

КОРИГУЮЧИЙ ВПЛИВ ПРИРОДНОГО ПОЛІФЕНОЛЬНОГО КОМПЛЕКСУ ВИНОГРАДУ ЗА РАДІОІНДУКОВАНОГО ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ У ТКАНИНІ НИРКИ

У. Старанко, Л. Дацюк, М. Сабадашка, Н. Сибірна

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: starankoulyana@gmail.com*

Вивчено вплив препарату природного поліфенольного комплексу винограду на активність антиоксидантних ферментів і вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів у кірковому шарі нирки за дії **низькоінтенсивного іонізуючого випромінювання**. Виявлено **коригуючі властивості поліфенольних сполук винограду на антиоксидантний статус тканини нирки та їхню здатність запобігати змінам, характерним для оксидативного стресу**.

Ключові слова: **низькоінтенсивне рентгенівське випромінювання, поліфенольні сполуки винограду, оксидативний стрес, нирка.**

Небезпека використання атомної енергії постійно проявляється в аварійних ситуаціях на АЕС, радіонуклідному забрудненні навколишнього середовища, можливому ураженні обслуговуючого персоналу, який працює з різними типами джерел іонізуючих випромінювань.

За дії іонізуючих випромінювань на біологічні системи в широкому діапазоні доз і потужностей основним фактором ураження є посилення генерації активних метаболітів Оксигену, які індують реакції перекисного окиснення ліпідів [1]. Ефективне знешкодження супероксиданіону супероксиддисмутазою, пероксиду водню каталазою та глутатіонпероксидазою запобігають спонтанному утворенню ще одного, найагресивнішого продукту – гідроксильного радикала, який здатен вступати у взаємодію зі значною кількістю сполук і не інактивується ензиматичним шляхом. Радіоіндукована модифікація всіх класів біомолекул послаблює виконання ними біологічних функцій і призводить до розвитку оксидативного стресу та, як наслідок, різних патологічних змін в організмі. Певні особливості тканини нирок, зокрема, надзвичайно висока швидкість метаболічних процесів може визначати характер патологічних змін за дії радіації. Наслідком впливу оксидативного стресу може бути зміна структурно-функціональної організації клубочків через вплив активних метаболітів Оксигену (АМО) на мезангіальні й ендотеліальні клітини. Клубочки значно чутливіші до окиснювального стресу, ніж інші сегменти нефрону [12].

Можливий механізм захисної дії поліфенольних сполук рослинного походження полягає у сповільненні розвитку оксидативного стресу, викликаного дією як екзогенних, так і ендогенних чинників [17, 18]. Поліфеноли, безпосередньо реагуючи з вільними радикалами, перетворюють їх у продукти зі значно нижчою реактивністю. Крім того, вони можуть підвищувати потужність ендогенної системи антиоксидантного захисту і модулювати відновний потенціал клітини. Саме зміни в окисно-відновному статусі клітини, пов'язані з передачею фізіологічних стимулів шляхом регулювання сигнальних шляхів, можуть мати далекосяжні наслідки для клітинного росту і диференціювання [11]. Широко досліджено здатність поліфенолів модулювати активність кіназ [6], протеїназ [13],

виступати як ліганди для транскрипційних факторів [7]. Добре відомо, що поліфенольні сполуки мають протизапальні, антиагрегаційні властивості й можуть посилювати обмін ліпідів [14, 16].

У складі виноградного червоного вина є такі поліфенольні сполуки як антоціаніни, ресвератрол, галова кислота, катехін, мірестин, кверцетин тощо. Усі ці компоненти сприяють підвищенню антиоксидантного потенціалу плазми крові людей [8, 9], тим самим модулюючи систему антиоксидантного захисту.

Одним із чутливих тестів для виявлення змін, які ведуть до виникнення оксидативного стресу, є дослідження антиоксидантного статусу організму. Великий науковий інтерес і актуальність мають способи корекції цих змін природним поліфенольним комплексом винограду за дії низькоінтенсивного рентгенівського випромінювання.

Метою даної роботи було дослідити вплив препарату природного поліфенольного комплексу винограду на активність ензимів антиоксидантного захисту кіркового шару нирки білих щурів за дії одноразового низькоінтенсивного рентгенівського опромінення.

Матеріали та методи

Досліди були проведені на 64 білих безпородних щурах-самцях масою 180–220 г у відповідності до конвенції Ради Європи щодо захисту хребетних тварин, які використовуються у наукових дослідженнях. Тварини впродовж експерименту перебували у стаціонарних умовах віварію і були поділені на чотири групи: перша – контрольні тварини (К); друга – тварини, яким за 10 діб до початку та впродовж 3 діб експерименту давали з питною водою препарат природного поліфенольного комплексу, отриманий перегонкою червоного сухого вина марки Каберне-Совіньйон (наданого Національним інститутом винограду і вина «Магарач», Крим) на роторному випарювачі «Labogota – 4001» з такими параметрами: $t=40^{\circ}\text{C}$, тиск 0,8–0,9 кгс/см², 60 об./хв), з розрахунку щодобової дози 300 мл/70 кг маси (К+П); третя – тварини, яких піддавали одноразовому опроміненню дозою 30 сГр (шкірно-фокусна відстань 95 см, напруга 130 кВ, сила струму 10 мА, фільтри Cu 0,5 мм і Al 1,0 мм, потужність дози – 8,3 мГр·с⁻¹) (О); четверта – тварини, яким вводили з питною водою препарат, як і другій групі, та піддавали радіаційному впливу (О+П). Дозу опромінення контролювали клінічним дозиметром типу 27012 (Otto Shon, Німеччина).

Активність супероксиддисмутази (СОД) визначали за методом С. Чеварі та ін. [5], каталази – М.А. Корольок та ін. [2], глутатіонпероксидази (ГПО) – В.М. Моїн [3], глутатіонредуктази (ГР) – D.M. Goldberg, R.J. Spooner [10]. Вміст ТБК-позитивних продуктів (ТБК-ПП) визначали згідно з методом Р. А. Тимирбулатова, Є. І. Селезневої [4], білок – за загальноприйнятим методом Лоурі.

Результати досліджень обробляли статистично з використанням програми Origin Pro. Відмінність досліджуваних показників вважалася статистично вірогідною при $P<0,05$.

Результати і їхнє обговорення

Як видно з результатів, представлених у таблиці, споживання препарату поліфенольного комплексу винограду зумовлює достовірне зростання на 25% активності каталази й тенденцію до збільшення інших досліджуваних показників порівняно з показниками інтактної групи тварин. Відомо, що поліфенольні сполуки підвищують антиоксидантний потенціал плазми як у людини, так і у гризунів, мають здатність модулювати активність низки ферментів, зокрема антиоксидантних, тим самим запобігаючи розвиткові оксидативних змін у тканинах нирки [15].

Активність антиоксидантних ензимів і вміст ТБК – позитивних продуктів у кірковому шарі нирки за умов низькоінтенсивного рентгенівського опромінення в дозі 30 сГр та на фоні споживання препарату природного поліфенольного комплексу винограду ($M \pm m$, $n=6-8$)

Умови експерименту	СОД, ум. од.	Каталаза, мкмоль/мг білка	ГПО, ммоль/мг білка	ГР, нмоль/мг білка	ТБК, нмоль/г тканини
К	75,12±4,51	211,39±9,51	5,54±0,45	130,88±5,24	171,77±15,97
К+П	84,65±5,08	264,99±21,20*	6,01±0,61	140,39±7,02	181,47±9,61
О	24 год 118,74±11,87*	235,32±23,53	7,59±0,48*	143,24±17,18	153,46±12,89
О	48 год 79,96±5,99	266,83±13,34*	5,87±0,25	165,04±8,25*	151,15±8,16
О	72 год 51,36±5,27*	214,96±15,66	6,32±0,32	116,70±7,65	338,33±13,16*
О+П	24 год 77,61±5,04#	293,12±28,11*	6,12±0,55	151,26±5,30*	142,69±15,69
О+П	48 год 98,78±3,46*	265,29±15,47*	5,43±0,09	153,00±12,11	121,15±7,51*#
О+П	72 год 68,44±4,11*	226,54±20,85	5,36±0,37	121,42±11,40	237,25±15,90*#

Примітка. * – достовірно порівняно з контролем ($P<0,05$), # – достовірно порівняно з опроміненням ($P<0,05$).

У пострадіаційний період у тканині нирки виявлено зростання в 1,6 разу активності СОД на 24 год досліду з поступовим зниженням до 68% на 72 год експерименту (рис. 1) порівняно з контролем. За опромінення на фоні споживання поліфенольного препарату спостерігається підвищення ензиматичної активності в 1,3 разу на 48 год експерименту. Очевидно, що зростання генерації супероксиданіону за радіаційного впливу та посиленна його утилізація супероксиддисмутазою в ранні терміни експерименту нівелювалися споживанням поліфенольного комплексу. Таким чином, споживання препарату сприяло збереженню на рівні контрольних показників активності СОД після дії іонізуючого випромінювання, тоді як за радіаційного впливу відзначено різке зниження активності СОД на 3 добу порівняно з показниками інтактних тварин.

Опромінення тварин одноразовою дозою 30 сГр призводило до підвищення активності каталази на 26% на 48 год експерименту (рис. 2), тоді як за введення поліфенольних сполук спостерігалось зростання активності ензиму як на 24, так і на 48 год експерименту, відповідно, на 39 і 25% порівняно з контролем. Зростання активності каталази можна розглядати як реакцію на інтенсифікацію окисних процесів, тоді як за опромінення на фоні введення з питною водою препарату достовірних змін в активності каталази у нирці по-

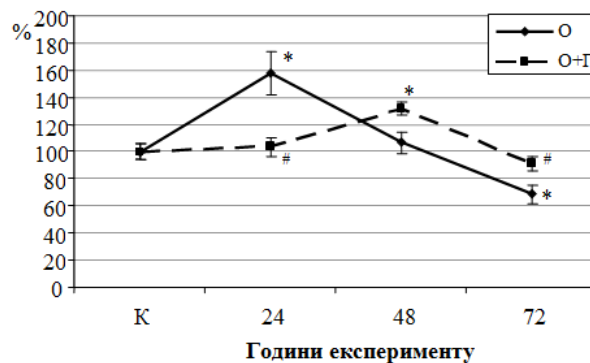


Рис. 1. Відносна активність супероксиддисмутази у кірковому шарі нирки через 24, 48, 72 год після опромінення дозою 30 сГр та на фоні введення природного поліфенольного комплексу винограду.

Примітка. * – достовірно порівняно з контролем ($P<0,05$), # – достовірно порівняно з опроміненням ($P<0,05$).

рівняно з показниками тварин, які споживали препарат, не виявлено, оскільки вихідний показник у цій групі був достовірно вищим ніж у контрольної групи (див. таблицю).

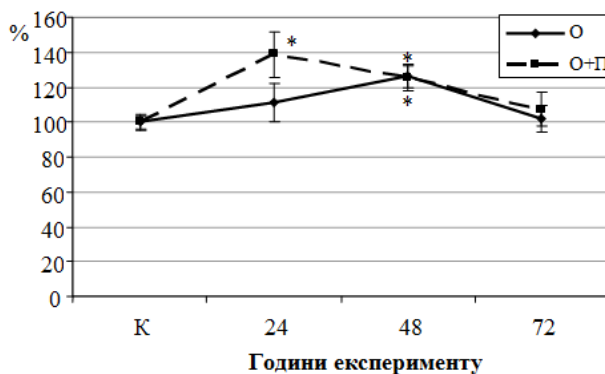


Рис. 2. Відносна активність каталази у кірковому шарі нирки через 24, 48, 72 год після опромінення дозою 30 сГр та на фоні введення природного поліфенольного комплексу винограду.

Примітка. * – достовірно порівняно з контролем ($P < 0,05$).

Виявлено зростання активності ГПО за дії рентгенівського опромінення на 37% на 24 год експерименту порівняно з контрольними показниками (рис. 3), тоді як за радіаційного впливу на фоні споживання піддослідними тваринами препарату природного поліфенольного комплексу винограду активність ензиму перебувала в межах контролю у всі терміни експерименту.

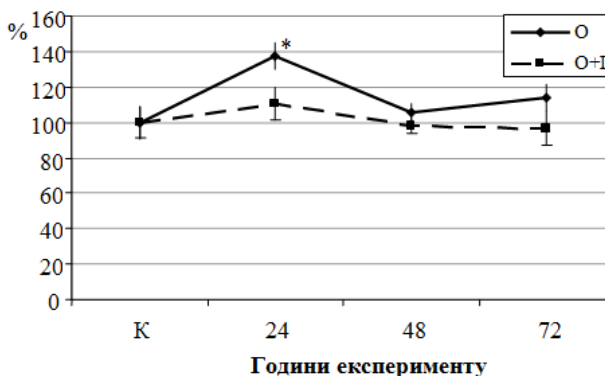


Рис. 3. Відносна активність глутатіонпероксидази у кірковому шарі нирки через 24, 48, 72 год після опромінення дозою 30 сГр та на фоні введення природного поліфенольного комплексу винограду.

Примітка. * – достовірно порівняно з контролем ($P < 0,05$).

Біологічна роль глутатіонредуктази полягає у підтриманні високої внутрішньоклітинної концентрації відновленого глутатіону. Очевидно, що використання відновленого глутатіону за рахунок підвищення активності ГПО, яке спостерігалось на 24 год після радіаційного впливу (рис. 3), призводило до активації ГР на 48 год після дії згаданого чинника (рис. 4) і, як наслідок, до зростання її активності на 26%. Компенсаторно-адаптивне зростання активності ензиму встановлено і за умов введення препарату на фоні опромінення на 24 год досліді порівняно з контролем.

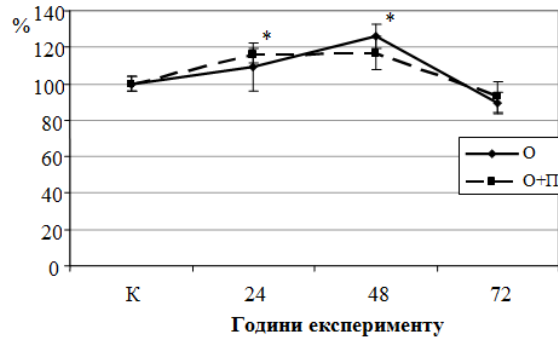


Рис. 4. Відносна активність глутатіонредуктази у кірковому шарі нирки через 24, 48, 72 год після опромінення дозою 30 сГр та на фоні введення природного поліфенольного комплексу винограду.

Примітка. * – достовірно порівняно з контролем ($P < 0,05$).

Інтенсивність окисних процесів оцінювали за вмістом ТБК-позитивних продуктів – кінцевих продуктів перекисного окиснення ліпідів. Можливо, різке зниження на 72 год після опромінення активності СОД (рис. 1) і призводило до значного підвищення рівня ТБК-ПП майже удвічі (рис. 5), спричиненого інтенсифікацією утворення активних форм кисню та продуктів ліпопероксидації у тканині нирки. Введення препарату на фоні опромінення характеризувалося зниженням до 71% вмісту ТБК-позитивних продуктів на 48 год досліді. Однак зниженню вмісту ТБК-позитивних продуктів передувала активація ензимів антиоксидантного захисту (каталази на 24 і 48 год та СОД на 48) у відповідь на дію радіаційного чинника. Хоча у пізні терміни експерименту виявлено інтенсифікацію на 38% на 72 год процесів окисної модифікації ліпідів за споживання препарату, зростання вмісту ТБК-позитивних продуктів – в 1,4 разу нижче порівняно з даними за дії радіаційного чинника, що свідчить про розширення адаптивних можливостей організму при споживанні природного поліфенольного комплексу винограду.

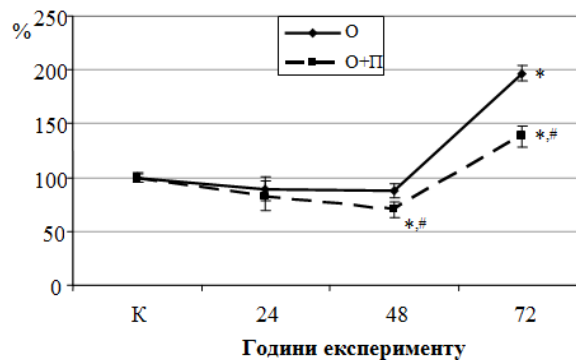


Рис. 5. Відносний вміст ТБК-позитивних продуктів у кірковому шарі нирки через 24, 48, 72 год після опромінення дозою 30 сГр та на фоні введення природного поліфенольного комплексу винограду.

Примітка. * – достовірно порівняно з контролем ($P < 0,05$), # – достовірно порівняно з опроміненням ($P < 0,05$).

Отримані результати свідчать про індукцію в післярадіаційний період ланцюгової реакції вільнорадикальних процесів і порушення прооксидантно-антиоксидантної

рівноваги в клітинах кіркового шару нирки, що призводить до розвитку оксидативного стресу. Адаптивно-компенсаторна реакція на дію іонізуючого випромінювання в дозі 30 сГр характеризується коливним характером змін активностей антиоксидантних ферментів у різні терміни дослідження та різким збільшенням продуктів оксидної модифікації ліпідів на 3 добу досліду, тоді як за дії цього ж чинника на фоні споживання препарату природного поліфенольного комплексу винограду виявлені незначні зміни в активності ферментів та істотно нижчий рівень ТБК-позитивних продуктів. Отримані дані вказують на здатність поліфенольного комплексу винограду підвищувати антиоксидантний статус організму, сприяти найповнішому використанню адаптивних ресурсів за рахунок насичення ним різних тканин і виступати ефективним коригуючим фактором при станах, які ведуть до розвитку глибоких оксидативних змін в організмі.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Барабой В. А., Сутковой Д. А. Окислительно-антиокислительный гомеостаз в норме и патологии. К.: Чернобыльинтерформ, 1997. Ч. 1. 202 с.; Ч. 2. 220 с.
2. Королюк М. А., Ивановна И. Г., Майорова И. Г. и др. Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело. 1988. № 1. С. 16–18.
3. Моин В. М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах // Лабораторное дело. 1986. № 12. С. 124–126.
4. Тимирбулатов Р. А. Метод повышения интенсивности свободнорадикального окисления липидсодержащих компонентов крови и его диагностическое значение // Лабораторное дело. 1981. № 4. С. 209–211.
5. Чевари С., Андял Т. Д., Штиренгер Д. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в преклонном возрасте // Лабораторное дело. 1991. № 10. С. 9–13.
6. Agarwal R. Cell signaling and regulators of cell cycle as molecular targets for prostate cancer prevention by dietary agents // Biochem. Pharmacol. 2000. N 60. P. 1051–1059.
7. Amakura Y., Tsutsumi T., Nakamura M. et al. Activation of the aryl hydrocarbon receptor by some vegetable constituents determined using *in vitro* reporter gene assay // Biol. Pharm. Bull. 2003. N 26. P. 532–539.
8. Durak I., Cimen M. Y., Omeroglu E. et al. **The effect of red wine on blood antioxidant potential** // Curr. Med. Res. Opin. 1999. N 15. P. 208–215.
9. Duthie G. G., Pedersen M. W., Gardner P. T. et al. **The effect of whisky and wine consumption on total phenol content and antioxidant capacity of plasma from healthy volunteers** // Eur. J. Clin. Nutr. 1998. N 52. P. 733–736.
10. Goldberg D. M., Spooner R. J., Bergmeyer H. U. Glutathione reductase // Methods of Enzymatic Analysis, 3rd ed. – Weinheim.: Verlag Chemie. 1983. Vol. III. P. 258–265.
11. Haddad J. J. Antioxidant and prooxidant mechanisms in the regulation of redox(y)-sensitive transcription factors // Cell Signal. 2002. N 14. P. 879–897.
12. Klahr S. Oxygen radicals and renal diseases // Miner. Electrolyte Metab. 1997. N 23. P. 140–143.
13. Moon S. K., Cho G. O., Jung S. Y. et al. Quercetin exerts multiple inhibitory effects on vascular smooth muscle cells: role of ERK1/2, cell-cycle regulation, and matrix metalloproteinase-9 // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2003. N 301. P. 1069–1078.
14. Nijveldt R. J., Van Nood E., VanHoorn D. E. C., Boelens P. G. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications // Am. J. Clin. Nutr. 2001. Vol. 74. N 4. P. 418–425.

15. *Rodrigo R., Bosco C.* Oxidative stress and protective effects of polyphenols: Comparative studies in human and rodent kidney. A review // *Comp. Biochem. and Physiol.* 2006. N 142. P. 317–327.
16. *Rodrigo R., Miranda A. and Vergara L.* Modulation of endogenous antioxidant system by wine polyphenols in human disease // *Clinica Chimica Acta.* 2011. Vol. 412. N 5–6. P. 410–424.
17. *Santosh K. Katiyar, F. Afaq, A. Peres* Green tea polyphenol (-) epigallocatechin-3-gallate treatment of human skin inhibit ultraviolet radiation-induced oxidative stress // *Cancerogenesis.* 2001. Vol. 22. N 2. P. 287–294.
18. *Scalbert A., Williamson G.* Dietary intake and bioavailability of polyphenols // *J. Nutr.* 2000. Vol. 130. N 8. P. 2073–2085.

Стаття: надійшла до редакції 14.09.12

доопрацьована 19.10.12

прийнята до друку 22.10.12

CORRECTIVE EFFECT OF NATURAL GRAPE POLYPHENOL COMPLEX UNDER RADIOINDUCED OXIDATIVE STRESS IN KIDNEY TISSUE

U. Staranko, L. Datsyuk, M. Sabadashka, N. Sybirna

*Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskiy St., Lviv 79005, Ukraine
e-mail:starankoulyana@gmail.com*

It was studied the effect of natural grape polyphenol complex consumption by rats on kidney tissue under the condition of the influence of exposure to low level ionizing radiation. It was established the corrective effects of polyphenol compounds on the kidney tissue.

Keywords: low level ionizing radiation, grape polyphenol compounds, oxidative stress, kidney.

КОРРИГИРУЮЩЕЕ ВЛИЯНИЕ ПРИРОДНОГО ПОЛИФЕНОЛЬНОГО КОМПЛЕКСА ВИНОГРАДА ПРИ РАДИОИНДУЦИРОВАННОМ ОКСИДАТИВНОМ СТРЕССЕ В ТКАНИ ПОЧКИ

У. Старанко, Л. Дацюк, М. Сабадашка, Н. Сибирна

*Львовский национальный университет имени Ивана Франко
ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина
e-mail:starankoulyana@gmail.com*

Изучено влияние препарата природного полифенольного комплекса винограда на активность антиоксидантных ферментов и содержание продуктов перекисного окисления липидов в корковом слое почки при действии низкоинтенсивного ионизирующего излучения. **Выявлены корригирующие свойства полифенольных соединений винограда на антиоксидантный статус ткани почки и их способность предотвращать изменения, характеризующие оксидативный стресс.**

Ключевые слова: низкоинтенсивное рентгеновское излучение, полифенольные соединения винограда, оксидативный стресс, почка.