ISSN 0206-5657. Вісник Львівського університету. Серія біологічна. 2016. Випуск 73. С. 413–420
Visnyk of the Lviv University. Series Biology. 2016. Issue 73. P. 413–420

УДК 663.253+577.346:577.152.141:616.61

НЕФРОПРОТЕКТОРНИЙ ВПЛИВ ПОЛІФЕНОЛЬНОГО КОМПЛЕКСУ З ЧЕРВОНОГО ВИНОГРАДНОГО ВИНА ЗА ДІЇ МАЛИХ ДОЗ ІОНІЗУЮЧОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ

М. Сабадашка, Н. Сибірна

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: m.sabadashka@meta.ua

У результаті проведених досліджень з`ясовано, що після одноразового опромінення щурів у дозі 10 сГр активність NO-синтази та вміст нітритів і нітратів збільшуються упродовж семи діб експерименту, а вміст 3`-нітротирозин-модифікованих протеїнів – тільки на другу та сьому доби, порівняно з контролем. У разі споживання тваринами концентрату природного поліфенольного комплексу з червоного виноградного вина активність NO-синтази та вміст стабільних метаболітів оксиду Нітрогену залишаються у межах норми після впливу малої дози іонізуючого випромінювання. При цьому рівень нітротирозин-модифікованих білків характеризувався тенденцією до зниження на першу, другу та сьому доби після опромінення у разі введення *per os* концентрату поліфенольного комплексу. Одержані результати засвідчують здатність компонентів досліджуваного концентрату позитивно коригувати стан клітин нирки після опромінення малою дозою радіації, тому поліфеноли з виноградного вина можуть стати основою нових радіопротекторних препаратів.

Ключові слова: концентрат поліфенольного комплексу, кірковий шар нирки, оксидативно-нітративний стрес.

Доволі довго вважалося, що нирки є нечутливими до дії випромінювання, хоча вже через кілька років після відкриття В. К. Рентгеном Х-променів було опубліковано перші праці про вплив радіації на нирки. На даний час ні у кого не виникає сумнівів, що нирки можуть бути уражені як після тотального, так і після локального опромінення. Більш того, зі всіх паренхіматозних органів саме цей орган є найбільш чутливим до впливу іонізуючого випромінювання [3], а хронічне ураження нирки (хронічна радіаційна нефропатія) розвивається після одноразового опромінення у дозі 4,5–6 Гр [18].

Ключову роль у розвитку, на перший погляд, не пов’язаних між собою нефропатій, причиною яких є інтенсивний аеробний енергетичний обмін і високий рівень кровопостачання нирки, відіграють активні форми Оксигену (АФО) [27]. У нормі баланс про- і антиоксидантів у клітинах забезпечується ензиматичними та неензиматичними системами, однак вони є перевантаженими за умов оксидативного стресу. Як наслідок, накопичуються надмірні кількості АФО, розвиваються метаболічні розлади та ще більше знижується антиоксидантна ємність клітини. Поряд із цим, виникають порушення функціонування системи L-аргінін / оксид Нітрогену, внаслідок яких NO втрачає здатність виступати месенджером і регулювати велику кількість внутрішньоклітинних реакцій, а, навпаки, опосередковує процеси ураження нирки. Стан глибокого оксидативно-нітративного стресу показано у клітинах нирки після впливу деяких видів випромінювання [25, 26].

Оскільки давно відомо, що АФО, NO та його метаболіти (активні форми Нітрогену – АФН) швидко реагують із ліпідами, протеїнами, нуклеїновими кислотами і таким чином спричиняють внутрішньоклітинні структурні та функціональні порушення [9], на сьогодні розроблено велику кількість засобів, здатних пригнічувати ефекти цих радикалів.

© Сабадашка М., Сибірна Н., 2016

Пацієнтам, в яких у клітинах нирки розвивається оксидативно-нітративний стрес, у раціон вводять добавки з високим вмістом екзогенних антиоксидантів. Найбільш популярними доволі довгий період часу були препарати на основі вітамінів групи Е, які сповільнюють прогресування порушень нирок, пригнічують нефротоксичність [10] і покращують перебіг процесів гломерулосклерозу в залишках нирок після нефректомії [11]. Показано, що часник, багатий на поліфеноли, пригнічує гентаміцин-індуковану нефротоксичність [23]. Трохи пізніше вчені висунули гіпотезу про перевагу невеликих кількостей вина над іншими продуктами, багатими на антиоксиданти, у корекції хронічної ниркової недостатності [1], адже поліфенольні сполуки вина нейтралізують АФО й АФН, хелатують іони металів і модулюють активність ензимів [4, 24, 27, 31]. Окрім того, ресвератрол, кверцитин, стильбени та проантоціанідини з винограду й виноградного вина пригнічують протеїнурію, гіпоальбумінемію і гіперліпідемію [20, 27, 30], тобто системні порушення, які виявляють при хронічних захворюваннях нирок.

Однак недостатня кількість відомостей про вплив малих доз рентгенівського випромінювання на нирки детермінує необхідність вивчення біохімічних показників, що характеризують оксидативно-нітративний стрес, індукований цим чинником. Поряд із цим постає проблема отримання поліфенольного комплексу з червоного виноградного вина та дослідження його впливу на систему антиоксидантного захисту та L-аргінін / NO за умов опромінення, що було метою роботи.

Матеріали та методи

У експериментах використано безпородних статевозрілих білих щурів, які були поділені на чотири групи: 1 − контрольні тварини (далі – К); 2 − тварини, яким вводили з питною водою концентрат ПК (12,5 мг поліфенольних сполук / 1 кг маси тіла / добу) за 10 діб до та впродовж 7 діб експерименту (далі – К+ПК); 3 − тварини, яких піддавали одноразовому тотальному опроміненню у дозі 10 сГр (далі – О); 4 − опромінені тварини, яким вводили концентрат ПК (далі – О+ПК).

Усі процедури з тваринами проводили згідно із "Загальними принципами роботи на тваринах", затвердженими І Національним конгресом з біоетики (Київ, Україна, 2001) та з положеннями "Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях" (Страсбург, Франція, 1986).

Концентрат природного поліфенольного комплексу з червоного виноградного вина (концентрат ПК) отримували згідно зі схемою, описаною у [2]. Основними компонентами одержаного концентрату були кафтарова, каутарова і галова кислоти, кверцитин та катехіни. Загальний вміст поліфенолів був стандартизований у вині й отриманому концентраті за галовою кислотою з використанням реактиву Фоліна-Чокальтеу [29].

На 24, 48, 72 та 168-му години після дії радіації щурів ефірним наркозом вводили в хірургічну стадію, декапітували та відбирали зразки коркового шару нирки, у яких визначали активність NO-синтази (NOS) модифікованим методом, описаним у [6]. Вміст нітрит-аніону (NO_2^-) та нітрат-аніону (NO_3^-) визначали з використанням реактиву Гріса [16].

Окрім того, було проведено електрофоретичне розділення білків у поліакриламідному гелі з подальшим їх перенесенням на нітроцелюлозну мембрану [33]. Згідно з поставленою метою мембрану інкубували з первинними антитілами до 3-нітротирозину (Sigma, США) та з вторинними антимишачими антитілами (Millipore, США), кон'югованими з пероксидазою хрону. Імунореактивні смуги на блотах виявляли за допомогою набору реактивів для посиленої хемілюмінесценції (Millipore, США) [7]. Денситометричний аналіз результатів вестерн-блотингу здійснювали з використанням програми GelPro 3.1. Нітро-

целюлозну мембрану інкубували також з антитілами до β-актину (Sigma, США) для контролю ідентичності вмісту протеїнів у всіх пробах.

Концентрацію білка визначали згідно за методом Лоурі [14].

Результати досліджень обробляли статистично з допомогою програми Microsoft Excel з обчисленням середнього арифметичного значення – M, стандартної похибки середнього арифметичного – m та t-критерію Стьюдента. Відмінність досліджуваних показників вважалася статистично вірогідною при p≥0,95.

Результати і їхнє обговорення

Функцією нирок є забезпечення підтримки кислотно-лужного балансу, регуляція електролітного та водного балансу організму, регуляція осмотичного стану крові і тканин, збереження гомеостазу шляхом продукції та вивільнення низки цитокінів, хемокінів, гемопоетичних факторів [1, 12]. Порушення рівноваги біохімічних реакцій у клітинах цього органа призводить до погіршення стану організму, зокрема у ранній пострадіаційний період [21]. Причиною виникнення та поглиблення радіоіндукованих змін, зокрема у тканинах нирки, є здатність АФО, утворених після впливу іонізуючого випромінювання, через внутрішньоклітинні шляхи трансдукції сигналів викликати експресію гена iNOS, унаслідок чого інтенсифікується синтез NO [22]. Тому існує гіпотеза, що АФО виступають ініціаторами, а активні форми Нітрогену та NO – ефекторами активації цитозольних шляхів передачі сигналу у відповідь на дію іонізуючого випромінювання [15]. Оскільки NO бере участь у регуляції кровопостачання нирки та гломерулярної фільтрації [13], доцільним є дослідження стану системи L-аргінін / NO у нирках опромінених тварин.

Встановлено, що за дії іонізуючого випромінювання активність NOS у корковому шарі нирки щурів була вищою від контролю у всі терміни експерименту: в 1,6 разу на 24-ту годину, в 1,3 разу на 48-му годину, в 1,8 разу на 72-гу годину та в 1,5 разу на 168-му годину (рис. 1). У разі перорального введення тваринам концентрату ПК цей показник достовірно знижувався тільки на 72-гу годину в 1,3 разу порівняно з опроміненням (рис. 1).

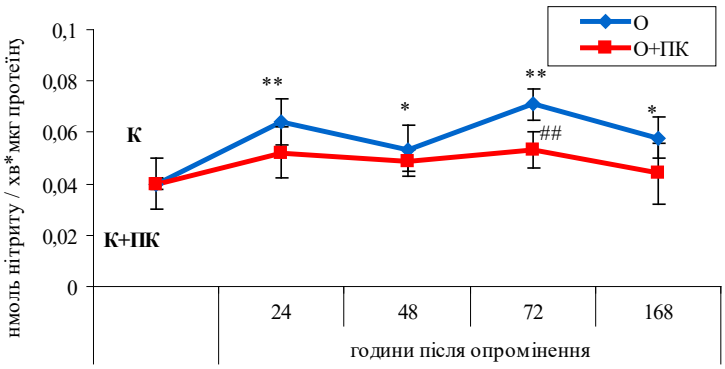

Рис. 1. Активність NO-синтази у корковому шарі нирки щурів за дії іонізуючого випромінювання у дозі 10 сГр та за введення концентрату природного поліфенольного комплексу з виноградного вина (M ± m, n = 6–10): *, ** – відмінність між контролем (К) та опроміненням (О) вірогідна (p≥0,95 та p≥0,99); ## – відмінність між показниками групи опромінених тварин (О) і групи, якій вводили концентрат ПК на фоні опромінення (О+ПК), вірогідна (p≥0,95)

Із літератури відомо, що поліфенольні сполуки по-різному впливають на окремі ізоформи NO-синтази. Зокрема, доведено, що ці сполуки інгібують nNOS та iNOS, а активність eNOS − підвищують. У імунокомпетентних клітинах крові, астроцитах,

купферівських та деяких інших клітинах виявлено пригнічення трансляції мРНК iNOS, синтез якої індукований ліпополісахаридами, інтерлейкіном-1 або фактором некрозу пухлин α (TNF-α) за дії поліфенолів [31]. До прикладу, катехіни, кверцитин, ресвератрол іантоціаніни впливають на експресію генів, запобігаючи стрес-індукованій активації транскрипційного фактора NFkB [24, 31, 5, 19]. Таким чином, поліфеноли виноградного вина пригнічують продукцію оксиду Нітрогену, змінюючи баланс між iNOS та eNOS, що може мати місце й у разі інгібування поліфенольними сполуками активності NOS, яка є підвищеною після дії малих доз радіації у тканинах нирки щурів.

Оксид Нітрогену, який продукується в NO-синтазній реакції, далі метаболізує до нітритів і нітратів, визначення кількості яких дає змогу судити про концентрацію NO. У разі опромінення щурів у дозі 10 сГр сумарний вміст цих метаболітів NO зростає у всі терміни експерименту, що узгоджується зі змінами активності NO-синтази. При цьому вміст NO_3^- зростав упродовж всього експерименту (на 116 % на 24-ту годину, на 66 % на 48-му годину, на 93 % на 72-гу годину та на 156 % на 168 годину), а вміст NO_2^- на 24-ту годину характеризувався тенденцією до зниження, в подальшому зростав і був вищим від контролю на 20 % на 72-гу годину та на 26 % на 168-му годину (див. таблицю).

За умов сукупного впливу концентрату ПК та іонізуючого випромінювання сумарний вміст стабільних метаболітів оксиду Нітрогену знижувався на 23 % на 24-ту годину, на 84 % на 72-гу годину та на 26 % на 168-му годину порівняно з показниками групи тварин, які були опромінені (див. таблицю), однак залишався вищим від контрольних значень.

Поліфенольні сполуки з виноградного вина з високою швидкістю й ефективністю вловлюють і знешкоджують оксид Нітрогену чи його метаболіти [5]. Ефективними скевенджерами вільних радикалів є галова, кафтарова, каутарова кислоти, кверцитин і (-)-епікатехіни й (+)-катехіни [24, 31], наявні у досліджуваному концентраті. Антиоксидантні властивості цих поліфенолів обумовлені наявністю у їхній структурі вільних ОН-груп та кількості гетероциклів, що визначає здатність нейтралізувати електрон вільних радикалів і формувати відносно стабільні феноксильні радикали [4].

За надсинтезу оксиду Нітрогену та супероксид-аніона в клітинах значно підвищується рівень пероксинітриту ($ONOO^-$), що призводить до порушення клітинної сигналізації й ураження клітин та органів. $ONOO^-$ є потужною прозапальною та цитотоксичною молекулою, яка інгібує антиоксиданти й іонні канали, а також залучена у процеси пероксидного окиснення ліпідів, окиснення тіолів і нітрування амінокислотних залишків у молекулах білків. Модифікація тирозину з утворенням нітротирозину є однією з найбільш знакових подій за оксидативно-нітративного стресу, адже такі «мітки» є сигналом до деградації протеїнів у протеасомах [1, 17], що може стати причиною незворотних ушкоджень внутрішньоклітинних структур і клітинної смерті [21, 32, 34].

Нами продемонстровано зростання вмісту 3’-нітротирозин-модифікованих протеїнів після дії іонізуючого випромінювання у дозі 10 сГр на 28 % на 48-му годину та на 16 % на 168-му годину (рис. 2, *В*, *Г*, *Є*, *Ж*). Накопичення 3’-нітротирозин-модифікованих протеїнів у нирках свідчить про розвиток радіоіндукованого нітративного стресу.

Введення тваринам поліфенолів з виноградного вина не спричиняє достовірних змін у інтенсивності посттрансляційної модифікації протеїнів пероксинітритом за дії іонізуючого випромінювання у дозі 10 сГр, хоча після опромінення у дозі 30 сГр такий ефект було доведено [28]. У разі сукупної дії концентрату ПК та рентгенівського випромінювання у дозі 10 сГр показано тенденцію до зниження рівня нітротирозин-модифікованих протеїнів на 24, 48 та 168-му години експерименту (рис. 2, *А–Г, Є, Ж*).

Вміст метаболітів оксиду Нітрогену в корковому шарі нирки щурів за дії іонізуючого випромінювання у дозі 10 сГр та введення концентрату природного поліфенольного комплексу з виноградного вина (M ± m, n = 6–10)

Варіант досліду		Сумарний вміст метаболітів оксиду Нітрогену (нмоль / мкг протеїну)	Нітрит-аніон (нмоль / мкг протеїну)	Нітрат-аніон (нмоль / мкг протеїну)
К		16,66±1,19	0,7±0,02	15,96±0,99
К+ПК		16,92±1,08	0,64±0,04	16,28±1,26
О	24 год	36,73±2,78**	0,64±0,06*	36,09±2,94*
	48 год	27,28±2,64*	0,72±0,01*	26,56±0,98*
	72 год	31,64±0,85**	0,84±0,06*	30,80±1,95**
	168 год	40,79±1,73**	0,88±0,10**	39,91±1,37**
О + ПК	24 год	28,25±1,92$^{\#,+}$	0,65±0,01	27,60±1,68$^{\#,+}$
	48 год	25,62±1,83	0,69±0,03	24,93±2,05
	72 год	26,62±1,53$^{\#,+}$	0,98±0,01$^{\#\#,+}$	25,64±2,53^{+}
	168 год	30,18±1,45$^{\#\#}$	0,96±0,02^{+}	29,22±1,83$^{\#\#,+}$

Примітка: *, ** – відмінність між контролем (К) та опроміненням (О) вірогідна (p≥0,95 та p≥0,99); #, ## – відмінність між показниками групи опромінених тварин (О) та групи, якій вводили концентрат ПК на фоні опромінення (О+ПК) вірогідна (p≥0,95 та p≥0,99); + – відмінність між контролем за введення концентрату ПК (К+ПК) та опроміненням за введення концентрату ПК (О+ПК) вірогідна (p≥0,95).

Нефропротекторний ефект концентрату ПК може бути пов'язаний зі здатністю поліфенольних сполук скавенджерувати пероксинітрит, який є потужним нітруючим агентом. Але поліфеноли виноградного вина можуть також пригнічувати утворення цієї сполуки завдяки, по-перше, інгібуванню синтезу NO у NO-синтазній реакції та, по-друге, запобігаючи утворенню надмірної кількості супероксид-аніон радикалу. Останній ефект може реалізуватися за двома механізмами. Поліфенольні сполуки можуть зменшувати активність цитохрому p450 у нирках та печінці щурів і таким чином пригнічувати утворення супероксидного радикалу в дихальному ланцюзі мітохондрій [27].

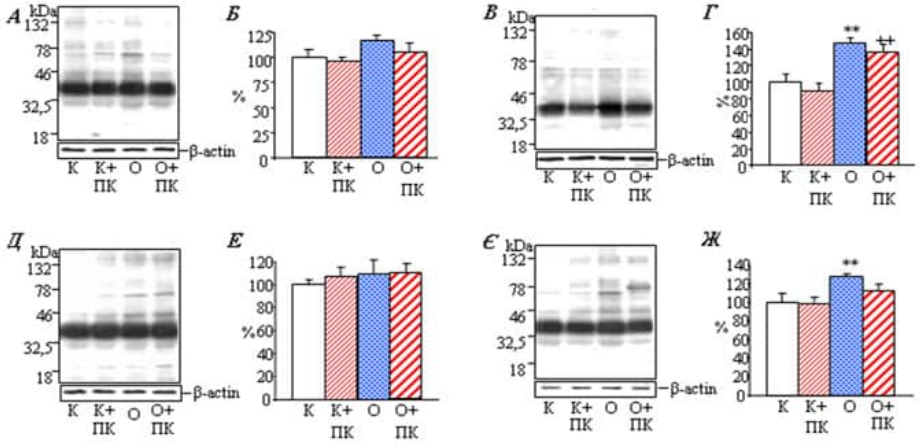

Рис. 2. Репрезентативний вестерн-блот аналіз 3'-нітротирозин-модифікованих протеїнів лізатів коркового шару нирки щурів на 24 (*А*), 48 (*В*), 72 (*Д*), 168 (*Є*) години після опромінення у дозі 10 сГр та дії концентрату природного поліфенольного комплексу з виноградного вина. *Б*, *Г*, *Е*, *Ж* – вміст нітротирозинмодифікованих протеїнів у відсотках (контроль прийнято за 100%) (M± m, n = 5–8): ** – відмінність між контролем (К) і опроміненням (О) вірогідна (p≥0,99); ++ – відмінність між контролем за введення концентрату ПК (К+ПК) і опроміненням за введення концентрату ПК (О+ПК) вірогідна (p≥0,99)

Утворення NO ендотеліальною ізоформою NOS відбувається лише за умов димеризації ензиму, яку стимулює кофактор тетрагідробіоптерин (BH_4). За наявності високих концентрацій активних форм Оксигену BH_4 окиснюється, що призводить до мономеризації eNOS та подальшого зростання утворення супероксид-аніона кожним окремим протомером. Завдяки антиоксидантній здатності поліфеноли запобігають продукуванню супероксидного радикалу eNOS, підвищуючи вміст BH_4. Поряд з цим NO, який утворюється за наявності поліфенолів, є високо біодоступним, тому не перетворюється на АФН, а залучається у реалізацію фізіологічних функцій [27].

У разі опромінення щурів у дозі 10 сГр встановлено накопичення у тканинах нирки NO, його метаболітів, зокрема пероксинітриту. Ця сполука є потужним цитотоксином, спричиняє ураження клітин і тканин, що є ланкою патогенезу багатьох захворювань, пов'язаних з розвитком запалення та злоякісною трансформацією клітин [5]. Тому отримання нових препаратів, які сприяють зменшенню рівня АФН, є важливою проблемою. Раніше було підтверджено протизапальну та протимутагенну здатність поліфенолів із виноградного вина [5, 8]. Результати наших досліджень підтверджують здатність цих сполук коригувати кількість оксиду Нітрогену у тканинах нирки та вміст у них 3'-нітротирозинмодифікованих протеїнів після опромінення тварин у малих дозах, що може бути однією з ланок протизапальної та радіопротекторної дії біологічно активних речовин виноградного вина.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Гоженко А. И., Кузьменко И. А., Савицкий И. В.* Почки и радиация: монография. Одесса: ОГМУ, 2006. 125 с.
2. *Сабадашка М., Гнатуш А., Сибірна Н.* Якісний та кількісний склад поліфенолів у концентраті червоного виноградного вина // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2014. Вип. 65. С. 77–85.
3. *Чиж А.С.* Нефрологія в терапевтической практике: 2-е изд., перед. и доп. Минск: Вышэйшая школа, 1994. 479 с.
4. *Brewer M.S.* Natural Antioxidants: Sources, Compounds, Mechanisms of Action, and Potential Applications // Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2011. Vol. 10. P. 221–247.
5. *Chan M. M-Y., Mattiacci J. A., Hwang H. S.* et al. Synergy between Ethanol and Grape Polyphenols, Quercetin, and Resveratrol, in the Inhibition of the Inducible Nitric Oxide Synthase Pathway // Biochemical Pharmacology. 2000. Vol. 60. P. 1539–1548.
6. *Dawson J. A., Knowles R. G.* Microtiter–Plate Assay of Human NOS Isoforms // Methods in Molecular biology. 1998. Vol. 100. P. 237–242.
7. *Drel V. R., Sybirna N.* Protective effects of polyphenolics in red wine on diabetes associated oxidative/nitrative stress in streptozotocin-diabetic rats // Cell. Biol. Int. 2010. Vol. 34. P. 1147–1153.
8. *Filip G. A., Postescu I. D., Bolfa P. et al.* Inhibition of UVB-induced skin phototoxicity by a grape seed extract as modulator of nitrosative stress, ERK/NF-kB signaling pathway and apoptosis, in SKH-1 mice // Food and Chemical Toxicology. 2013. Vol. 57. P. 296–306.
9. *Freeman B.A., Crapo J. D.* Biology of disease: free radicals and tissue injury // Lab. Invest. 1982. Vol. 47. P. 412–426.
10. *Fryer M.J.* Vitamin E may slow kidney failure owing to oxidative stress // Redox Rep. 1997. Vol. 3. P. 259–261.
11. *Hahn S., Krieg R. J. Jr., Hisano S.* et al. Vitamin E suppresses oxidative stress and glomerulosclerosis in rat remnant kidney // Pediatr. Nephrol. 1999. Vol. 13. P. 195–198.
12. *Jelkmann W.* Regulation of erythropoietin production // J. Physiol. 2011. Vol. 589. P. 1251–1258.
13. *Lessio C., De Assuncao Silva F., Gloria M. A.* et al. Cyclosporine A and NAC on the inducible nitric oxide synthase expression and nitric oxide synthesis in rat renal artery cultured cells // Kidney International. 2005. Vol. 68. P. 2508–2516.

14. *Lowri O.H., Rosenbraugh M. J., Pori A. L*. Protein measurement with the Folin phenol reagent // Biol. Chem. 1951. Vol. 193. № 1. P. 265–275.
15. *Mikkelsen R.B., Wardman P.* Biological chemistry of reactive oxygen and nitrogen and radiation-induced signal transduction mechanisms // Oncogene. 2003. Vol. 22. № 37. P. 5734–5754.
16. *Miranda K.M., Espey M. G., Wink D. Rapid A. A.* Simple Spectrophotometric Method for Simultaneous Detection of Nitrate and Nitrite // Nitric Oxide. 2001. Vol. 5. № 1. P. 62–71.
17. *Monteiro H. P., Arai R. J., Travassos L. R.* Protein Tyrosine Phosphorylation and Protein Tyrosine Nitration in Redox Signaling // Antioxidants and Redox Signaling. 2008. Vol. 10. № 5. P. 843–889.
18. *Moulder J. M., Cohen E. P.* Radiation-induced multi-organ involvement and failure: the contribution of radiation effects on the renal system // Br. J. Radiol. 2005. Vol. 27. P. 82–88.
19. *Nassra M., Krisa S., Papastamoulis Y.* et al. Inhibitory Activity of Plant Stilbenoids against Nitric Oxide Production by Lipopolysaccharide-Activated Microglia // Planta Med. 2013. Vol. 79. P. 966–970.
20. *Nihei T., Miura Y., Yagasaki K*. Inhibitory effect of resveratrol on proteinuria, hyopalbuminemia and hyperlipidemia in nephritic rats // Life Sci. 2001. Vol. 68. P. 2845–2852.
21. *Pacher P., Beckman J.S., Liaudet L*. Nitric Oxide and Peroxynitrite in Health and Disease // Physiol. Rev. 2007. Vol. 87. № 1. P. 315–424.
22. *Pautz A., Art J., Hahn S.* et al. Regulation of the expression of inducible nitric oxide synthase // Nitric Oxide. 2010. Vol. 23. № 2. P. 75–93.
23. *Pedraza-Chaverri J., Maldonado P. D., Medina-Campos O.* et al. Garlic ameliorates gentamicin nephrotoxicity: relation to antioxidant enzymes // Free Radic. Biol. Med. 2000. Vol. 29. P. 602–611.
24. Phytochemicals mechanisms of action / Ed. by *Meskin M. S., Bidlack W. R., Davies A. J. et al.* Florida: CRC Press LLC, 2004. 206 p.
25. *Pisani A., Riccio E., Andreucci M.* et al. Role of Reactive Oxygen Species in Pathogenesis of Radiocontrast-Induced Nephropathy BioMed Research International. 2013. Vol. 2013. Article ID 868321. 6 p.
26. *Ragy M. M*. Effect of exposure and withdrawal of 900-MHz-electromagnetic waves on brain, kidney and liver oxidative stress and some biochemical parameters in male rats // Electromagn. Biol. Med. 2014. AM. P. 8.
27. *Rodrigo R., Bosco C.* Oxidative stress and protective effects of polyphenols: Comparative studies in human and rodent kidney. A review // Comparative Biochemistry and Physiology. 2006. Part C. № 142. P. 317–327.
28. *Sabadashka M., Sybirna N*. Reduction of Radiation-Induced Nitrative Stress in Leucocytes and Kidney Cells of Rats Upon Administration of Polyphenolic Complex Concentrates from Red Wine // Cytology and Genetics. 2016. Vol. 50. № 3. P. 187–195.
29. *Singleton V., Orthofer R., Lamuela-Raventós R. M.* Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent // Methods in Enzymology. 1999. Vol. 299. P. 152–178.
30. *Stefanovic V., Savic V., Vlahovic P.* et al. Reversal of experimental myoglobinuric acute renal failure with bioflavonoids from seeds of grape // Ren. Fail. 2000. Vol. 22. P. 255–266.
31. *Svobodova A., Psotova J., Walterova D.* Natural phenolics in the prevention of UV-induced skin damage. A review // Biomed. Papers. 2003. Vol. 147. № 2. P. 137–145.
32. *Szabo C., Ischiropoulos H., Radi R.* Peroxynitrite: biochemistry, pathophysiology and development of therapeutics // Nat. Rev. Drug. Discov. 2007. Vol. 6. № 8. P. 662–680.
33. *Towbin H., Staehelin T., Gordon J*. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure andsome applications. 1979 // Biotechnology. 1992. Vol. 24. P. 145–149.
34. *Yeo W.-S., Lee S. J., Lee J. R., Kim K. P*. Nitrosative protein tyrosine modifications: biochemistry and functional significance // BMB rep. 2008. Vol. 41. № 3. P. 194–203.

Стаття: надійшла до редакції 25.07.16
доопрацьована 31.08.16
прийнята до друку 1.09.16

RENAL PROTECTION EFFECT OF RED WINE POLYPHENOLIC COMPLEX UNDER LOW DOSES IONIZING RADIATION

M. Sabadashka, N. Sybirna

Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskyi St., Lviv 79005, Ukraine
e-mail: m.sabadashka@meta.ua

Obtained data indicated that after irradiation of rats at a dose of 10 cGy activity of NO-synthase, the contents of nitrites and nitrates increased during the seven days of the experiment, and the content of nitrotyrosine-modified proteins grows only at the second and seventh days, compared to control. When natural polyphenolic complex concentrate was administrated to irradiated animals NO-synthase activity and the content of nitrogen oxide stable metabolites are within normal range. The level of nitrotyrosine-modified proteins characterized by a downward trend at the first, second and seventh days after radiation exposure in the case of polyphenolic complex concentrate consumption. The results demonstrate the ability of investigated concentrate components positively correct renal cells status after irradiation in low dose of radiation. Therefore, wine polyphenols could be the basis of new radioprotective agents with antioxidant and anti-inflammatory activities.

Keywords: polyphenolic complex concentrate, renal cortical layer, oxidative-nitrative stress.

НЕФРОПРОТЕКТОРНОЕ ВЛИЯНИЕ ПОЛИФЕНОЛЬНОГО КОМПЛЕКСА ИЗ КРАСНОГО ВИНОГРАДНОГО ВИНА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ МАЛЫХ ДОЗ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ

М. Сабадашка, Н. Сибирная

Львовский национальный университет имени Ивана Франко
ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина
e-mail: m.sabadashka@meta.ua

В результате проведенных исследований выяснено, что после облучения крыс в дозе 10 сГр активность NO-синтазы и содержание нитритов и нитратов увеличивалось в течение семи суток эксперимента, а содержание 3`-нитротирозин-модифицированных белков – только на вторые и седьмые сутки по сравнению с контролем. В случае потребления животными концентрата природного полифенольного комплекса из виноградного вина активность NO-синтазы и содержание стабильных метаболитов оксида азота оставались в пределах нормы после воздействия малой дозы ионизирующего излучения. При этом уровень нитротирозин-модифицированных белков характеризовался тенденцией к снижению на первые, вторые и седьмые сутки после облучения в случае введения *per os* концентрата полифенольного комплекса. Полученные результаты свидетельствуют о способности компонентов исследуемого концентрата положительно корректировать состояние клеток почки после облучения малой дозой радиации, поэтому полифенолы из виноградного вина могут стать основой новых радиопротекторных препаратов.

Ключевые слова: концентрат полифенольного комплекса, корковый слой почки, оксидативно-нитративний стресс.