

Сочетанное действие лазерного излучения и фенолов некоторых лекарственных растений на антиоксидантную активность и процессы перекисного окисления липидов в печени крыс

Н. М. Орёл, А. М. Лисенкова

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь, e-mail: oryoln47@tut.by

В опытах *in vitro* показана способность фенолов Брусники обыкновенной и Бессмертника песчаного корректировать изменения активности антиоксидантных ферментов и перекисного окисления липидов в печени крыс при сочетанном воздействии с низкоинтенсивным лазерным излучением красного и ИК-диапазона.

Ключевые слова: лазерное излучение; биодоступность; антиоксидантные ферменты; фенолы Брусники обыкновенной и Бессмертника.

Combined action of laser radiation and phenols of some medicinal plants on antioxidant activity and processes of lipid peroxidation in the rat liver

N. M. Oryol, A. M. Lisenkova

Belarusian State University, Minsk, Belarus; e-mail: oryol@bsu.by

The ability of the phenols of *Vaccinium vitis-idaea* and *Helichrysum arenarium* to change the activity of antioxidant enzymes and the peroxidation of lipids in the liver of the rat with counted action of low-intensity laser radiation of red and IR-ranges is shown in vitro experiments

Keywords: laser radiation; bioavailability; antioxidant enzymes; phenols of ordinary Lingonberries and immortelle.

Введение

В последние годы большое внимание уделяется сочетанному использованию фитопрепаратов и лазерного излучения для коррекции различных нарушений в работе организма. При этом проявляется биостимулирующее действие низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) повышается активность ферментов, происходит усиление кислородного обмена, увеличение поглощения кислорода тканями организма, активизируются окислительно-восстановительные процессы. При воздействии НИЛИ на органы и ткани в клетках может ускоряться перенос электронов по дыхательной цепи, вырабатываться активные формы кислорода (АФК), особенно увеличивается образование супероксиданиона. В зависимости от дозировки, времени и интенсивности лазерная терапия может изменять защитные механизмы, противодействующие избыточной продукции АФК [1, 2].

Выраженными антиоксидантными свойствами обладают экстракты, полученные из Брусники обыкновенной и Бессмертника песчаного (цмин). Они способствуют нормализации функционирования антиоксидантных ферментов, стабилизируют интенсивность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) [3, 4]. Это послужило основанием для исследования эффективности применения

фенольной фракции этих растений для коррекции изменений активности супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (Кат), концентрации ТБК-активных продуктов в печени крыс при действии НИЛИ. Работа выполнена *in vitro* на гомогенате печени белых беспородных крыс самцов, массой 150–180 г, находившихся на стандартном рационе вивария. Для лазерного облучения использовали аппарат квантовой терапии «Витязь, АКТ-01». Аппарат обеспечивает непрерывное излучение диода красного спектра с длиной волны $\lambda = 650 \pm 10$ нм и импульсное инфракрасное излучение диода с длиной волны $\lambda = 850 \pm 10$ нм, длительностью 40 мкс, частотой следования 12,5 кГц, пиковой мощностью 10 мВт. Во время работы аппарата одновременно излучают оба лазерных диода суммарной средней мощностью 10 мВт. Облучение 10 % гомогената печени и сыворотки крови (объем 3 мл, толщина слоя 0,8 см) осуществляли в течение 6 мин в автоматическом режиме: 3 мин облучение, 10 с – пауза и еще 3 мин облучение. Площадь облучаемого участка $S \approx 1$ см², расстояние до поверхности объекта 0,5 см. На 6-й минуте воздействия повышение температуры в области воздействия не превышало +0,2 °С. Экстракцию фенольных соединений проводили из навески сухого сырья «Брусника обыкновенная (*Vaccinium vitis-idaea* L.)», производства ООО «Калина-бел», и «Бессмертника песчаного цветки (*Helichrysi arenarii flores*)», производства ООО «НПК Биотест», 70 % раствором этанола при 40 °С – 20 мин. Затем из экстракта этанол выпаривали, а объем доводили H₂O до исходного. В полученном водном экстракте определяли концентрацию легко экстрагируемой фракции фенолов по методу [5]. Для исследования выделенные соединения вносили в 10 % гомогенат печени в концентрации 0,05 мкг/мл. Исследования проводили через 15 мин после воздействий. Биохимические показатели определяли методами [6–8]. Результаты исследований приведены в таблице.

Активность СОД (у.е./мин/мг белка), Кат (мкмоль Н₂O₂/мг белка в мин) и концентрация ТБК-активных продуктов (мкмоль/мг белка·10⁶) в гомогенате печени крыс при действии фенольных фракций Брусники обыкновенной и Бессмертника песчаного и лазерного облучения *in vitro*

Серии опытов	СОД	Кат	ТБК-продукты
	$X \pm S_{\bar{x}}$	$X \pm S_{\bar{x}}$	$X \pm S_{\bar{x}}$
Брусника обыкновенная			
Интактный гомогенат (контроль)	50,4±5,9	306,8±12,8	2,66±0,08
Лазерное облучение	144,5±15,6*	384,2±10,3*	3,90±0,6*
Добавление фенолов	95,2±4,4*	365,5±9,7*	1,68±0,07*
Добавление фенолов и лазерное облучение	119,9±11,6*	348,6±5,9	1,50±0,1*
Бессмертник песчаный			
Интактный гомогенат (контроль)	55,5±4	318,2±10,1	1,42±0,06
Лазерное облучение	147,8±14*	388,7±7*	2,40±0,09*
Добавление фенолов	87,9±7,4*	334,2±11,3*	1,21±0,07
Добавление фенолов и лазерное облучение	115,4±14*	346,6±12,6*	1,50±0,08

*Примечание. Изменения достоверны при $p \leq 0,05$.

Как видно из данных, после действия НИЛИ в применяемом режиме происходит повышение активности СОД в гомогенате печени в среднем на 160–184 %. Скорость разложения пероксида водорода Кат в этом эксперименте возрастает в меньшей степени – на 22–25 %, а концентрация ТБК-активных продуктов повышается на 58–69 %. Установленные изменения укладываются в современные представления о том, что облучение НИЛИ красной и инфракрасной области спектра могут стимулировать запуск антиоксидантной системы организма. Его акцепторами являются различные ферменты антиоксидантной системы, в том числе СОД и Кат. [1, 9–11]. Результаты изучения действия фенольных соединений на показатели антиоксидантной системы в печени крыс свидетельствуют о том, что внесение в гомогенат фракций брусники и бессмертника активирует СОД на 90 % и 58,4 % соответственно. Скорость реакции, катализируемая Кат, возрастает существенно меньше (на 19,3 %) и только при действии фенольных соединений брусники. Исследуемые соединения также влияют на процессы перекисного окисления липидов, о чем говорит изменение интенсивности накопления ТБК-активных продуктов. Фенолы брусники достоверно понижают их концентрацию на 36,8 %, а бессмертника – снижают незначительно. Из литературы известно, что многие фенольные соединения обладают выраженными антиоксидантными свойствами и нейтрализуют последствия оксидативного стресса. Реализация антиоксидантных свойств обусловлена молекулярной структурой, количеством и положением гидроксильных групп, способностью образовывать хиноны, которые имеют в своем строении делокализованный электрон [12]. Полученные нами результаты указывают на то, что эффективность экстракта брусники существенно выше, чем бессмертника и не противоречат данным о том, что фенольные соединения разных растений оказывают неодинаковое действие на метаболические процессы и антиоксидантную систему [13, 14]. При совместном действии фенолов брусники и НИЛИ и бессмертника в сочетании с НИЛИ активность СОД достоверно увеличивается на 137 % и 107 % соответственно по отношению к контролю. В этих же условиях эксперимента активность Кат определяется несколько выше контрольных значений, но эти изменения статистически не подтверждаются. Анализ полученных результатов указывает на то, что, несмотря на однонаправленные сдвиги активности СОД и Кат в гомогенате печени под влиянием как фенольных соединений, так и НИЛИ, суммирования эффектов не наблюдается. Более того, частично уменьшается уровень повышения активности этих ферментов, вызванный облучением НИЛИ. Как видно из данных исследований, при внесении в гомогенат печени экстракта фенолов брусники в сочетании с лазерным облучением концентрация ТБК-активных продуктов понижается на 43,6 %, а при совместном действии фенолов бессмертника и облучения она в пределах контрольных значений. Эти результаты позволяют заключить, что в опытах *in vitro* фенольные соединения исследуемых растений снимают интенсификацию процессов ПОЛ, вызванную лазерным излучением. В то же время влияние фенолов бессмертника можно считать более значимым, так как их действие нормализуют процессы ПОЛ, вызванные облучением НИЛИ, в то время как существенное ингибирование этих процессов, установленное при внесении фракции брусники в сочетании с облучением нельзя однозначно считать положительным эффектом.

Заключение

Таким образом, проведенные исследования показывают эффективность комплексного использования лазерного воздействия в сочетании с биологически активными растительными препаратами. Понимание механизмов фитолазерофореза (ФЛФ) на клеточном и тканевом уровнях позволяет уточнить требования к физическим факторам, обеспечивающим максимально эффективное введение фитопрепаратов. Возможности ФЛФ еще далеко не изучены. Число растительных препаратов, используемых при ФЛФ, постоянно растет. Результаты работ могут быть использованы в клинической практике для отработки технологии регуляции процессов обмена веществ в органах и тканях и совершенствования способов биохимического контроля при различных патологиях.

Библиографические ссылки

1. Улащик В. С. Активные формы кислорода, антиоксиданты и действие лечебных физических факторов // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. 2013. № 1. С. 60–70.
2. Улащик В. С. Трансдермальное введение лекарственных веществ и физические факторы: традиции и инновации. Минск: Беларуская навука, 2017.
3. Антиоксидантная активность экстрактов из листьев голубики и брусники / Е. И. Тарун [и др.] // Экологический вестник. 2016. № 1(35). С. 33–39.
4. The in vitro effect of *Helichrysi flos* on microsomal lipid peroxidation / E. Czinner [et al.] // Journal of Ethnopharmacology. 2001. Vol. 77. P. 31–35.
5. Денисенко Т. А. Особенности взаимодействия 18-молибдодифосфата и реактива Фолина-Чокальтеу с фенольными соединениями / Т. А. Денисенко, А. Б. Вишник, Л. П. Цыганок // Аналитика и контроль. – 2015. – Т. 19, № 3. – С. 242–251.
6. Костюк В. А. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина / В. А. Костюк, А. И. Потапович, Ж. В. Ковалева // Вопросы мед. Химии. 1990. Т. 36, № 2. С. 88–91.
7. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк [и др.] // Лаб. дело. 1988. № 1. С. 16–19.
8. Стальная И. Д., Гаришвили Т. Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии. Под ред. Ореховича В. Н. М.: Медицина. 1977. С. 66–68.
9. Molecular and cellular mechanisms of low-intensity laser radiation / Y. A. Vladimirov [et al.] // Biophysics. 2004. Vol. 49. P. 339–350.
10. Effects of low-power laser irradiation (LPLI) at different wavelengths and doses on oxidative stress and fibrogenesis parameters in an animal model of wound healing / P. C. Silveira [et al.] // Lasers Med Sci. 2011. Vol. 26, № 1. P. 125–131.
11. Effect of Low-Level Laser Irradiation on the Function of Glycated Catalase / H. Mirmiranpour [et al.] // Journal of Lasers in Medical Sciences. 2018. Vol. 9, № 3. P. 212–218.
12. Gonzalez-Burgos E., Gomez-Serranillos Cuadrado M. P. Effect of Phenolic Compounds on Human Health. // Nutrients. 2022. Vol. 13. P. 11.
13. Phenolic compounds and antioxidant activity of lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) leaf, stem and fruit at different harvest periods / O. C. Bujor [et al.] // Food Chemistry. 2018. Vol 252. P. 356–365.
14. Huyut Z. Antioxidant and Antiradical Properties of Selected Flavonoids and Phenolic Compounds / Z. Huyut, S. Beydemir, İ. Gulcin // Biochemistry Research International. 2017. Vol. 2017. P. 1–10.