

## ВПЛИВ ПОЛІФЕНОЛЬНОГО КОМПЛЕКСУ З ВИНОГРАДНОГО ВИНА НА АКТИВНІСТЬ АНТИОКСИДАНТНИХ ЕНЗИМІВ У ЩУРІВ ЗА НИЗЬКИХ ДОЗ РЕНТГЕНІВСЬКОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ

У. В. Дацюк<sup>1</sup>М. В. Сабадашка<sup>1</sup>Л. О. Дацюк<sup>1</sup>А. Р. Гнатуш<sup>1</sup>Є. А. Сластия<sup>2</sup>А. М. Зотов<sup>2</sup>В. Г. Гержилова<sup>2</sup>Н. О. Сибірніа<sup>1</sup><sup>1</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка,  
Україна<sup>2</sup>Національний інститут винограду та вина «Магарач»,  
Ялта, Україна

E-mail: starankoulyana@gmail.com

Отримано 24.12.2013

Показано, що споживання щурами з питною водою природного поліфенольного комплексу з виноградного вина в добовій дозі  $12,5 \pm 1,1$  мг поліфенолів/кг маси впродовж 10 діб до радіаційного впливу призводить до підвищення активності супероксиддисмутази та глутатіонредуктази в лізатах периферичної крові на 24-ту та 48-му год після загального рентгенівського опромінення в дозі 30 сГр. Активність каталази, глутатіонпероксидази та вміст ТБК-позитивних продуктів упродовж 72 год після опромінення зберігається на рівні контролю. Відзначено зниження активності супероксиддисмутази на 24-ту і каталази на 24-ту і 48-му год після дії іонізуючого опромінення та зростання вмісту продуктів ПОЛ у всі досліджувані терміни. У лізатах аорти встановлено зниження активності супероксиддисмутази та глутатіонпероксидази на 48-му год після радіаційного впливу й підвищений вміст ТБК-позитивних продуктів протягом 3 діб. За опромінення і введення поліфенольного комплексу з виноградного вина в лізатах аорти не виявлено змін активності супероксиддисмутази та каталази, тоді як активність глутатіонредуктази та глутатіонпероксидази була підвищеною через 72 год після радіаційного впливу. Споживання поліфенолів виноградного вина достовірно знижувало вміст ТБК-позитивних продуктів у лізатах аорти опромінених щурів порівняно з тваринами, які було опромінено без споживання поліфенолів.

**Ключові слова:** іонізуюче випромінювання низької потужності, антиоксидантні ензими, природний поліфенольний комплекс із виноградного вина.

Особливістю біологічної дії іонізуючого випромінювання є збудження та іонізація атомів і молекул з наступним утворенням високоактивних радикалів, здатних ушкоджувати клітинні структури [1]. В організмі зростає навантаження на захисні механізми, що запобігають безконтрольному лавиноподібному зростанню вмісту продуктів окиснення, у тому числі й на активність антиоксидантних ензимів [2]. Іонізуюче випромінювання в низьких дозах індукує генерацію активних форм кисню (АФО) та продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) [3]. АФО ушкоджують різні біологічні молекули: спричиняють розриви ДНК, утворення зшивок поліпептидних ланцюгів у протеїнах, окиснення SH-груп, активацію

або інактивацію ензимів, полімеризацію вуглеводів. Найбільш негативним процесом для клітин вважають ініціювання ними ланцюгів вільнорадикального пероксидного окиснення ліпідів [3].

Механізми захисту клітини від АФО та ПОЛ реалізуються через ріст активності антиоксидантних ензимів, які знешкоджують супероксиданіон, пероксид водню, ліпопероксидази, та за рахунок неензиматичних сполук, що мають антиоксидантні властивості й детоксикують реактивні похідні молекулярного кисню.

До антиоксидантних ензимів належать супероксиддисмутаза (СОД), каталаза, глутатіонпероксидаза (ГПО) та інші пероксидази, функціонування яких пов'язане між собою, оскільки кінцеві продукти одних

реакцій є субстратами для інших. До неензиматичних антиоксидантів належать вітаміни А, С, Е, Р, К, відновлений глутатіон, естрогени тощо [4, 5].

Аналіз літератури щодо впливу невисоких та малих доз іонізуючого випромінювання на активність антиоксидантних ензимів свідчить про різноспрямований характер змін у різних тканинах та клітинах живих організмів. Показано, що малі дози радіації підвищують активність СОД. Так, одноразове опромінення в дозах 0,25 та 0,5 Гр спричинювало зростання активності ензиму в різних тканинах упродовж тривалого терміну дослідження [6]. Підвищеною була активність в еритроцитах персоналу радіологічних кабінетів [7], тимчасом як за даними інших авторів у еритроцитах людей, які працювали в умовах підвищеної радіації та в гемолізатах крові щурів, яких утримували впродовж місяця в умовах підвищеного радіаційного фону, виявлено зниження активності цього ензиму [8, 9]. Зростання експресії гена СОД у селезінці мишей спостерігали лише на 23-тю добу після дії низької дози (0,5 Гр) [10].

Існують суперечливі дані й щодо змін активності каталази за радіаційного впливу в широкому діапазоні доз. Одноразове опромінення собак дозою 0,5 Гр зумовлювало зниження активності ензиму в крові впродовж 10–12 діб після опромінення з поступовим зростанням активності до рівня контролю [11]. За умов одноразового внутрішньоочеревинного введення  $^{131}\text{I}$  (117 кБк / тварину) відбувалася хвилеподібна зміна активності каталази крові з активацією на 1-шу добу та подальше її зниження [12]. Активація експресії гена каталази і зростання активності ензиму в селезінці за опромінення в дозі 0,5 Гр виявлено на 23-тю добу після радіаційного впливу [10], тоді як в інших тканинах зафіксовано збільшення активності вже через декілька год [13].

Встановлено зниження активності ГПО в ранній період після опромінення з наступним підвищенням до рівня контролю або й вище [14, 15]. За хронічного опромінення малою дозою виявлено зростання активності ензиму в еритроцитах [7], тимчасом як активність ГР знижувалася з перших хвилин після опромінення і залишалася низькою впродовж десятків діб без тенденції до відновлення [15].

Застосування антиоксидантів як протирадіаційних засобів обґрунтовано і підтверджено експериментально. Оскільки продук-

ти ПОЛ є токсичними [16], їм водночас притаманний і радіопротекторний ефект.

Продукти виноробства викликають інтерес як потенційне джерело біологічно активних компонентів з антиоксидантними властивостями, зокрема поліфенолів та мінералів [17].

Рослинні фенольні сполуки з різним розташуванням гідроксильних груп у бензольному кільці — флавоноїди (рутин, кверцетин, катехіни, антоціани), фенольні кислоти (галова, елагова, оксидинамова), похідні пірокатехіну, пірогалолу, гідрохінону — мають низьку токсичність, добре розчинні у воді (окрім рутину і кверцетину), характеризуються високою біодоступністю. Ці сполуки виявляють здатність перехоплювати пероксидні та алкоксильні радикали, ефективно знешкоджують гідроксильний і супероксиданіон-радикали, синглетний кисень, чим блокують ініційовані ними реакції ПОЛ [18, 19].

Показано, що виноград, вино та препарати з виноградною насінням інгібують окиснення ліпопротеїнів низької густини, запобігаючи агрегації тромбоцитів і знижуючи ризик виникнення коронарних хвороб серця та серцево-судинних захворювань [20]. Проціанідини винограду зв'язуються з проліном колагену й еластину в стінках артерій, збільшуючи їхню протидію тисковій крові, відновлюють в ендотелії нормальний синтез NO та посилюють релаксацію судин [21]. Здатність поліфенольних сполук підвищувати стабільність мембран ендотелію судин є одним із провідних механізмів, що зумовлюють їхні антиатерогенні та антиоксидантні властивості [22].

З урахуванням антиоксидантних та імуностимулювальних властивостей природного поліфенольного комплексу винограду [23] цей нетоксичний комплекс речовин є перспективним як засіб профілактики і ранньої терапії радіоіндукованих ушкоджень тканин організму. Перевагою препаратів та біологічно активних добавок, виготовлених із природних антиоксидантів, є можливість їх перорального застосування.

Одним із чутливих тестів для виявлення змін, які ведуть до виникнення компенсаторних реакцій організму, є дослідження активності антиоксидантних ензимів та вмісту продуктів пероксидного окиснення ліпідів. Актуальною є фармакологічна корекція цих змін за дії низьких доз іонізуючого випромінювання.

Метою роботи було дослідити вплив природного поліфенольного комплексу з виноградного вина на активність антиоксидантних ензимів і вміст продуктів ПОЛ у периферичній крові та аорті щурів за дії малих доз рентгенівського опромінення.

### Матеріали і методи

Досліди було проведено на 56 білих безпородних щурах-самках масою 180–220 г відповідно до конвенції Ради Європи щодо захисту хребетних тварин, яких використовують у наукових дослідженнях. Тварини впродовж експерименту перебували у стаціонарних умовах віварію, мали вільний доступ до питної води 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 концентрат поліфенольного комплексу виноградного вина з розрахунку добової дози  $12,5 \pm 1,1$  мг поліфенолів/кг маси тіла (К+П); третя — тварини, яким піддавали одноразовому опроміненню дозою 30 сГр (шкірно-фокусна відстань 95 см, напруга 130 кВ, сила струму 10 мА, фільтри Cu 0,5 мм та Al 1,0 мм, потужність дози —  $8,3$  мГр·с<sup>-1</sup>) (О); четверта — тварини, яким вводили з питною водою концентрат аналогічно другій групі та піддавали радіаційному впливу (О+П). Дозу опромінення контролювали клінічним дозиметром типу 27012 (Otto Shon, Німеччина).

Концентрат поліфенольного комплексу одержували упарюванням червоного сухого вина марки Каберне-Совіньон (наданого Національним інститутом винограду і вина «Магарач», Крим) на роторному випарювачі Laborota-4001 з такими параметрами:  $t = 40$  °С, тиск 0,8–0,9 кгс/см<sup>2</sup>, 60 об/хв). Масова концентрація фенольних сполук у концентраті становила 59180 мг/л, масова концентрація полімерів — 40161 мг/л, проціанідинів — 7370 мг/л, речовин, які реагують з ваніліном, — 4122 мг/л, барвників — 2021 мг/л.

Для дослідження використовували кров із хвостової вени щурів та супернатант гомогенату аорти, одержаний після гомогенізації в гіпотонічному 50 мМ Na-К-фосфатному буфері (5 мг тканини/100 мкл буфера) центрифугуванням упродовж 15 хв за 20 тис. г.

Активність Cu, Zn-супероксиддисмутази (СОД) (1.15.1.1) визначали за методом Чеварі та ін. [24], каталази (1.11.1.6) — Корольок

та ін. [25], глутатіонпероксидази (ГПО) (1.11.1.9) — Моїн [26], глутатіонредуктази (ГР) (1.6.4.2) — Goldberg, Spooner [27]. Вміст ТБК-позитивних продуктів (ТБК-ПП) визначали згідно з [28], концентрацію протеїну — за загальноприйнятим методом [29].

Результати досліджень обробляли статистично з використанням програми Origin Pro. Відмінність досліджуваних показників вважали статистично достовірною за  $P < 0,05$ .

### Результати та обговорення

Споживання з питною водою поліфенольного комплексу з виноградного вина ( $12,5 \pm 1,1$  мг/кг маси) піддослідними тваринами не спричинювало вірогідних змін активності антиоксидантних ензимів та вмісту продуктів ПОЛ у периферичній крові, однак виявлено істотні відмінності в динаміці досліджуваних показників у тварин, які зазнавали радіаційного впливу без та на фоні споживання концентрату.

Наші дані свідчать про зниження активності СОД у периферичній крові на 55% на 24-ту год після опромінення, що, ймовірно, зумовлено надлишковим утворенням пероксиду гідрогену та гідропероксидів жирних кислот [30].

Водночас після опромінення та введення поліфенольного комплексу з виноградного вина відзначено зростання активності на 77% порівняно з контролем, що майже у 4 рази перевищує цей показник в опроміненіх тварин та на 49% більше порівняно з показниками групи тварин, яким вводили концентрат (табл. 1).

Таке зростання активності ензиму є наслідком збільшення кількості субстрату за радіаційного впливу. На 48-му год експерименту в групі опроміненіх тварин активність ензиму зростала до контрольних значень, а в групі тварин, які споживали поліфенольний комплекс, залишалася підвищеною на 65%.

Якщо на 3-тю добу в групі опромінення рівень активності СОД зростав у 2 рази порівняно з контролем, то у тварин, які споживали поліфеноли за опромінення, виявлено нормалізацію досліджуваного показника, що свідчить про виражену антиоксидантну дію поліфенольного комплексу з виноградного вина вже на ранніх стадіях експерименту.

Менш виражені зміни спостерігали під час дослідження активності каталази. Встановлено зниження активності ензиму на

Таблиця 1. Активність антиоксидантних ензимів і вміст ТБК-позитивних продуктів у лізатах крові за умов рентгенівського опромінення в дозі 30 сГр та на фоні введення поліфенольного комплексу з виноградного вина ( $M \pm m$ ,  $n = 6-10$ )

Показники		СОД, U/мг протеїну	Каталаза, мкмоль/хв мг протеїну	ГПО, нмоль/хв мг протеїну	ГР, нмоль/хв мг протеїну	ТБК, нмоль/мл
К		4,54±0,60	137,75±2,10	345,09±2,76	3,44±0,31	200,44±14,40
К+П		5,04±0,84	133,51±10,82	345,46±1,99	3,74±0,42	222,25±18,44
О	24 год	2,04±0,35*	121,73±4,32*	406,71±9,45*	4,03±0,54	266,81±10,77*
	48 год	5,81±0,43	117,08±2,83*	414,10±10,37*	5,66±0,38*	286,32±14,11*
	72 год	9,12±0,19*	126,49±10,34	468,42±14,48*	6,77±0,61*	301,63±23,27*
О+П	24 год	8,05±0,87*#§	140,38±13,68	366,05±6,52§	7,31±0,35*#§	167,55±14,83§
	48 год	7,49±0,79*§	143,26±11,76#	352,69±6,11#	6,82±0,27*#§	228,50±12,14#
	72 год	5,03±0,72#	120,65±3,77	319,88±27,29#	5,77±0,44*§	213,33±14,58#

Примітка. Тут і далі: \* — достовірно порівняно з контролем ( $P < 0,05$ );

# — достовірно порівняно з показниками опромінених тварин ( $P < 0,05$ );

§ — достовірно порівняно з показниками групи тварин, які отримували поліфенольний комплекс з виноградного вина ( $P < 0,05$ ).

12 і 15%, відповідно, на 24-ту та 48-му год після рентгенівського опромінення, тоді як після радіаційного впливу на фоні введення поліфенолів вина активність каталази дещо перевищувала рівень контролю і на 48-му год достовірно зростала порівняно з показниками групи опромінених тварин (табл. 1), що корелює зі зростанням активності СОД у цій групі. Відомо, що надмірна продукція супероксиданіон-радикалу здатна пригнічувати активність каталази [30], що, очевидно, й зумовило зниження активності цього ензиму за дії іонізуючого випромінювання, оскільки активність СОД на 1-шу добу після опромінення була вдвічі нижчою від контрольних значень.

Встановлено стійке зростання активності ГПО у периферичній крові тварин, що зазнавали опромінення в усі пострадіаційні терміни дослідження (табл. 1). На 72-гу год експерименту активність ГПО досягала найбільшого значення, перевищуючи рівень контролю на 36%, тоді як за умов опромінення на фоні введення поліфенольного концентрату активність ензиму залишалась у межах контролю впродовж усіх термінів експерименту. Підвищення активності ГПО зумовлено, очевидно, зростанням вмісту пероксиду гідрогену — продукту супероксид-дисмутази реакції, до якого, як відомо,

спорідненість ензиму є вищою, ніж у каталази [31]. Оскільки за радіаційного впливу встановлено підвищення активності ГПО, закономірним є і зростання активності ГР порівняно з контролем на 65% та 97%, відповідно, на 2-гу та 3-тю добу експерименту (табл. 1). Відомо, що її функцією є підтримання постійного рівня відновленого глутатіону як кофактора ензиматичної активності. Більш виражене зростання активності ГР у групі тварин за опромінення на фоні введення поліфенольного комплексу, порівняно з контрольними та показниками групи тварин, яким вводили поліфеноли виноградного вина, пояснюється, ймовірно, зниженням вмісту відновленого глутатіону. Відомо, що продукти окиснення поліфенолів за надмірної продукції АФО здатні взаємодіяти з тіолами [32]. За посиленого окиснення катехинів, кверцетину та інших флавоноїдів у присутності клітинних пероксидаз і  $H_2O_2$  виявлено кон'югацію окиснених продуктів із глутатіоном з утворенням моно- або диглутатіоніл-похідних та зниження вмісту відновленого глутатіону [33, 34].

На фоні зниження активності СОД та каталази на 24-ту і 48-му год дослідження за впливу опромінення встановлено стійке зростання вмісту ТБК-ПП у всі досліджувані терміни в периферичній крові щурів, що свідчить

про нездатність антиоксидантних ензимів до знешкодження надмірної кількості АФО. Вживання за дії іонізуючого опромінення поліфенольного комплексу з виноградного вина запобігало накопиченню продуктів ПОЛ як завдяки екзогенним антиоксидантам, так і внаслідок підвищення активності антиоксидантних ензимів.

Збільшення рівня АФО відіграє певну роль у виникненні патологічних змін серцево-судинної системи. Наслідком посиленого утворення АФО є надмірне утворення окиснених ліпопротеїдів низької щільності (ЛПНЩ). Гідропероксиди ЛПНЩ є джерелом гідроксидних радикалів, що відкривають пори у внутрішній мембрані мітохондрій та ушкоджують ендотелій судинних стінок [35]. За їх впливу відбувається активація тромбоцитів, лейкоцитів, перетворення моноцитів у макрофаги, порушується функція мембран клітин, зокрема провідної системи серця [36].

Результати досліджень з визначення активності антиоксидантних ензимів та вмісту продуктів ПОЛ в аорті щурів подано в табл. 2.

На відміну від периферичної крові, в аорті групи щурів, що споживали поліфенольний комплекс, виявлено зростання активності ГР порівняно з контролем. Відомо, що посилена акумуляція в ендотелії судин поліфенольних сполук здатна підвищувати активність антиоксидантних ензимів шляхом активації експресії відповідних генів [37].

За рентгенівського опромінення показано зниження активності СОД до 70% від рівня контролю на 48-му год експерименту, тоді як під час опромінення на фоні споживання поліфенольного комплексу активність ензиму залишалась у межах норми впродовж трьох діб. Зміни активності ГПО в аорті після дії радіаційного чинника мали хвилеподібний характер: спостерігалось зростання активності ензиму на 27% і 35% на 24-ту та 72-гу год, відповідно, і зниження на 20% на 48-му год, що вказує на часову зміну співвідношення прооксидантних та антиоксидантних факторів і дію компенсаторних механізмів. Після опромінення за умов введення поліфенолів виноградного вина зростання активності ГПО на 32% відзначено лише на 3-тю добу порівняно з контролем, що, можливо, зумовлено збільшенням вмісту гідропероксидів ліпідів, оскільки вміст ТБК-ПП у цей термін перевищує рівень контролю.

Зростання активності ГР в аорті на 31% після опромінення виявлено лише на 72-гу год дослідження, тоді як за опромінення та введення поліфенольного концентрату активність ензиму перевищувала контрольні показники на 34% і 39%, відповідно, на 24-ту та 72-гу год експерименту.

Підвищений рівень вмісту продуктів ПОЛ виявлено як після радіаційного впливу, так і за впливу опромінення та введення поліфенольного комплексу, однак в останньому разі вміст їх був значно нижчий

Таблиця 2. Активність антиоксидантних ензимів та вміст ТБК-позитивних продуктів у лізатах аорти за умов рентгенівського опромінення в дозі 30 сГр та введення поліфенольного комплексу з виноградного вина ( $M \pm m$ ,  $n = 6-10$ )

Показники		СОД, U/мг протеїну	Каталаза, мкмоль/хв мг протеїну	ГПО, нмоль/хв мг протеїну	ГР, нмоль/хв мг протеїну	ТБК, нмоль/г тканини
К		30,48±3,52	10,05±0,97	44,68±3,66	8,47±0,34	265,64±43,97
К+П		31,54±1,89	12,37±1,19	43,41±4,34	10,02±0,50*	282,02±26,84
О	24 год	31,97±2,57	10,67±0,62	56,53±3,56*	8,07±1,04	404,67±26,86*
	48 год	21,01±2,47*	10,14±0,83	37,96±1,59*	7,66±0,38	371,40±21,93*
	72 год	35,10±3,10	12,41±1,30	60,15±3,07*	11,11±0,71*	353,84±13,85*
О+П	24 год	35,10±2,28	12,48±1,55	48,78±6,17	11,32±0,95**	323,36±16,86**
	48 год	27,45±0,96#	12,17±1,77	39,02±5,00	8,82±0,98	289,23±19,62#
	72 год	31,58±1,89	11,59±1,77	58,82±4,98*§	11,77±1,34*	301,54±2,69**

порівняно з відповідними показниками опромінених тварин.

Встановлено, що еритроцити людини здатні швидко зв'язувати на своїй поверхні велику кількість різноманітних поліфенольних сполук. Це сприяє посиленню загальної антиоксидантної ємності крові, яка формується сумою внутрішньоклітинних антиоксидантів, поліфенолів, зв'язаних із мембранами клітин крові та антиоксидантів плазми [38].

Проведені дослідження виявили відмінності в активності антиоксидантних ензимів периферичної крові та аорти за впливу низьких доз іонізуючого випромінювання. Відсутність змін у вмісті ТБК-позитивних продуктів у крові за радіаційного впливу на фоні введення поліфенолів з виноградного вина свідчить про збалансовану активність

антиоксидантних ензимів під впливом поліфенольного комплексу.

Відомо, що клітини епітелію, зокрема судинного, є високочутливими до дії іонізуючого випромінювання [39]. Саме тому виявлене підвищення в аорті вмісту продуктів ПОЛ та хвилеподібні зміни активності досліджуваних ензимів є свідченням суттєвіших негативних змін у цій тканині за дії іонізуючого випромінювання порівняно з периферичною кров'ю та неспроможність ензимів ефективно відновлювати прооксидантно-антиоксидантну рівновагу. Введення природного поліфенольного комплексу з виноградного вина суттєво поліпшує перебіг відповідних реакцій, оскільки рівень продуктів ПОЛ є нижчим ніж за опромінення, а отже, меншими є й наслідки променевого ушкодження аорти.

## REFERENCES

1. Baraboy V. A. Bioantioxidants. *Kyiv: Kniga plus*. 2006, 462 p. (In Russian).
2. Baraboy V. A., Sutkovoy D. A. Oxydative-antioxidant homeostasis in norm and pathology. *Kyiv.: Chernobylinterinform*. 1997, Part 1, 202 p., Part 2, 220 p. (In Russian).
3. Skulachev V. P. The programmed death phenomena. Mitochondria, cells and organs: role of reactive oxygen species. *Sorosovskiy Obrazovatelnyi Zh.* 2001, 7(6), 4–10. (In Russian).
4. Baraboy V. A. Mechanisms of stress and peroxide oxidization of lipids. *Uspehi sovremennoj biologii*. 1991, 6(3), 923–931. (In Russian).
5. Cadenas E., Packer L. Antioxidants in health and disease. Handbook of antioxidants. L. Packer and J. Fuchs (Ed.). *N. Y.: Marcel Dekker*. 2001, 732 p.
6. Yamaoka K., Edamatsu R., Mori A. Time dependent changes in SOD activities and lipid peroxides levels in organs of rats after low dose X-ray irradiation. *J. Radiat. Res.* 1991, 32(1), 73.
7. Eken A., Aydin A., Erdem O., Akay C. Induced antioxidant activity in hospital staff occupationally exposed to ionizing radiation. *Int. J. Radiat. Biol.* 2012, 88(9), 648–653.
8. Schweitzer K., Benko G., Bohos P. Untersuchungen der Superoxiddismutase (SOD) von humanen Erythrozyten an strahlungsgefährdeten Arbeitsplätzen. *Radiobiol. Radiother.* 1985, 26(5), 629–632.
9. Gacko G. G., Mazhul' L. M., Volyhina V. E. The effect of increased background radiation on lipid peroxidation in the blood of experimental animals. *Abstract of the 1st Scientific and Practical Conference, Minsk, Belarus*, 26–27 December 1989. (In Russian).
10. Kensuke O., Takao K., Hiroshi T. Activation of antioxidative enzymes induced by low-dose-rate whole body irradiation: adaptive response in terms of initial DNA damage. *Radiat. Res.* 2006, 166(3), 477–478.
11. Petrina L. G. Dynamics of blood enzyme activity of animals exposed by low doses X-ray. *Abstracts of the VI Ukrainian Biochemical Congress, Kyiv, Ukraine*, 12–15 May 1992. (In Ukrainian).
12. Grynevych Yu. P., Lypyska A. I., Teleczka S. V., Pospolita V. V. Peroxidation processes in the blood of rats and BMC single input <sup>131</sup>I. *Abstracts of XIX Annual Scientific and Practical Conference of Institute for Nuclear Research of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine*, 24–27 January 2012. (In Ukrainian).
13. Focea R., Nadejde C., Creanga D., Luchian T. Low dose X-ray effects on catalase activity in animal tissue. *J. Physics*. 2012, V. 398, P. 1–6.
14. Gudz T. I., Peshkova E. G., Goncharenko E. N. Inhibition of superoxide dismutase activity of linoleic acid hydroperoxide. The effect of ionizing radiation on glutathione peroxidase activity of rats tissues. *Radiobiologiya*. 1982, 22(4), 515–516. (In Russian).
15. Erden M., Bor N. M. Changes of reduced glutathione, glutathione reductase, and glutathione peroxidase after radiation in Guinea pigs. *Biochem. Med.* 1984, 31(2), 217–227.
16. Burlakova E. B., Goloshchapov A. N., Gorbunova N. B. Features of the biological effects

- of irradiation in low doses. *Radiobiologiya*. 1996, 36(4), 610–623. (In Russian).
17. Shrikhande A. J. Wine by-products with health benefits. *Food Res. Int.* 2000, V. 33, P. 469–474.
  18. Brenna O. V., Pagliarini E. Multivariate analysis of antioxidant power and polyphenolic composition in red wines. *J. Agric. Food. Chem.* 2001, V. 49, P. 4841–4844.
  19. Chun O. K., Kim D. O., Lee C. Y. Superoxide radical scavenging activity of the major polyphenols in fresh plums. *Agric. Food. Chem.* 2003, V. 31, P. 8067–8072.
  20. Dohadwala M. M., Vita J. A. Grapes and cardiovascular disease. *J. Nutr.* 2009, 139(9), 1788–1793.
  21. Shao Z. H., Wojcik K. R., Dossymbekova A., Hsu C., Mehendale S. R., Li C. Q., Qin Y., Sharp W. W., Chang W. T., Hamann K. J., Yuan C. S., Hoek T. L. Grape seed proanthocyanidins protect cardiomyocytes from ischemia and reperfusion injury via Akt-NOS signaling. *J. Cell Biochem.* 2009, 107(4), 697–705.
  22. Silva R. C., Rigaud J., Cheynier V., Chemina A. Procyanidin dimers and trimers from grape seeds. *Phytochemistry*. 1991, V. 30, P. 1259–1264.
  23. Mitjans M., Del Campo J., Abajo C., Martinez V., Selga A., Lozano C., Torres J. L., Vinardell M. P. Immunomodulatory activity of a new family of antioxidants obtained from grape polyphenols. *J. Agric. Food Chem.* 2004, 52(24), 7297–7299.
  24. Chevari S., Andyal T. D., Shtirenger D. Determination of the antioxidant properties of blood and their diagnostic value in old age. *Lab. delo*. 1991, 10, P. 9–13. (In Russian).
  25. Korolyuk M. A., Ivanova I. G., Mayorova I. G. Method for determination of the catalase activity. *Lab. delo*. 1988, V. 1, P. 16–18. (In Russian).
  26. Moin V. M. A simple and specific method for determination of the glutathione peroxidase activity in erythrocytes. *Lab. delo*. 1986, V. 12, P. 124–126. (In Russian).
  27. Goldberg D. M., Spooner R. J., Bergmeyer H. U. Glutathione reductase. *Methods of Enzymatic Analysis*, 3rd ed. Weinheim. Verlag Chemie. 1983, P. 258–265.
  28. Timirbulatov R. A., Selezneva E. I. A method for increasing intensity of free radical oxidation of lipid-containing blood components and its diagnostic value. *Lab. delo*. 1981, V. 4, P. 209–211. (In Russian).
  29. Lowri O. H., Rosenbraugh M. J., Pori A. L. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Biol. Chem.* 1951, 193(1), 265–275.
  30. Dubinina E. E., Shugaley I. V. Oxidative modification of proteins. *Uspehi sovremennoj biologii*. 1993, 113(1), 71–81. (In Russian).
  31. Baud O., Green A. E., Li J., Wang H., Volge J. J., Rosenberg P. A. Glutathione peroxidase-catalase cooperativity is required for resistance to hydrogen peroxide by mature rat oligodendrocytes. *J. Neurosci.* 2004, 24(7), 1531–1540.
  32. Moridani M. Y., Scobie H., Jamshidzadeh A., Salehi P., O'Brien P. J. Caffeic acid, chlorogenic acid, and dihydrocaffeic acid metabolism: glutathione conjugate formation. *Drug Metab. Dispos.* 2001, V. 29, P. 1432–1439.
  33. Awad H. M., Boersma M. G., Vervoort J., Rietjens I. M. Peroxidase-catalyzed formation of quercetin quinone methide-glutathione adducts. *Arch. Biochem. Biophys.* 2000, V. 378, P. 224–233.
  34. Awad H. M., Boersma M. G., Boeren S., Van Bladeren P. J., Vervoort J., Rietjens I. M. Quenching of quercetin quinone/quinone methides by different thiolate scavengers: stability and reversibility of conjugate formation. *Chem. Res. Toxicol.* 2003, V. 16, P. 822–831.
  35. Stocker R., Keaney G. F. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. *Physiol. Rev.* 2004, V. 4, P. 1381–1478.
  36. Lakshmi S. V., Padmaja G., Kuppusamy P., Kutala V. K. Oxidative stress in cardiovascular disease. *Ind. J. Biochem. Biophys.* 2009, 46(6), 421–440.
  37. Fernandez-Pachon M. S., Berna G., Otaolaurruchi E., Troncoso A., Martin F., Garcia-Parrilla C. Changes in antioxidant endogenous enzymes (activity and gene expression levels) after repeated red wine intake. *J. Agric. Food Chem.* 2009, 57(15), 6578–6583.
  38. Koren E., Koren R., Ginsburg I. Polyphenols enhance total oxidant-scavenging capacities of human blood by binding to red blood cells. *Exp. Biol. Med.* 2010, 235(6), 689–699.
  39. Gajdusek C., Onoda K., London S., Jonson M., Monison R., Mayberg M. Early molecular changes in irradiated aortic endothelium. *J. Cell Physiol.* 2001, 188(1), 8–23.

## ВЛИЯНИЕ ПОЛИФЕНОЛЬНОГО КОМПЛЕКСА ИЗ ВИНОГРАДНОГО ВИНА НА АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ЭНЗИМОВ У КРЫС ПРИ НИЗКИХ ДОЗАХ РЕНТГЕНОВСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

У. В. Дацюк<sup>1</sup>, М. В. Сабадашка<sup>1</sup>,  
Л. А. Дацюк<sup>1</sup>, А. Р. Гнатуш<sup>1</sup>,  
Е. А. Слатья<sup>2</sup>, А. Н. Зотов<sup>2</sup>,  
В. Г. Гержикова<sup>2</sup>, Н. А. Сибирная<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Львовский национальный университет  
имени Ивана Франко, Украина

<sup>2</sup>Национальный институт винограда и вина  
«Магарач», Украина

*E-mail:starankoulyana@gmail.com*

Показано, что потребление крысами с питьевой водой природного полифенольного комплекса из виноградного вина в суточной дозе  $2,5 \pm 1,1$  мг полифенолов/кг массы в течение 10 сут до радиационного воздействия приводит к повышению активности супероксиддисмутазы и глутатионредуктазы в лизатах периферической крови на 24-й и 48-й ч после общего рентгеновского облучения в дозе 30 сГр. Активность каталазы, глутатионпероксидазы и содержание ТБК-положительных продуктов в течение 72 ч после облучения сохраняется на уровне контроля. Отмечено снижение активности супероксиддисмутазы на 24-й и каталазы на 24-й и 48-й ч после действия ионизирующего облучения и возрастание содержания продуктов перекисидного окисления липидов во все исследуемые сроки. В лизатах аорты установлено снижение активности супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы на 48-й ч после радиационного воздействия и повышенное содержание ТБК-положительных продуктов в течение 72 ч. При облучении и введении полифенольного комплекса из виноградного вина в лизатах аорты не выявлено изменений активности супероксиддисмутазы и каталазы, в то время как активность глутатионредуктазы и глутатионпероксидазы повышалась через 72 ч после радиационного воздействия. Употребление полифенолов виноградного вина достоверно снижало содержание ТБК-положительных продуктов в лизатах аорты облученных крыс по сравнению с животными, которые подвергались облучению без употребления полифенолов.

**Ключевые слова:** ионизирующее излучение низкой мощности, антиоксидантные ферменты, ТБК-положительные продукты, природный полифенольный комплекс из виноградного вина.

## EFFECT OF POLYPHENOLIC COMPLEX FROM WINE ON RATS ANTIOXIDANT ENZYMES ACTIVITY AT X-RAY IRRADIATION LOW DOSES

U. V. Datsyuk<sup>1</sup>, M. V. Sabadashka<sup>1</sup>,  
L. A. Datsyuk<sup>1</sup>, A. R. Gnatush<sup>1</sup>,  
E. A. Slast'ya<sup>2</sup>, A. N. Zotov<sup>2</sup>,  
V. G. Gerhzykova<sup>2</sup>, N. A. Sybirna<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ivan Franko National University of Lviv,  
Ukraine

<sup>2</sup>National Institute for Vine and Wine  
«Magarach», Ukraine

*E-mail:starankoulyana@gmail.com*

It is shown that the consumption of natural polyphenolic complex from grape wine in drinking water in the daily dose  $2.5 \pm 1.1$  mg polyphenols/kg body mass of rats during the 10 day before exposure to radiation leads to increased of superoxide dismutase and glutathione reductase activities in peripheral blood on 24 and 48 hours after full body X-ray irradiation (30 cGy). The of catalase, glutathione peroxidase activities and the of the reactive thiobarbituric acid substances content in total lysates of peripheral blood within 72 hours after exposure are comparable to those in control rats. Marked decreased of catalase and superoxide dismutase activities at 24, 48 and 24 hours, respectively, was observed after exposure to ionizing radiation and increased content of lipid peroxidation products in all above mentioned time points. The decreased of superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities in lysates of rats aorta at 48 hour and increased content of the reactive thiobarbituric acid substances during 72 hours after radiation exposure were observed. The consumption of polyphenolic complex from wine did not change the superoxide dismutase and catalase activities in lysates of aorta rats treated with ionizing radiation, whereas glutathione reductase and glutathione peroxidase activities was increased during 72 hours after radiation influence. The content of TBA reactive substances was significantly decreased in lysates of aorta rats that were exposed to radiation and polyphenols of grape wine, compared with those of animals that were exposed to radiation alone.

**Key words:** low intensity X-ray, antioxidant enzymes, TBC-positive products, natural polyphenol complex from grape wine.