

doi 10.18524/2077-1746.2021.2(49).246869

УДК 577.152.6:576

О. В. Кеца, к. б. н., доцент**М. М. Марченко**, д. б. н., професор**О. А. Самуляк**, магістранткаЧернівецький національний університет імені Юрія Федьковича,
Інститут біології, хімії та біоресурсів, кафедра біохімії та біотехнології,
вул. Коцюбинського, 2, Чернівці, Україна

ІНТЕНСИВНІСТЬ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ У ПОСТНУКЛЕАРНІЙ ФРАКЦІЇ НИРОК ЩУРІВ ЗА ДІЇ ЛАЗЕРНОГО ОПРОМІНЕННЯ ТА ω -3 ПОЛІНЕНАСИЧЕНИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ

Досліджено вплив дії низькоінтенсивного лазерного опромінення та протекторної дії ω -3 поліненасичених жирних кислот (ПНЖК) на інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) та окиснювальної модифікації протеїнів (ОМП) нирок щурів. Встановлено, що щоденна чотирихвилинна дія лазерного дію довшиною хвилі 650 нм, потужністю 50 мВт призводить до ініціації ПОЛ та ОМП у постнуклеарній фракції нирок. Введення ω -3 ПНЖК знижує вільнорадикальні процеси в нирках тварин залежно від схеми їх введення. Найефективнішу антиоксидантну дію ω -3 ПНЖК проявляють за умов їх попереднього семиденного введення перед лазерним опроміненням, оскільки знижується вміст первинних (дієнових кон'югатів (ДК)), вторинних (кетодієнів та спряжених трієнів (КД+СТ)) та кінцевих (основ Шиффа) продуктів ПОЛ з одночасним зниженням рівня карбонільних груп та підвищенням SH-груп протеїнів.

Ключові слова: окиснювальна модифікація протеїнів; пероксидне окиснення ліпідів; лазерне опромінення; поліненасичені жирні кислоти; нирки.

Лазерні технології сьогодні широко застосовуються в лікуванні та діагностиці захворювань у різних галузях медицини, що пов'язано з їхньою монохроматичністю та здатністю змінювати клітинний метаболізм [8]. Проте, вплив на біологічні тканини великою мірою залежить від дози опромінення, а зміни в біологічних тканинах можуть супроводжуватися небажаними побічними ефектами [2]. Лазерне опромінення червоного та інфрачервоного діапазонів має стимулювальний вплив на тканини організму при експозиції до 4 хв під час локальної дії і з щільністю від 20 до 100 мВт/см². В іншому випадку проявляється його інгібуєча і шкідлива дія внаслідок високої енергетичної потужності фотонів. Проте, навіть при низькоінтенсивному лазерному опроміненні залишаються відкритими питання інтенсивності вільнорадикальних процесів в органах організму, зокрема нирках [2]. Нирка – один із паренхіматозних органів, який найчутливіший до дії лазерного опромінення [6]. Фотони лазерного

опромінення здатні поглинатися специфічними рецепторами – хромофорами, що призведе до змін в біологічних тканинах із ініціацією вільнорадикальних процесів у клітинах, серед яких найпоширеніші – пероксидне окиснення ліпідів (ПОЛ) та окиснювальна модифікація протеїнів (ОМП) [9].

Швидкість вільнорадикальних процесів у клітинах можна контролювати за допомогою зміни рівня метаболітів в організмі. Тому, залишається актуальним пошук біологічних регуляторів, які б коригували негативну дію лазерного опромінення. До таких біорегуляторів можна віднести ω -3 поліненасичені жирні кислоти (ПНЖК), які здатні регулювати різні метаболічні шляхи в організмі [5], проте питання механізмів їхньої антиоксидантної дії на організм за умов впливу лазерного опромінення залишаються відкритими.

Метою даного дослідження було оцінити інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів та окиснювальної модифікації протеїнів у постнуклеарній фракції нирок щурів за дії лазерного опромінення та додаткового введення ω -3 ПНЖК.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження проводили на білих безпородних щурах масою 130–150 г, які утримувались на стандартному раціоні віварію. Маніпуляції з тваринами проводили згідно з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та наукових цілей» (Страсбург, 1986) з урахуванням положень, викладених у роботі [4].

Усіх тварин розділили на п'ять груп: I – інтактні тварини (контроль); II – щури, яких піддавали дії лазерного діоду; III – щури, яким ω -3 ПНЖК вводили після опромінення лазером; IV – щури, яким ω -3 ПНЖК вводили щоденно за дві години до лазерного опромінення; V – щури, яким ω -3 ПНЖК вводили 7 днів попередньо перед застосуванням лазерного опромінення.

Опромінення тварин здійснювали щоденно протягом 4-х хвилин лазерним діодом довжиною хвилі 650 нм, потужністю 50 мВт в ділянку черевної порожнини на відстані 10 см від поверхні шкіри. Джерелом ω -3 ПНЖК слугував комерційний препарат Вітрум Кардіо Омега-3 (виробник «Unipharm, Inc.», США) тваринного походження (риб'ячий жир), який містив 32% ейкозапентаєнової кислоти і 24% докозагексаєнової кислоти. Жирні кислоти в рибу'ячому жирі ідентифікували методом газової хроматографії на хроматографі HRGC5300 (Італія). Для аналізу індивідуальних жирних кислот використовували стандартні препарати фірми Sigma. ω -3 ПНЖК вводили *per os* у щоденній дозі 120 мг/кг маси тіла тварин.

Евтаназію тварин проводили під легким ефірним наркозом на 7- та 14-у добу опромінення лазерним діодом.

Постнуклеарну фракцію нирок щурів отримували шляхом центрифугування при 1000 г протягом 15 хв. Про інтенсивність ПОЛ в постнуклеарній фракції нирок судили за вмістом первинних, вторинних і третинних (кінце-

вих) продуктів в ізопропанольних екстрактах, куди переважно екстрагуються фосфоліпиди. Рівень гідропероксидів (первинних молекулярних продуктів ліпопероксидації), а саме дієнових кон'югатів (ДК), реєстрували в УФ-спектрі за довжини хвилі 232 нм. Величина оптичної щільності за довжини хвилі 278 нм відображала вміст вторинних продуктів ПОЛ (кетодієнів і спряжених трієнів, КД + СТ); за довжини хвилі 400 нм – кінцевих продуктів ПОЛ (шиффових основ) [11, 14].

Інтенсивність ОМП у постнуклеарній фракції визначали за вмістом карбонільних похідних (метод заснований на реакції взаємодії карбонільних похідних протеїнів з 2,4-динітрофенілгідразином з утворенням 2,4-динітрофенілгідразонів) [12] та рівнем сульфгідрильних груп (SH-груп) (метод заснований на взаємодії реактиву Елмана з протеїновими SH-групами) [10].

Статистичне опрацювання результатів проводили з використанням параметричних методів аналізу, з використанням дисперсійного аналізу ANOVA. Різницю між групами вважали достовірною при $P < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення

Інтенсивність дії лазерного опромінення на біологічні тканини визначається трансмісією, відбиванням, розсіюванням та абсорбцією. Під час взаємодії лазерних променів з біологічною живою тканиною одночасно виявляються всі чотири явища. Проте, найважливішим є явище трансмісії або проникання у тканину, глибина якої залежить від довжини хвилі лазерного світла та є найефективнішою за довжини хвилі 633–700 нм. Фотони лазера, проникаючи в біологічну тканину, можуть проявляти біостимулювальний вплив, вибиваючи електрони з молекул-фоторецепторів, стимулюючи, тим самим, вільнорадикальні процеси [7].

Результати проведених досліджень показали, що опромінення організму лазерним діодом довжиною хвилі 650 нм, потужністю 50 мВт щоденно протягом 4-х хвилин призводить до підвищення рівня дієнових кон'югатів (первинних продуктів ПОЛ) у 2,4 рази на 7-у добу опромінення та у 3 рази – на 14-у добу опромінення порівняно з показниками інтактних тварин (рис. 1).

Підвищення первинних продуктів ПОЛ може відбуватися за рахунок генерації активних форм кисню у клітині. Так, відомо, що лазерне опромінення ініціює активність ензимів – цитохрому P450, ксантинооксидази, ензимів дихального ланцюга мітохондрій, які здатні генерувати вільнорадикальні стани кисню, ініціюючи у такий спосіб вільнорадикальні процеси в клітині [13].

Застосування різних схем введення ω -3 ПНЖК показало, що найвищим антиоксидантним ефектом ω -3 ПНЖК володіють за умов їх попереднього семиденного введення в організм перед початком дії лазерного опромінення.

Так, у цієї групи тварин рівень первинних продуктів ПОЛ не відрізнявся від показника контролю, на 7-у добу опромінення, а на 14-у добу опромінення їх

вміст збільшувався у 1,3 рази (рис. 1). Під час застосування ω -3 ПНЖК після закінчення дії опромінення рівень первинних продуктів ПОЛ не відрізнявся від показників групи тварин, яких піддавали дії лазерного діоду та не вводили ω -3 ПНЖК (рис. 1). Введення ω -3 ПНЖК за дві години до дії лазерного опромінення призводить до підвищення рівня ДК (рис. 1) у постнуклеарній фракції нирок щурів порівняно з показниками інтактних тварин, проте такі зміни процесу ПОЛ не досягають рівня показників групи опромінених тварин, яким не вводили ω -3 ПНЖК.

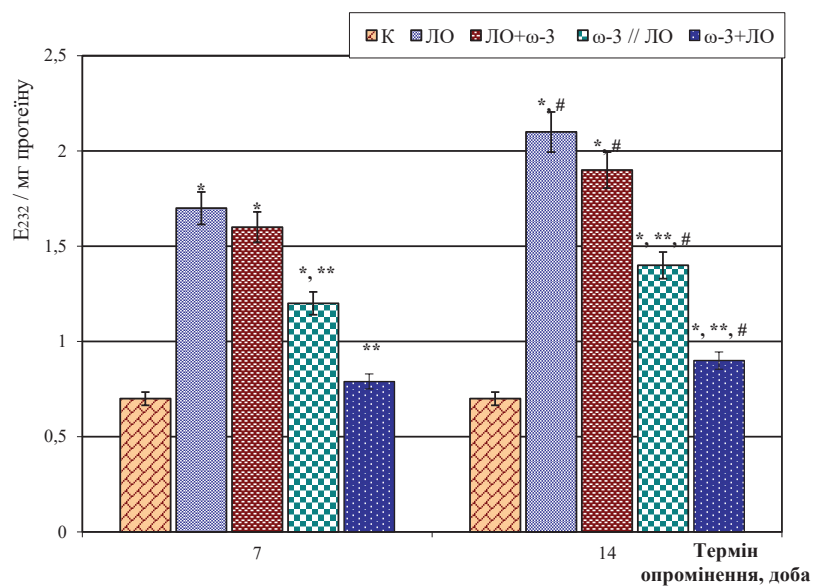


Рис. 1. Вміст дієнових кон'югатів у постнуклеарній фракції нирок щурів за умов дії низькоінтенсивного лазерного опромінення та ω -3 поліненасичених жирних кислот

Примітка (тут і надалі): К – інтактні тварини (контроль); ЛО – щури, яких піддавали дії лазерного діоду; ЛО+ ω -3 – щури, яким після опромінення лазером вводили ω -3 ПНЖК; ω -3//ЛО – щури, яким ω -3 ПНЖК вводили щоденно за дві години до лазерного опромінення; ω -3+ЛО – щури, яким ω -3 ПНЖК вводили 7 днів попередньо перед застосуванням лазерного опромінення; * – статистично достовірна різниця порівняно з показником інтактних тварин ($p \leq 0,05$); ** – статистично достовірна різниця порівняно з показником опромінених щурів ($p \leq 0,05$); # – статистично достовірна різниця порівняно з показниками, що спостерігалися на 7 добу ($p \leq 0,05$)

Поряд із підвищенням первинних продуктів ПОЛ по мірі збільшення терміну опромінення у постнуклеарній фракції нирок підвищувався рівень вторинних продуктів ПОЛ – кетодієнів і спряжених трієнів. Так, якщо після 7-денного опромінення рівень вторинних продуктів ПОЛ підвищувався у 1,9 рази, то після 14-денного – у 2,2 рази порівняно з контролем (рис. 2).

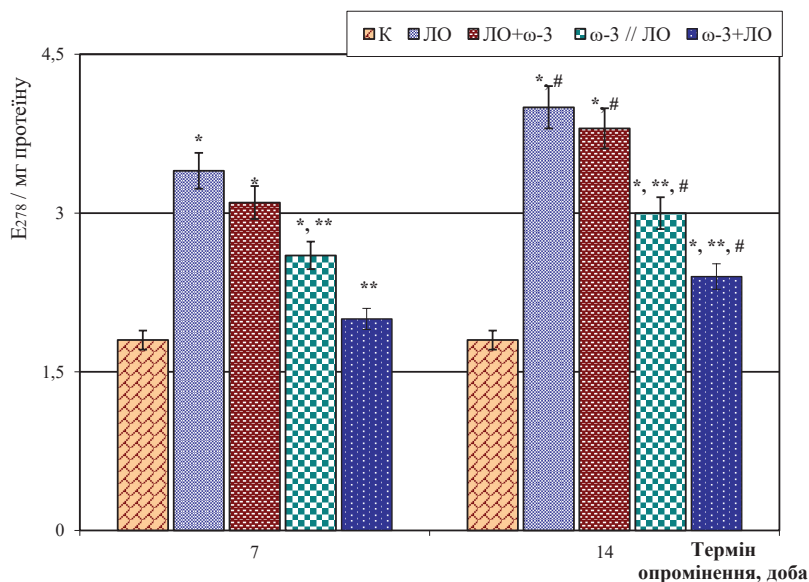


Рис. 2. Вміст кетодієнів і спряжених трієнів у постнуклеарній фракції нирок щурів за умов дії низькоінтенсивного лазерного опромінення та ω-3 поліненасичених жирних кислот

Дослідження вмісту кетодієнів і спряжених трієнів у постнуклеарній фракції нирок щурів за різних схем введення ω-3 ПНЖК показало, що за умов їх попереднього введення до опромінення рівень вторинних продуктів ПОЛ не відрізнявся від показників інтактних тварин на 7-му добу опромінення з незначним підвищенням (у 1,3 рази) на 14-у добу (рис. 2). Очевидно, попереднє введення ω-3 ПНЖК стабілізує внутрішньоклітинні структури нирок, за рахунок їх вбудовування у мембранні фосфоліпіди [3], що робить їх стійкими до вільнорадикальної деструкції, яка спостерігається за дії лазерного опромінення. Введення ω-3 ПНЖК після закінчення дії опромінення не проявляло протективного ефекту на нирки. Незначний протективний ефект ω-3 ПНЖК спостерігався, коли їх вводили за дві години до дії лазерного опромінення, оскільки рівень вторинних продуктів ПОЛ у постнуклеарній фракції нирок знижувався, проте не досягав значень контролю (рис. 2).

Підвищення рівня первинних та вторинних продуктів ПОЛ у фосфоліпідних екстрактах постнуклеарної фракції клітин нирок, очевидно, зумовлено негативним впливом низькоінтенсивного лазерного опромінення на внутрішні мембрани клітин нирок. Попереднє введення ω-3 ПНЖК сприяє стабілізації внутрішньоклітинних мембран.

Карбон альдегідної групи вторинних продуктів ПОЛ може з'єднуватися з нітрогеном протеїнів, утворюючи кінцеві продукти або основи Шиффа [11]. Аналіз результатів показав підвищення кінцевих продуктів ПОЛ в постнуклеарній фракції нирок щурів по мірі збільшення терміну опромінення (рис. 3).

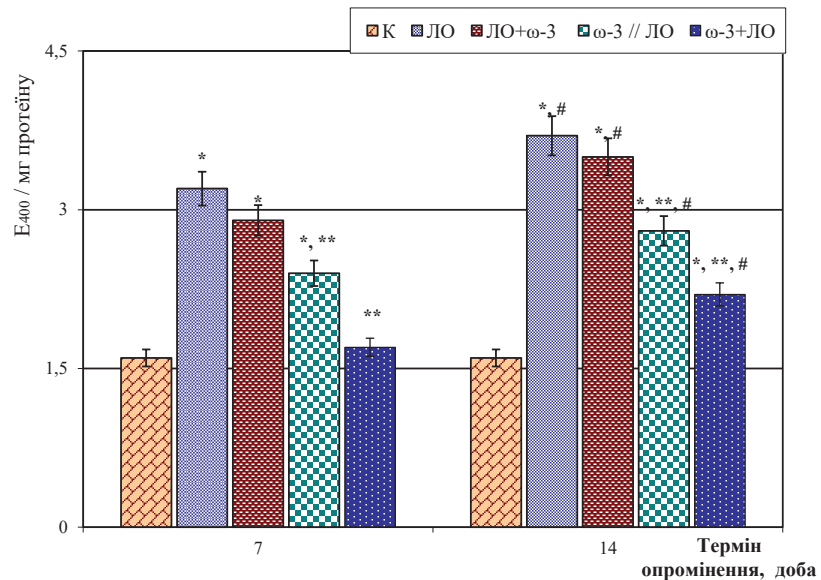


Рис. 3. Вміст шиффових основ у постнуклеарній фракції нирок щурів за умов дії низькоінтенсивного лазерного опромінення та ω -3 поліненасичених жирних кислот

Введення ліпофільних есенціальних нутрієнтів показало, що найбільше зниження рівня кінцевих продуктів ПОЛ спостерігалось у групі тварин, яким ω -3 ПНЖК вводили попередньо перед опроміненням, оскільки у цієї групи щурів рівень шиффових основ не відрізнявся від показників контролю на 7-у добу опромінення, а на 14-у добу опромінення їх вміст збільшувався у 1,4 рази порівняно з контролем (рис. 3).

Під час застосування ω -3 ПНЖК після закінчення дії опромінення рівень кінцевих продуктів ПОЛ не відрізнявся від показників групи тварин, яких піддавали дії лазерного діоду та не вводили ω -3 ПНЖК (рис. 3).

Введення ω -3 ПНЖК за дві години до дії лазерного опромінення призводить до підвищення рівня шиффових основ у постнуклеарній фракції нирок щурів порівняно з показниками інтактних тварин, проте такі зміни процесу ПОЛ не досягають рівня показників групи опромінених тварин, яким не вводили ω -3 ПНЖК (рис. 3). Імовірно, щоденне попереднє введення ω -3 ПНЖК спочатку може проявляти антиоксидантний ефект, а зі збільшенням терміну опромінення ω -3 ПНЖК стають субстратами дії активних форм кисню, що і підвищує ліпопероксидацію.

Отже, інтенсивність процесів ПОЛ у нирках (зростання вмісту дієнових кон'югатів, кетодієнів і спряжених трієнів, шиффових основ) значно поглиблюється по мірі дії на організмі лазерного опромінення, що може супроводжуватися порушеннями функціонування цього органу з розвитком ендо-

токсикозу. Для зниження прооксидантної дії лазерного опромінення доречно вводити природні антиоксиданти, зокрема ПНЖК, проте їхній протективний ефект залежить від схеми введення поряд з опроміненням.

Оскільки вторинні продукти ПОЛ здатні взаємодіяти з аміногрупами протеїнів, утворюючи високомолекулярні агрегати [1], то їх утворення може стати пусковим фактором підвищення проникності мембран і дисфункції мембранних протеїнів, які підвищують генерацію супероксидного радикала ($O_2^{\cdot-}$). При цьому, самі ж протеїни можуть окиснюватися за дії активних форм кисню. Щоб перевірити дане припущення нами досліджено ОМП, основними маркерами якої є карбонільні похідні та вільні SH-групи протеїнів.

Аналіз результатів проведених досліджень показав, що за дії лазерного опромінення в ділянку черевної порожнини, спостерігається підвищення рівня карбонільних похідних протеїнів у постнуклеарній фракції нирок щурів, яке посилюється зі збільшенням терміну опромінення (рис. 4).

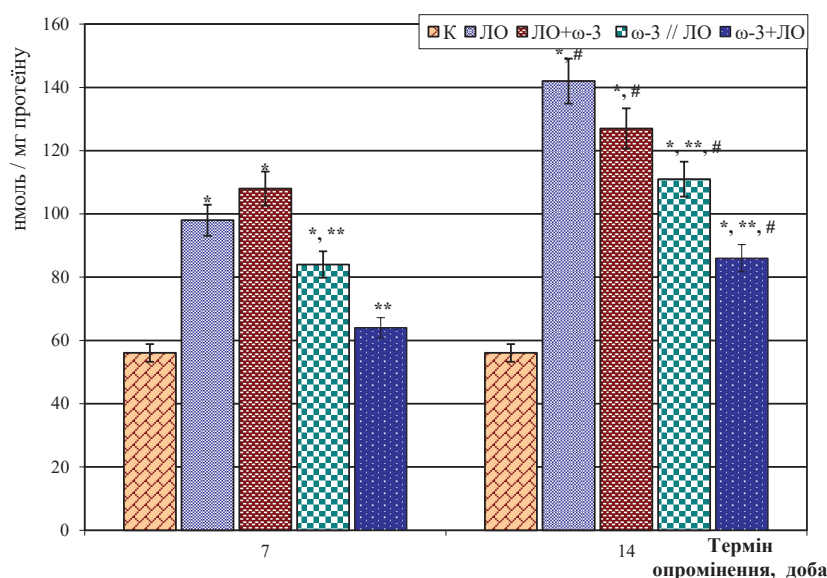


Рис. 4. Рівень карбонільних похідних у постнуклеарній фракції нирок щурів за дії низькоінтенсивного лазерного опромінення та ω -3 поліненасичених жирних кислот

Накопичення протеїнових карбонільних похідних свідчить про низьку активність протеазних систем, які б утилізували окиснені протеїни. Поряд з цим, у постнуклеарній фракції нирок знижується рівень протеїнових сульфгідрильних груп у опроміненних щурів (рис. 5), що підтверджує інтенсифікацію ОМП за дії лазерного дію.

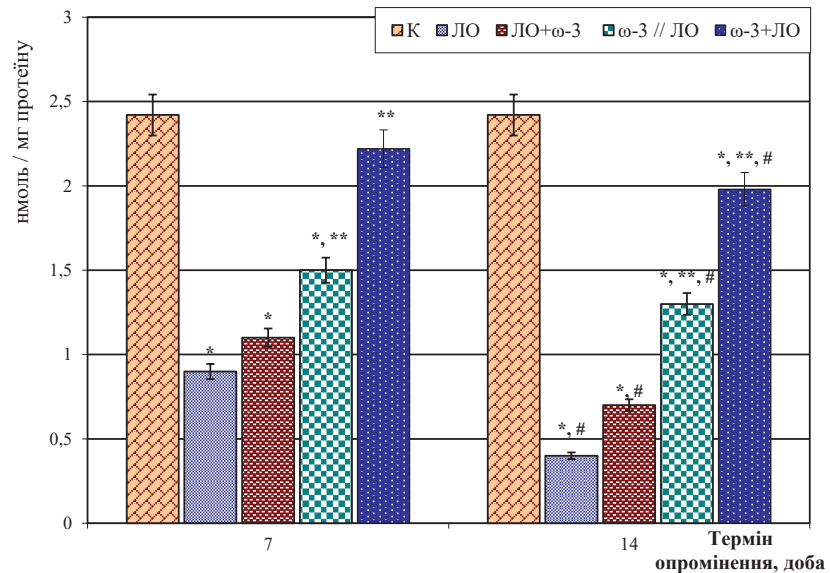


Рис. 5. Рівень білкових SH-груп у постнуклеарній фракції нирок щурів за дії низькоінтенсивного лазерного опромінення та ω-3 поліненасичених жирних кислот

Корекцію встановлених змін проводили шляхом введення ω-3 ПНЖК. Встановлено, що коригувальний ефект ω-3 ПНЖК залежить від режиму їх введення. Результати дослідження показали, що найкраще ω-3 ПНЖК проявляють свою коригувальну функцію за умов їхнього введення після дії низькоінтенсивного лазерного опромінення. Так, у цієї групи тварин рівні карбонільних похідних (рис. 4) та SH-груп протеїнів (рис. 5) не відрізнялися від показників контролю на 7-у добу опромінення, а на 14-у добу опромінення вміст карбонільних похідних підвищувався у 1,5 рази (рис. 4), а SH-груп знижувався у 1,2 рази (рис. 5) порівняно з контролем. Встановлений факт підтверджується рівнем шиффових основ, які утворюються при взаємодії вторинних продуктів ПОЛ з протеїновими групами (рис. 3).

Під час застосування ω-3 ПНЖК після закінчення дії опромінення спостерігалось підвищення ОМП, що виражалось збільшенням рівня карбонільних похідних (рис. 4) та зниженням вмісту SH-груп протеїнів (рис. 5). При чому, ці результати не відрізнялися від показників групи опромінених тварин, яким не вводили ω-3 ПНЖК.

Введення ω-3 ПНЖК за дві години до дії лазерного опромінення призводило до підвищення рівня протеїнових карбонільних груп (рис. 4) та зниження SH-груп протеїнів (рис. 5) у постнуклеарній фракції нирок щурів порівняно з показниками інтактних тварин, проте такі зміни маркерів ОМП не досягали рівня показників групи опромінених тварин, яким не вводили ω-3 ПНЖК. Очевидно, реакції вільних радикалів, що утворюються після короточасного

опромінення, спочатку швидко припиняються антиоксидантними окисно-відновними циклами за дії ω -3 ПНЖК [3]. Однак у певних випадках та певних клітинних середовищах вільні радикали можуть ініціювати ланцюгові реакції, які посилюватимуть ефекти початкового окиснення, викликаного опроміненням, що призводить до серйозних порушень, які впливають на основну функцію клітин нирок.

Отже, дія лазерного опромінення у ділянку черевної порожнини тварин супроводжується інтенсифікацією процесів ПОЛ і ОМП у постнуклеарній фракції нирок шурів. При введенні ω -3 ПНЖК спостерігається зниження вільнорадикальних процесів у нирках. Ефективність антиоксидантних властивостей ω -3 ПНЖК залежить від схеми їх введення. Найвищий протективний ефект ω -3 ПНЖК проявляють за умов їх попереднього введення перед застосуванням лазерного діюду.

Висновки

1. Цілеспрямоване низькоінтенсивне лазерне опромінення в анатомічну ділянку черевної порожнини проявляє деструктивний вплив на клітинні мембрани нирок, що виражається підвищенням первинних, вторинних та кінцевих продуктів ПОЛ у фосфоліпідних екстрактах та підвищенням інтенсивності ОМП.

2. ω -3 ПНЖК здатні здійснювати коригувальну дію на вплив низькоінтенсивного лазерного опромінення, яка залежить від схеми їх введення. Найвищий антиоксидантний ефект ω -3 ПНЖК спостерігався у групі тварин, яким ліпофільні нутрієнти вводили попередньо до дії лазерного опромінення, оскільки після семиденного опромінення інтенсивність ПОЛ та ОМП не відрізнялася від показників контролю з наступним незначним підвищенням на 14-у добу.

Стаття надійшла до редакції 15.08.2021

Список використаної літератури

1. Abu-Dief A.M. A review on versatile applications of transition metal complexes incorporating Schiff bases. / A. M. Abu-Dief, I.M.A. Mohamed // Beni Suef Univ J Basic Appl Sci.– 2015.– Vol. 4(2).– P. 119–133.
2. Asiran S. Z. The evaluation of long-pulsed Nd: YAG laser efficacy and side effects in the treatment of cutaneous vessels on the face and legs. / S. Z. Asiran, I. N. Fisek // J Cosmet Dermatol.– 2020.– Vol. 19.– P. 1656–1661.
3. Cholewski M. A comprehensive review of chemistry, sources and bioavailability of omega-3 fatty acids./ M. Cholewski, M. Tomczykowa, M. Tomczyk // Nutrients.– 2018.– Vol. 10(11).– 1662.
4. Edition E. Guide for the care and use of laboratory animals. Washington: the national academies press, 2011.– 246 p.
5. Gutiérrez S. Effects of omega-3 fatty acids on immune cells. / S. Gutiérrez, S. L. Svahn, M. E. Johansson // Int J Mol Sci.– 2019.– Vol. 20.– P. 5028.
6. Hein S. Thermal effects of Ho: YAG laser lithotripsy during retrograde intrarenal surgery and percutaneous nephrolithotomy in an ex vivo porcine kidney model. / S. Hein, R. Petzold, R. Suarez-Ibarrola et al. // World J Urol.– 2020.– Vol. 38(3).– P. 753–760.
7. Hsiao C. Y. Laser ablation and topical drug delivery: a review of recent advances. / C. Y. Hsiao, S. C. Yang, A. Alalawi, J. Y. Fang // Expert Opin Drug Deliv.– 2019.– Vol. 16.– P. 937–952.

8. Kalashnikova N. G. Management and prevention of laser complications in aesthetic medicine: An analysis of the etiological factors. / N. G. Kalashnikova, M. Jafferany, T. Lotti // *Dermatol Ther.* – 2021. – Vol. 34(1). – P. e14373.
9. Masuda Y. Free radical production by femtosecond laser lens irradiation in porcine eyes. / Y. Masuda, T. Igarashi, K. Oki et al. // *J Cataract Refract Surg.* – 2019. – Vol. 45. – P. 1168–1171.
10. Murphy M. E. Oxidation state of tissue thiol groups and content of protein carbonyl groups in chickens with inherited muscular dystrophy. / M. E. Murphy, J. P. Kehrer // *Biochem J.* – 1989. – Т. 260. – P. 359–364.
11. Волчегорский И. А. Сопоставление различных подходов к определению продуктов перекисного окисления липидов в гептан-изопропанольных экстрактах крови. / И. А. Волчегорский, И. А. Налимов, Б. Г. Яровинский и др. // *Вопр. мед. хим.* – 1989. – Т. 35, № 1. – С. 127–131.
12. Дубинина Е. Е. Окислительные модификации белков сыворотки крови человека, метод ее определения. / Е. Е. Дубинина, С. О. Бурмистров, Д. А. Ходов, И. Г. Поротов // *Вопросы медицинской химии.* – 1995. – Т. 1. – С. 24–26.
13. Кеца О. В. Вплив лазерного опромінення на ксантинооксидазну активність та генерацію супероксидного радикала в цитозольній фракції печінки щурів-пухлиноносців. / О. В. Кеца, Н. Б. Куцак, М. М. Марченко // *Біол. тварин.* – 2020. – Т. 22, № 2. – С. 54–57.
14. Львовская Е. И. Спектрофотометрическое определение конечных продуктов перекисного окисления липидов / Е. И. Львовская, И. А. Волчегорский, С. Е. Шемяков // *Вопр. мед. хим.* – 1991. – № 3. – С. 92–93.

О. В. Кеца, М. М. Марченко, О. А. Самуляк

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича,
Інститут біології, хімії та біоресурсів, кафедра біохімії та біотехнології,
вул. Коцюбинського, 2, Чернівці, Україна,

**ІНТЕНСИВНІСТЬ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ
У ПОСТНУКЛЕАРНІЙ ФРАКЦІЇ НИРОК ЩУРІВ
ЗА ДІЇ ЛАЗЕРНОГО ОПРОМІНЕННЯ ТА ω -3
ПОЛІЕНАСИЧЕНИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ**

Резюме

Проблема. Дія лазерного опромінення на організм може призводити до локальних пошкоджень тканин, що супроводжуватимуться змінами біохімічних процесів, які відбуваються у нирках. Напрямок цих змін до кінця незрозумілий, тому актуальним залишається дослідження вільнорадикальних процесів окиснення ліпідів та протеїнів, як основних маркерів оксидативного стресу в організмі, та їх корекція ω -3 поліенасиченими жирними кислотами (ПНЖК).

Мета – оцінити інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів та окиснювальної модифікації протеїнів у постнуклеарній фракції нирок щурів за дії лазерного опромінення та додаткового введення ω -3 ПНЖК.

Методи. У дослідженнях використовували білих безпородних щурів, яких щоденно протягом 4-х хвилин опромінювали лазерним діодом довжиною хвилі 650 нм, потужністю 50 мВт у ділянку черевної порожнини на відстані 10 см від поверхні шкіри. Стан пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) визначали за рівнем первинних, вторинних та кінцевих продуктів. Інтенсивність окиснювальної модифікації протеїнів (ОМП) оцінювали за рівнем карбонільних похідних та протеїнових SH-груп. Для корекції прооксидантного стану тваринам додатково вводили ω -3 ПНЖК.

Основні результати. Низькоінтенсивне лазерне опромінення проявляє деструктивний вплив на клітинні мембрани нирок, що виражається підвищенням

первинних, вторинних та кінцевих продуктів ПОЛ у фосфоліпідних екстрактах та підвищенням інтенсивності ОМП. Введення ω -3 ПНЖК знижує вільнорадикальні процеси в нирках опромінених щурів, проте цей ефект залежить від схеми їх введення. ω -3 ПНЖК не проявляють антиоксидантного ефекту за умов їхнього введення після лазерного опромінення. Щоденне введення ω -3 ПНЖК за дві години до опромінення проявляє незначний антиоксидантний ефект лише на початкових етапах опромінення. Попереднє семиденне введення ω -3 ПНЖК перед лазерним опроміненням є найефективнішим, оскільки сприяє зниженню вільнорадикальних процесів.

Висновки. Встановлено, що ω -3 ПНЖК здатні здійснювати коригувальну дію на вплив низькоінтенсивного лазерного опромінення, яка залежить від схеми їх введення. Найвищий антиоксидантний ефект спостерігається у групи тварин, яким ω -3 ПНЖК вводили попередньо до дії лазерного опромінення.

Ключові слова: окиснювальна модифікація протеїнів; пероксидне окиснення ліпідів; лазерне опромінення; поліненасичені жирні кислоти; нирки.

O. V. Ketsa, M. M. Marchenko, O. A. Samuliak

Fedkovich Chernovtsy National University, Institute of Biology,
Chemistry and Bioresources, Department of Biochemistry and Biotechnology,
2 Kotsyubinskyi Str., Chernovtsy, Ukraine

INTENSITY OF FREE RADICAL PROCESSES IN THE POSTNUCLEAR FRACTION OF RAT KIDNEYS UNDER INFLUENCE OF LASER IRRADIATION AND ω -3 POLYUNSATURATED FATTY ACIDS

Abstract

Introduction. The effect of laser irradiation on the body can lead to local tissue damage, which will be accompanied by changes in biochemical processes that occur in the kidneys. The direction of these changes is completely unclear, so the study of free radical oxidation of lipids and proteins as the main markers of oxidative stress in the body and their correction by ω -3 polyunsaturated fatty acids (PUFA) remains relevant.

Aim. To evaluate the intensity of lipid peroxidation and oxidative modification of proteins in the postnuclear fraction of rat kidneys under the action of laser irradiation and additional administration of ω -3 PUFA.

Methods. The studies used white outbred rats, which were irradiated daily for 4 minutes with a laser diode with a wavelength of 650 nm, power of 50 mW in the abdominal cavity at a distance of 10 cm from the skin surface. The state of lipid peroxidation (LPO) was determined by the level of primary, secondary and final products. The intensity of oxidative modification of proteins (OMP) was evaluated by the level of carbonyl derivatives and protein SH-groups. To correct the prooxidant state, the animals were additionally injected with ω -3 PUFA.

Results. Low-intensity laser irradiation has a destructive effect on the cell membranes of the kidneys, which is expressed by an increase in primary, secondary and final products of LPO in phospholipid extracts and an increase in the intensity of

OMP. The introduction of ω -3 PUFAs reduces free radical processes in the kidneys of irradiated rats, but this effect depends on the scheme of their introduction. ω -3 PUFAs do not show antioxidant effect under the conditions of their introduction after laser irradiation. Daily administration of ω -3 PUFA two hours before irradiation shows a slight antioxidant effect only in the initial stages of irradiation. Preliminary seven-day administration of ω -3 PUFA before laser irradiation is the most effective, as it helps to reduce free radical processes.

Conclusion. It is established that ω -3 PUFAs are able to have a corrective effect on the action of low-intensity laser irradiation, which depends on the scheme of their introduction. The highest antioxidant effect is observed in groups of animals to which ω -3 PUFA was previously administered before the action of laser irradiation.

Key words: oxidative modification of proteins; lipid peroxidation; laser irradiation; polyunsaturated fatty acids; kidneys.

References

1. Abu-Dief A.M., Mohamed I.M.A. (2015) "A review on versatile applications of transition metal complexes incorporating Schiff bases", Beni Suef Univ J Basic Appl Sci, 4, pp. 119–133.
2. Asiran S.Z., Fisek I.N. (2020) "The evaluation of long-pulsed Nd: YAG laser efficacy and side effects in the treatment of cutaneous vessels on the face and legs", J Cosmet Dermatol, 19, pp. 1656–1661.
3. Cholewski M., Tomczykowa M., Tomczyk M. (2018) "A comprehensive review of chemistry, sources and bioavailability of omega-3 fatty acids", Nutrients, 10(11), pp. 1662.
4. Edition E. (2011) "Guide for the care and use of laboratory animals. Washington: the national academies press", 246 p.
5. Gutiérrez S., Svahn S.L., Johansson M.E. (2019) "Effects of omega-3 fatty acids on immune cells", Int J Mol Sci, 20, pp. 5028.
6. Hein S., Petzold R., Suarez-Ibarrola R. et al. (2020) "Thermal effects of Ho: YAG laser lithotripsy during retrograde intrarenal surgery and percutaneous nephrolithotomy in an ex vivo porcine kidney model", World J Urol, 38, pp. 753–760.
7. Hsiao C.Y., Yang S.C., Alalaiwe A., Fang J.Y. (2019) "Laser ablation and topical drug delivery: a review of recent advances", Expert Opin Drug Deliv, 16, pp. 937–952.
8. Kalashnikova N.G., Jafferany M., Lotti T. (2021) "Management and prevention of laser complications in aesthetic medicine: An analysis of the etiological factors", Dermatol Ther, 34, pp. e14373.
9. Masuda Y., Igarashi T., Oki K. et al. (2019) "Free radical production by femtosecond laser lens irradiation in porcine eyes", J Cataract Refract Surg, 45, pp. 1168–1171.
10. Murphy M.E., Kehrer J.P. (1989) "Oxidation state of tissue thiol groups and content of protein carbonyl groups in chickens with inherited muscular dystrophy", Biochem J, 260, pp. 359–364.
11. Volchegorsky I.A., Nalimov A.G., Yarovinsky B.G., Lifshitz R.I. (1989) "Comparison of different approaches to the definition of LPO products in heptane – isopropanol blood extracts" ["Sopostavlenye razlychnukh podkhodov k opredeleniyu produktov perekysnoho okysleniya lypydov v heptan-yzopropanolnkh ekstraktakh krovy"], Vopr. med. chem, 35, pp. 127–131.
12. Dubinina E.E., Burmistrov S.O., Khodov D.A., Porotov I.G. (1995) "Oxidative modifications of human serum proteins, a method for its determination" ["Okyslytelnye modyfikatsyy belkov suvorotky krovy cheloveka, metod ee opredeleniya"], Vopr. med. chem., 1, pp. 24–26
13. Ketsa O.V., Kutsak N.B., Marchenko M.M. (2020) "Effect of laser radiation on xanthine oxidase activity and superoxide radical generation in rat liver cytosol fraction" ["Vplyv lazernoho oprominennia na ksantynoksydaznu aktyvnist ta heneratsiiu superoksydnoho radykala v tsytzolnii fraktsii pechinky shchuriv-pukhlynonosiiv"], Biol. Tvarin, 22, pp. 54–57.
14. Lvovskaya E.I., Volchegorsky I.A., Shemyakov S.E. (1991) "Spectrophotometric determination of end products of lipid peroxidation" [Spektrofotometoycheskoe opredelenye konechnykh produktov perekysnoho okysleniya lypydov], Vopr. med. chem., 3, pp. 92–93.