, T. Yu // *Scientific reports*. – 2016. – Vol. 6. – P. 1–13. doi: 10.1038/srep31331.
 16. Lin Y. Exposure to bisphenol A induces dysfunction of insulin secretion and apoptosis through the damage of mitochondria in rat insulinoma (INS-1) cells / Y. Lin, X. Sun, L. Qiu, J. Wei, Q. Huang, C. Fang, T. Ye, M. Kang, H. Shen, S. Dong // *Cell death & disease*. – 2013. – Vol. 4, № 1. – P. 1-10. doi: 10.1038/cddis.2012.206.
 17. Liu B. Bisphenol A substitutes and obesity in US adults: analysis of a population-based, cross-sectional study / B. Liu, H. J. Lehmler, Y. Sun, G. Xu, Y. Liu, G. Zong, Q. Sun, F. B. Hu, R. B. Wallace, W. Bao // *The Lancet Planetary Health*. – 2017. – Vol. 1, № 3. – P. e114-e122. doi: 10.1016/S2542-5196(17)30049-9.

18. Marmugi A. Adverse effects of long-term exposure to bisphenol A during adulthood leading to hyperglycaemia and hypercholesterolemia in mice / A. Marmugi, F. Lasserre, D. Beuzelin, S. Ducheix, L. Huc, A. Polizzi, M. Chetivaux, T. Pineau, P. Martin, H. Guillou, L. Mselli-Lakhal // *Toxicology*. – 2014. – Vol. 325. – P. 133-143. doi: 10.1016/j.tox.2014.08.006.
19. Marmugi A. Low doses of bisphenol A induce gene expression related to lipid synthesis and trigger triglyceride accumulation in adult mouse liver / A. Marmugi, S. Ducheix, F. Lasserre, A. Polizzi, A. Paris, N. Priymenko, J. Bertrand-Michel, T. Pineau, H. Guillou, P. G. P. Martin, L. Mselli-Lakhal // *Hepatology*. – 2012. – Vol. 55, № 2. – P. 395-407. doi: 10.1002/hep.24685.
20. Menale C. Adverse Effects of Bisphenol A Exposure on Glucose Metabolism Regulation / C. Menale, D. G. Mita, N. Diano, S. Diano // *The Open Biotechnology Journal*. – 2016. – Vol. 10, № 1. – P. 122-130.
21. Metwally F. M. The Impact of Bisphenol A (BPA) As Environmental Obesogen on Lipids and Lipids Metabolism / F. M. Metwally, M. M. Mohamed, N. E. Sharaf, M. A. Ghazy, A. M. El Mishad, A. Elfiky // *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. – 2016. – Vol. 8, № 9. – P. 1323-1330.
22. Mikac-Dević D. A method for determination of free fatty acids in serum / D. Mikac-Dević, H. Stankovic, K. Bošković // *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. – 1973. – Vol. 45, № 1. – P. 55-59. doi: 10.1016/0009-8981(73)90144-7
23. Mirmira P. Bisphenol A, Obesity, and Type 2 Diabetes Mellitus: Genuine Concern or Unnecessary Preoccupation? / P. Mirmira, C. Evans-Molina // *Translational research: the journal of laboratory and clinical medicine*. – 2014. – Vol. 164, № 1. – P. 13-21. doi: 110.1016/j.trsl.2014.03.003.
24. National Toxicology Program U.S. Department of Health and Human Services, Center. NTP-CERHR monograph on the potential human reproductive and developmental effects of bisphenol A.– Center for The Evaluation of Risks To Human Reproduction, 2008.– 321 p.
25. Shmarakov I. O. Hepatotoxicity of bisphenol A under conditions of differential supplementation with retinoids / I. O. Shmarakov, V. L. Borschovetska, L. P. Ivanishchuk, M. M. Marchenko // *Ukr. Biochem. J.* – 2016. – Vol. 88, № 3. – P. 99-105. doi: 10.15407/ubj88.03.099
26. Shu C. W. RelA-mediated BECN1 expression is required for reactive oxygen species-induced autophagy in oral cancer cells exposed to low-power laser irradiation / C. W. Shu, H. T. Chang, C. S. Wu, C. H. Chen, S. Wu, H. W. Chang, S. Y. Kuo, E. Fu, P. F. Liu, Y. D. Hsieh // *PLoS One*. – 2016. – Vol. 11, № 9. – P. 1-15. doi: 10.1371/journal.pone.0160586.
27. Tudurí E. Timing of exposure and Bisphenol-A: Implications for diabetes development / E. Tudurí, L. Marroqui, R. S. Dos Santos, I. Quesada, E. Fuentes, P. Alonso-Magdalena // *Frontiers in endocrinology*. – 2018. – Vol. 9. – P. 1-10. doi: 10.3389/fendo.2018.00648.

V. L. Borschovetska, Y. R. Mykhalchuk, M. M. Marchenko

Department of Biochemistry and Biotechnology, Institute of Biology, Chemistry and Bioresources, Yuriy Fedkovych Chernivtsi National University, Chernivtsi, Kotsyubynsky 2, 58012

THE FEATURES OF LIPID METABOLISM IN RATS UNDER THE CONDITIONS OF BISPHENOL A ADMINISTRATION AND LOW-LEVEL LASER IRRADIATION

Abstract

Problem. Chronic exposure to bisphenol A (BPA), a compound widely used as a component of household polycarbonate products, induces the development of pathologies associated with metabolic disorders. Low-intensity laser irradiation (LLLI) has become widely used for both therapeutic and corrective purposes. However, its efficacy and the mechanism underlying the corrective effect of laser in various pathological conditions, including metabolic syndrome, depend on a wide range of parameters of laser and target tissues and therefore requires diverse research.

The **aim** of the study was to investigate the features of lipid metabolism in rats under the conditions of BPA and low-level laser irradiation.

Methods. BPA was administered per os daily for 3 days at a dose of 50 mg/kg body weight. Irradiation was performed for 2 min with a low-diode laser $\lambda = 650$ nm (50 mW, 1.5 J/cm² and 12.5 mW/cm²).

Results. It was shown that the administration of BPA was accompanied by the development of dyslipidemia, which was expressed in an increase in triacylglycerols, total cholesterol, LDL and VLDL levels in the serum of animals. The obtained results may be related to the accumulation of lipids in the liver under the conditions of xenobiotic administration, which is confirmed in our studies by an increase in the levels of total cholesterol, triacylglycerols and fatty acids in the liver of bisphenol A-exposed animals. Changes in the lipid profile of blood serum and lipid content in the liver may be the result of hepatotoxic effects of bisphenol A.

At the same time, irradiation of animals with a low-level diode laser, after the administration of BPA, led to a decrease in total cholesterol, triacylglycerols in both serum and liver tissue, which is associated with inhibition of SREBP and reduced activity of enzymes that play a key role in lipogenesis and lipolysis processes.

Conclusions. The administration of bisphenol A is accompanied by lipid metabolism disorders, while low-level laser irradiation of animals corrects the obesogenic effect of the studied xenobiotic.

Keywords: bisphenol A, low-intensity laser irradiation, obesogen, hypercholesterolemia, triacylglycerolemia

References

1. Antonio, E. (2013) «Low-level laser therapy (LLLT) combined with swimming training improved the lipid profile in rats fed with high-fat diet», *Lasers Med Sci.*, 28(5), pp. 1271–1280. doi: 10.1007/s10103-012-1223-z.

2. Bachorik, P. S., Walker, R. E. and Virgil, D. G. (1984) «High-density-lipoprotein cholesterol in heparin-MnCl₂ supernates determined with the Dow enzymic method after precipitation of Mn²⁺ with HCO³⁻», *Clinical Chemistry*, 30(6), pp. 839–842.
3. Batista, T. M. et al. (2012) «Short-term treatment with Bisphenol-A leads to metabolic abnormalities in adult male mice», *PLoS ONE*, 7(3), pp. 1–10. doi: 10.1371/journal.pone.0033814.
4. Baxter, G. D. et al. (2017) «Low level laser therapy (Photobiomodulation therapy) for breast cancer-related lymphedema: a systematic review», *BMC cancer*, 17(1), p. 833. doi: 10.1186/s12885-017-3852-x.
5. Bhandari, R., Xiao, J. and Shankar, A. (2013) «Urinary bisphenol a and obesity in US children», *American Journal of Epidemiology*, 177(11), pp. 1263–1270. doi: 10.1093/aje/kws391.
6. Chang, B. et al. (2019) «The effects of photobiomodulation on MC3T3-E1 cells via 630 nm and 810 nm light-emitting diode», *Medical Science Monitor*, 25, pp. 8744–8752. doi: 10.12659/MSM.920396.
7. Flieger, R. et al. (2019) «Low-Level Laser Therapy with a 635 nm Diode Laser Affects Orthodontic Mini-Implants Stability: A Randomized Clinical Split-Mouth Trial», *Journal of Clinical Medicine*, 9(112), pp. 1–11. doi: 10.3390/jcm9010112.
8. Folch, J., Lees, M. and Sloane, G. H. (1953) «A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues», *The Journal of biological chemistry*, 226(1), pp. 497–509.
9. Friedewald, W.T., Levy, R.I., Fredrickson, D. S. (1972) «Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge», *Clinical Chemistry*, 18(6), pp. 499–502.
10. Fu, S. Watkins, S. M., Hotamisligil, G. S. (2012) «The role of endoplasmic reticulum in hepatic lipid homeostasis and stress signaling», *Cell Metabolism*, 15, pp. 623–634. doi: 10.1016/j.cmet.2012.03.007
11. Gonnelli, F. A. S. et al. (2016) «Low-level laser therapy for the prevention of low salivary flow rate after radiotherapy and chemotherapy in patients with head and neck cancer», *Radiologia Brasileira*, 49(2), pp. 86–91. doi: 10.1590/0100-3984.2014.0144.
12. Iwahara, L. K. da F., de Paoli, F. and da Fonseca, A. de S. (2019) «Low-power red and infrared laser effects on cells deficient in DNA repair», *Journal of Lasers in Medical Sciences*, 10(3), pp. 157–162. doi: 10.15171/jlms.2019.25.
13. Jackson, R. F., Roche, G. C. and Wisler, K. (2010) «Reduction in Cholesterol and Triglyceride Serum Levels Following Low-Level Laser Irradiation : A Noncontrolled, Nonrandomized Pilot Study», *American Journal of Cosmetic Surgery*, 27(4), pp. 177–184.
14. Jówko, E. et al. (2019) «The effect of low level laser irradiation on oxidative stress, muscle damage and function following neuromuscular electrical stimulation. A double blind, randomised, crossover trial», *BMC Sports Science, Medicine and Rehabilitation*, 11(38), pp. 1–14.
15. Ke, Z. et al. (2016) «Bisphenol A Exposure May Induce Hepatic Lipid Accumulation via Reprogramming the DNA Methylation Patterns of Genes Involved in Lipid Metabolism», *Scientific reports*, 6, pp. 1–13. doi: 10.1038/srep31331.
16. Lin, Y. et al. (2013) «Exposure to bisphenol A induces dysfunction of insulin secretion and apoptosis through the damage of mitochondria in rat insulinoma (INS-1) cells», *Cell Death and Disease*, 4(1), pp. 1–10. doi: 10.1038/cddis.2012.206.
17. Liu, B. et al. (2017) «Bisphenol A substitutes and obesity in US adults: analysis of a population-based, cross-sectional study», *The Lancet Planetary Health*, 1(3), pp. e114–e122. doi: 10.1016/S2542-5196(17)30049-9.
18. Marmugi, A. et al. (2012) «Low doses of bisphenol A induce gene expression related to lipid synthesis and trigger triglyceride accumulation in adult mouse liver», *Hepatology*, 55(2), pp. 395–407. doi: 10.1002/hep.24685.
19. Marmugi, A. et al. (2014) «Adverse effects of long-term exposure to bisphenol A during adulthood leading to hyperglycaemia and hypercholesterolemia in mice», *Toxicology*, pp. 133–143. doi: 10.1016/j.tox.2014.08.006.

20. Menale, C. et al. (2016) «Adverse Effects of Bisphenol A Exposure on Glucose Metabolism Regulation», *The Open Biotechnology Journal*, 10(1), pp. 122–130. doi: 10.2174/1874070701610010122.
21. Metwally, F. M. et al. (2016) «The Impact of Bisphenol A (BPA) As Environmental Obesogen on Lipids and Lipids Metabolism», *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 8(9), pp. 1323–1330.
22. Mikac-Dević, D., Stankovic, H. and Boškovlć, K. (1973) «A method for determination of free fatty acids in serum», *Clinica Chimica Acta*, 45(1), pp. 55–59. doi: 10.1016/0009-8981(73)90144-7.
23. Mirmira, P. and Evans-Molina, C. (2014) «Bisphenol A, Obesity, and Type 2 Diabetes Mellitus: Genuine Concern or Unnecessary Preoccupation?», *Transl Res.*, 164(1), pp. 13–21. doi: 10.1016/j.trsl.2014.03.003.
24. National Toxicology Program U.S. Department of Health and Human Services and Center (2008) *NTP-CERHR monograph on the potential human reproductive and developmental effects of bisphenol A*. Center for The Evaluation of Risks To Human Reproduction.
25. Shmarakov, I. O. et al. (2016) «Hepatotoxicity of bisphenol A under conditions of differential supplementation with retinoids», *Ukr. Biochem. J.* 88(3). pp. 99-105. doi: 10.15407/ubj88.03.099
26. Shu, C. W. et al. (2016) «RelA-mediated BECN1 expression is required for reactive oxygen species-induced autophagy in oral cancer cells exposed to low-power laser irradiation», *PLoS ONE*, 11(9), pp. 1–15. doi: 10.1371/journal.pone.0160586.
27. Tudurí, E. et al. (2018) «Timing of exposure and Bisphenol-A: Implications for diabetes development», *Frontiers in Endocrinology*, 9, pp. 1–10. doi: 10.3389/fendo.2018.00648.