УДК 575.224.46.773
http://orcid.org/0000-0002-6188-9937
http://orcid.org/0000-0003-3972-3903

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ЛАЗЕРНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ НА РІВЕНЬ ІНТЕНСИВНОСТІ ПРОЦЕСІВ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ В УМОВАХ ОКИСЛЮВАЛЬНОГО СТРЕСУ, ІНДУКОВАНОГО ДІОКСИДИНОМ

Н.Г. Стрижельчик [1], *к.б.н.,* Л.В. Яковлєва [2], *доктор фарм. наук, проф.*

[1]*Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна*
[2]*Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна*
kalashnikovairina97@gmail.com

Проведено дослідження впливу лазерного випромінювання низької потужності на рівень інтенсивності процесів антиоксидантної системи і перекисного окислення ліпідів в сироватці крові щурів в умовах окислювального стресу, індукованого лікарським препаратом діоксидином. Встановлено, що застосування лазерного випромінювання до введення мутагену призводить до інтенсифікації процесів АОС. Відбувається збільшення вмісту відновленого глутатіону та підвищення активності каталази і, як наслідок, пригнічення процесів ПОЛ.

Ключеві слова: лазерне випромінювання, потужність, попередня обробка, антиоксидантна система, перекисне окислення ліпідів, сироватка крові, щури, адаптивна відповідь.

The influence of laser radiation on intensity level of antioxidant protective processes in rat blood serum at oxidative stress conditions induced by dioxidine. Stryzhelchik N. G., Iakovleva L. V. – The influence of low power laser radiation on intensity level of antioxidant system processes and the lipid peroxidation in rat blood serum at oxidative stress conditions induced by dioxidine medicine has been studied. Itravenous administration of mammalian pro-oxidant mutagens is accompanied by a sharp increase in the production of active oxygen metabolites and the initiation of lipid peroxidation processes. There is the increase in the products of LPG (by 63%) and the decrease in the intensity of AOP processes (by 39%). As a result of the use of laser radiation, the intensification of AOS processes is observed, which is marked by the increase in the content of reduced glutathione and the increase in the activity of catalase and, consequently, the decrease in the level of LPO products (2-fold). Consequently, it is possible to predict the possibility of using low-power laser radiation for correction of the damage due to various factors of the oxidation-reducing processes of the organism.

http://doi.org/10.5281/zenodo.1108573

***Key words**:* laser radiation, power, preliminary treatment, antioxidant system, lipid peroxidation, blood serum, rats, adaptive response.

ВСТУП

Відомо, що вплив прооксидантних мутагенів на організм супроводжується активацією ПОЛ, продукти якого пошкоджують клітини [7]. Склад продуктів окиснення ліпідів є достатньо складним. Вони містять гідроперекиси та вторинні сполуки, що утворюються при біотрансформації пероксидів. Серед цих сполук вагоме місце займають альдегіди, особливо 4-гідроксиноненаль та малонового діальдегіду, які, в свою чергу, є маркерами активації окислювальних процесів у клітині [8]. Утворення продуктів пероксидації призводить до цілого комплексу цитотоксичних ефектів, які інактивують низку ферментних систем, пригнічують синтез ДНК, порушують процеси поділу клітин, лізис клітинних структур. Це все створює загрозу життю клітини [6].

Водночас низкою праць різних авторів доведено здатність низькоінтенсивного лазерного випромінювання червоного діапазону впливати на систему антиоксидантного захисту, яка контролює в організмі рівень вільних радикалів та перекисів, які утворюються в процесі біохімічних реакцій за участю активних форм кисню. Антиоксидантна система (АОС) запобігає розвитку некерованих ланцюгових реакцій, зокрема реакцій перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) [5, 1, 2].

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Метою роботи є визначення особливостей ефектів впливу лазерного випромінювання низької потужності на рівень інтенсивності процесів АОЗ і ПОЛ в умовах окислювального стресу, індукованого лікарським препаратом діоксидином.

У цій серії дослідів індуктором окислювального стресу був мутагенний препарат діоксидин. За механізмами пошкоджувальної дії діоксидин є прооксидантним мутагеном [4]. Як модифікатор використовували лазерне випромінювання з довжиною хвилі 655 нм низької потужності.

Дослідження проводили на самцях білих нелінійних щурів віком 8 тижнів, масою 180–200 г у декількох варіантах дослідів. Препарат вводили внутрішньоочеревинно у дозі 200 мг/кг. Використовували транскутанне опромінювання основи хвоста тварин протягом 10 хвилин. Обробку тварин проводили один раз на добу протягом 4 діб.

У першому варіанті експериментів вивчали окремий вплив діоксидину на рівень інтенсивності процесів АОС і ПОЛ в сироватці крові щурів. У другому варіанті дослідів оцінювали спроможність лазерного випромінювання низької потужності впливати на рівень інтенсивності процесів АОЗ і ПОЛ в умовах окислювального стресу, індукованого діоксидином. Дослідження проводили при послідовному впливі двох факторів. Спочатку тварин опромінювали лазерним випромінюванням низької потужності (2 мВт) впродовж 10 хвилин, потім (через 10 хвилин) їм внутрішньоочеревинно вводили діоксидин.

Введення препаратів та опромінювання тварин завершували за 24 години до евтаназії. Тварин знеживлювали методом декапітації під легким ефірним наркозом. Кров стабілізували 4% розчином цитрату натрію, охолоджували та негайно використовували в подальших дослідженнях. Еритроцити виділяли центрифугуванням. Загальновживаними методами в сироватці крові щурів визначали рівень компонентів АОС: відновленого глутатіону (ВГ) і каталази (КАТ). Та рівень продуктів ПОЛ: дієнових кон'югатів (ДК) і малонового діальдегіду (МДА). Статистичний аналіз результатів проводили з використанням критерію Стьюдента t [3].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У цій серії експериментів рівень активності компонентів АОС у сироватці крові щурів у контролі становив: вміст відновленого глутатіону – 20,3±1,3 (мг%); активність каталази – 36,65±1,39 (мкат/л). Продукти ПОЛ у контролі були рівними: дієнові кон'югати – 0,126±0,017 (мкмоль/л), малоновий діальдегід – 0,308±0,03 (мкмоль/л).

У першому варіанті дослідів після введення щурам діоксидину, спостерігалося виснаження пулу відновленого глутатіону на тлі підвищення продуктів ПОЛ. У цьому експерименті вміст відновленого глутатіону в сироватці крові щурів був статистично значуще нижчим, ніж у контролі на 34,2%, що становило 13,35±1,61 (мг%). Активність каталази також виявилася зниженою порівняно з контролем на 39,2% — 22,27±0,97 (мкат/л) (t_1 = 3,37; t_2 = =8,50; p<0,01).

Як наслідок процесів, що відбувалися у першому варіанті дослідів відзначено різке підвищення вмісту продуктів ПОЛ у сироватці крові щурів. Так, вміст МДА був вищім, ніж у контролі на 63,3%, що становило 0,503±0,06 (t = 2,91; p<0,05).

Водночас у другому варіанті експериментів, у якому спочатку здійснювалось опромінювання тварин лазерним випромінюванням низької потужності (2 мВт), потім введення препарату (лазерне випромінювання + діоксидин), навпаки, виявлено статистично значуще збільшення інтенсивності процесів АОЗ у сироватці крові щурів та зниження рівня продуктів ПОЛ порівняно з контролем. Застосування лазерного випромінювання до введення діоксидину приводило до достовірного підвищення вмісту відновленого глутатіону на 66,0%, що становило 33,7±2,7 (мг%) (рис. 1), та збільшення активності каталази (рис. 2) на 61% — 59,03±2,06 (мкат/л) порівняно з контролем (t_1 = 4,48; t_2 = 9,02; p<0,01).

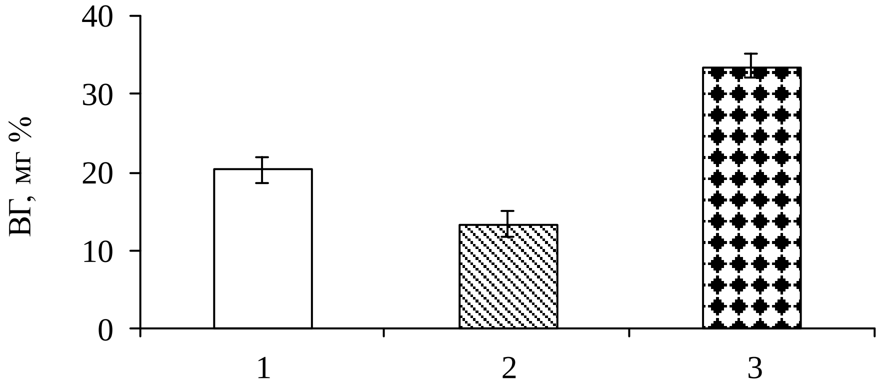

Рис. 1. Вплив лазерного випромінювання низької потужності на вміст відновленого глутатіону в сироватці крові щурів в умовах окислювального стресу, індукованого діоксидином

По осі ординат: ВГ – вміст відновленого глутатіону (мг%).
По осі абсцис: 1 – контроль; 2 – вплив діоксидину; 3 – послідовний вплив двох факторів (лазерне випромінювання + діоксидин)

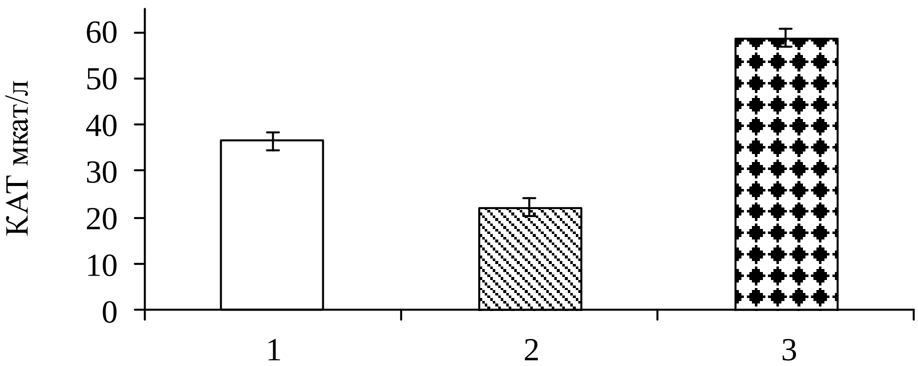

Рис. 2. Вплив лазерного випромінювання низької потужності на активність каталази в сироватці крові щурів в умовах окислювального стресу, індукованого діоксидином

По осі ординат: КАТ – активність каталази (мкат/л).
По осі абсцис: 1 – контроль; 2 – вплив діоксидину; 3 – послідовний вплив двох факторів (лазерне випромінювання + діоксидин)

За результатами порівняння даних, одержаних у першому й другому варіантах дослідів, після окремого впливу діоксидину чи послідовного впливу двох факторів (лазерне випромінювання + діоксидин), виявлено достовірну різницю за рівнем активності компонентів АОС у сироватці крові щурів. Рівень активності компонентів АОС був статистично значуще вищим внаслідок послідовного впливу двох факторів (лазерне випромінювання + діоксидин): активність каталази в 2,6 рази; вміст відновленого глутатіону в 2,5 рази (t_1 = 16,19; t_2 = 3,69; p<0,01).

Слід відзначити, що в цьому варіанті експериментів при використанні лазерного випромінювання в формі попередньої обробки (лазерне випромінювання + діоксидин), здійснювалася чітка тенденція зниження вмісту продуктів ПОЛ у сироватці крові щурів. Вміст МДА був на 15% нижчим, ніж у контролі, що становило 0,262±0,032 (мкмоль/л) (t = 1,12; p>0,05), а також на 47,9% нижчим, ніж при окремому впливі діоксидину (t = 3,54; p<0,01).

ВИСНОВКИ

Таким чином, у ході проведених експериментальних досліджень було доведено, що червоне лазерне випромінювання з довжиною хвилі 655 нм низької потужності при його застосуванні перед введенням мутагену (у формі попередньої обробки) здатне індукувати модифікуючий ефект.

Внутрішньоочервинне введення ссавцям прооксидантних мутагенів супроводжується різким посиленням продукції активних метаболітів кисню і ініціації процесів перекисного окислення ліпідів. Відбувається збільшення продуктів ПОЛ (на 63%) та зниження рівня інтенсивності процесів АОЗ (на 39%). У результаті використання лазерного випромінювання відбувається інтенсифікація процесів АОС, що відзначається збільшенням вмісту відновленого глутатіону та підвищенням активності каталази і, як наслідок, зниженням рівня продуктів ПОЛ (в 2 рази).

Отже, можна передбачити можливість застосування лазерного випромінювання низької потужності для корекції пошкоджень унаслідок дії різноманітних факторів окислювально-відновлювальних процесів організму.

Література

1. Доровских В.А., Бородин Е.А., Бородина Г.П. Влияние низкоэнергетических лазеров на свободнорадикальное окисление липидов в микросомах печени и активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназ каталазы эритроцитов. Лазерная медицина. 1998. Т.2, вып. 2/3. С. 16–20.

2. Гончарова Н.Н., Покровская Л.А., Ушкова И.Л. Роль антиоксидантных механизмов в реакциях организма на действие низкоинтенсивного лазерного излучения. Радиационная биология, радиоэкология. 1994. Т.34, № 3. С. 368–374.

3. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Наука, 1990. 352 с.

4. Середенин С.Б., Дурнев А.Д. Фармакологическая защита генома. М.: Медицина, 1992. 159 с.

5. Якименко И.Л. Роль системы антиоксидантной защиты в реализации биологических эффектов низкоинтенсивного лазерного излучения красного диапазона. Фотобиология и фотомедицина. 2000. Т.III. № 3/4. С. 65–70.

6. Moldovan L., Moldovan N. I. Oxygen free radicals and redox biology of organelles. Histochem. Cell Biol. 2004. Vol. 122, №4. P. 395–412

7. Seed T.M. Radiation protectants: current status and future prospects. Health Phys. 2005. Vol.89, № 5. P. 531–545.

8. Schaur R.J. Basic aspects of the biochemical reactivity of4-hydroxynonenal. Mol. Aspects Med. 2003. Vol.24, №4/5. P. 149–159.

Исследование влияния лазерного излучения на уровень интенсивности процессов антиоксидантной защиты в сыворотке крови крыс в условиях окислительного стресса, индуцированного диоксидином. Стрижельчик Н.Г., Яковлєва Л.В. – Проведено исследование влияния лазерного излучения на уровень интенсивности процессов антиоксидантной защиты в сыворотке крови крыс в условиях окислительного стресса, индуцированного диоксидином. Установлено, что применение лазерного излучения до введения мутагена приводит к интенсификации процессов АОС. Происходит увеличение содержания восстановленного глутатиона и повышение активности каталазы и, как следствие, угнетение процессов ПОЛ.

Ключевые слова: лазерное излучение, мощность, предварительная обработка, антиоксидантная система, перекисное окисление липидов, сыворотка крови, крысы, адаптивный ответ.