



Біохімічні маркери функціонального стану гепатобіліарної системи щурів за дії лазерного опромінення та ω -3 поліненасичених жирних кислот

О. В. Кеца, І. Ю. Капітанчук

o.ketsa@chnu.edu.ua

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича,
вул. Коцюбинського 2, м. Чернівці, 58012, Україна

У роботі досліджено маркери функціонального стану органів гепатобіліарної системи — ензимні активності аланінамінотрансферази (АЛТ), аспартатамінотрансферази (АСТ), γ -глутамілтрансферази (ГГТ), рівні загального та прямого білірубину, значення тимолової проби у плазмі крові щурів за дії лазерного опромінення у ближньому інфрачервоному діапазоні довжин хвиль та введення ω -3 ПНЖК. Встановлено, що дія лазерного діода довжиною хвилі 650 нм потужністю 50 мВт через шкіру в ділянку черевної порожнини призводить до підвищення у плазмі крові активностей амінотрансфераз та ГГТ поряд із підвищенням рівня загального і прямого білірубину та показника тимолової проби. Показано, що ω -3 поліненасичені жирні кислоти (ПНЖК) проявляють коригувальний ефект на функціональний стан печінки, який залежить від схеми їхнього введення. Найвищий гепатопротекторний ефект досліджуваних есенціальних нутрієнтів виявлений за умов їх попереднього введення до дії лазерного опромінення, про що свідчить зниження гіперферментемії АЛТ, АСТ, ГГТ, зниження рівня загального і прямого білірубину та показника тимолової проби у плазмі крові. Введення ω -3 ПНЖК після закінчення дії лазерного діода не призводить до змін маркерів функціонального стану печінки в плазмі крові щурів порівняно з опроміненими тваринами, яким не вводили досліджуваних ліпофільних нутрієнтів.

Ключові слова: щури, печінка, аланінамінотрансфераза, аспартатамінотрансфераза, γ -глутамілтрансфераза, білірубін, лазерне опромінення, ω -3 поліненасичені жирні кислоти

Лазерне опромінення різної потужності сьогодні широко використовується для корекції патологічних станів. Дія лазерного опромінення провокує характерні зміни у тканинах організму, наслідки якого можуть проявлятися стимуляцією регенеративних процесів у тканинах або різноманітними функціональними порушеннями органів, які виявляються як за прямої, так і опосередкованої дії лазерного діода [14, 15].

Печінка — один із органів, функціональний стан якого змінюється за умов впливу лазерного опромінення. Оскільки печінка — основний гомеостатичний орган організму, то порушення її функціонування призведе до дисбалансу білкового та ліпідного обміну, зниження біотрансформації ксенобіотиків, внаслідок чого спостерігатиметься інтоксикація організму [2, 9].

Для корекції впливу лазерного опромінення на організм можна використовувати біологічні регулятори. До таких біорегуляторів належать ω -3 поліненасичені жирні кислоти (ПНЖК), які, поряд з антиоксидантною

та регуляторною (як попередники ейкозаноїдів) дією, можуть проявляти мембранопротекторні властивості [13]. Дослідження біохімічних показників функціонального стану печінки дозволить оцінити глибину деструктивних змін за умов локальної дії лазерного опромінення в інфрачервоному спектрі та відкрити перспективи для пошуку природних засобів корекції її патологічних станів.

Тому, враховуючи роль печінки у підтриманні гомеостазу організму і для своєчасного виявлення ранніх ознак печінкової дисфункції, доцільним є визначення активності органоспецифічних ензимів, які слугують маркерами функціонального стану гепатоцитів і дають змогу оцінити стан їхніх клітинних мембран, білково-синтетичну та детоксикаційну функції [4].

Мета роботи — оцінити зміни біохімічних маркерів функціонального стану гепатобіліарної системи щурів за дії лазерного опромінення та введення ω -3 поліненасичених жирних кислот.

Матеріали і методи

Дослідження проводили на білих безпородних щурах масою 120–150 г, яких утримували на звичайному кормовому раціоні виварію. В експерименті було використано 45 тварин, поділених на такі групи: I — інтактні тварини (контроль); II — щури, які зазнавали дії лазерного діода; III — щури, яким ω -3 ПНЖК вводили після опромінення лазером; IV — щури, яким ω -3 ПНЖК вводили щоденно за дві години до лазерного опромінення; V — щури, яким ω -3 ПНЖК вводили сім днів перед застосуванням лазерного опромінення.

Утримання і всі маніпуляції з тваринами проводили згідно з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та наукових цілей» (Страсбург, 1986) та «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) (Протокол №1 від 23.09.2021 р. Комітету з Біоетики Навчально-наукового інституту біології, хімії та біоресурсів Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича).

Щурів опромінювали лазерним діодом у червоному діапазоні спектра (довжина хвилі 650 нм) потужністю 50 мВт через шкіру в ділянку черевної порожнини щоденно протягом 4 хв. Для корекції можливої негативної дії лазера тваринам вводили ω -3 ПНЖК до, під час та після опромінення. Джерелом ω -3 ПНЖК слугував комерційний препарат *Vitrum Кардіо Омега-3 (Unipharm, Inc., США)* тваринного походження (риб'ячий жир), який містив 32% ейкозапентаєнової кислоти і 24% докозагексаєнової кислоти. Жирні кислоти в ри�'ячому жирі ідентифікували методом газової хроматографії на хроматографі *HRGC 5300* (Італія). Для аналізу індивідуальних жирних кислот використовували стандартні препарати фірми *Sigma*. ω -3 ПНЖК вводили *per os* у щоденній дозі 120 мг/кг маси тіла тварин.

Евтаназію тварин проводили під ефірним наркозом на 7-у та 14-у доби після початку опромінення. У роботі використовували плазму крові з 3,2% цитратом натрію у співвідношенні кров : антикоагулянт — 9:1. Кров брали з хвостової вени щурів. У плазмі крові визначали ензимну активність аланін-амінотрансферази (АЛТ), аспартатамінотрансферази (АСТ) і γ -глутамілтрансферази (ГГТ).

Метод визначення активностей АЛТ та АСТ ґрунтується на вимірюванні оптичної щільності динітрофенілгідрозонів пірувату, які в лужному середовищі дають коричнево-червоне забарвлення, інтенсивність якого пропорційна кількості утвореного пірувату. Кількість утвореного пірувату дозволяє оцінити активність ензимів. Активність амінотрансфераз виражали у мкмоль пірувату/мл, утвореного за 1 год. інкубації за температури 37°C [10, 18]. Активність ГГТ визначали за швидкістю утворення 3-карбокси-4-нітроаніліну і виражали в Од/л [12].

Визначення загального білірубіну проводили за допомогою методу, заснованого на хімічному окисненні з використанням ванадату як окиснювача. У присутності детергента та ванадату в кислому розчині загальний білірубін (як кон'югований — прямий, так і некон'югований білірубін) окиснюється з утворенням продукту жовтого кольору, який реєстрували фотометрично при $\lambda=420$ нм. Вміст прямого білірубіну визначали з використанням діазореактиву, який з прямим білірубіном дає рожеве забарвлення. Інтенсивність забарвлення розчину (азобілірубін) пропорційна концентрації прямого білірубіну, яку визначали фотометрично при $\lambda=530$ нм [16].

Оцінку білково-синтетичної функції проводили за допомогою тимолової проби. Принцип методу полягає у тому, що за додавання до плазми крові тимолового реактиву з'являється помутніння внаслідок утворення глобулін-тимолово-ліпідного комплексу. За ступенем помутніння фотометрично визначали утворення комплексу за довжини хвилі 620–650 нм. Показник тимолової проби виражали в одиницях помутніння за Shank-Hoagland (од. S-H) [6].

Отримані результати обробляли методом варіаційної статистики з використанням *t*-критерію Стюдента. Різницю між групами вважали вірогідною за коефіцієнта вірогідності $P \leq 0,05$.

Результати й обговорення

Низькоінтенсивне імпульсне або неперервне лазерне опромінення сьогодні широко використовується у дерматології, онкології та фізіотерапії. Проте механізми його впливу на органи гепатобіліарної системи вивчені недостатньо, оскільки за локальної дії лазерне опромінення може індукувати дозозалежну загибель клітин за рахунок збільшення концентрації внутрішньоклітинних активних форм кисню (АФО), збільшувати пошкодження ДНК, сприяти зниженню мітохондріального потенціалу [5, 11]. Ці ефекти лазерного опромінення можуть обмежити застосування фотодинамічної терапії.

Основними ензимами, активність яких відображає функціональний стан печінки, є амінотрансферази — АЛТ та АСТ. Результати проведених досліджень показали, що семиденне лазерне опромінення у ділянку черевної порожнини призводить до підвищення ензимних активностей амінотрансфераз у плазмі крові. Активність АЛТ у 2,4 раза (рис. 1А), а активність АСТ удвічі (рис. 1Б) перевищували показники інтактних тварин після семиденного лазерного опромінення. Посилення гіперферментемії спостерігалось після 14-денного застосування лазера, коли ензимні активності АЛТ та АСТ у 3,9 та 2,9 раза відповідно перевищували показники контролю (рис. 1).

Виявлена нами гіперферментемія може бути наслідком пошкодження клітин печінки, оскільки внаслідок цитолізу ці ензими можуть потрапляти у кров,

що виражається збільшенням їх активності. В інтактних тварин активність трансаміназ у плазмі крові відображає рівновагу між їх вивільненням у результаті апоптозу постарілих гепатоцитів і елімінацією. Водночас підвищення активності трансаміназ у плазмі крові відображає пошкодження і загибель гепатоцитів, що вказує на дисфункцію печінки [3].

Дисфункціонування печінки за дії щоденного 4-хвилинного лазерного опромінення може виникати за рахунок генерації АФО, що робить необхідним застосування природних антиоксидантів, зокрема ω -3 ПНЖК.

Аналіз результатів дослідження амінотрансфераз у плазмі крові з різними схемами введення ω -3 ПНЖК показав, що за умов їх завчасного введення перед опроміненням рівень ензиматичних активностей АЛТ та АСТ не відрізнявся від показників інтактних тварин на 7-му добу опромінення. Оскільки ω -3 ПНЖК проявляють мембранопротекторні властивості [17], то їх попереднє введення, можливо, супроводжується вбудовуванням у мембрани, що робить останні стійкішими до вільнорадикальної деструкції, спричиненої дією лазерного опромінення. При цьому знижується вихід амінотрансфераз у кров'яне русло. В міру віддалення від терміну введення ω -3 ПНЖК, на 14-у добу виявлено незначне підвищення амінотрансфераз у плазмі крові: в 1,5 раза підвищувалася активність АЛТ (рис. 1А) і в 1,2 раза — АСТ (рис. 1Б) порівняно з контролем. Вочевидь, спостерігається пролонгована дія попереднього введення ω -3 ПНЖК, які стабілізують внутрішньоклітинні структури печінки за рахунок їх вбудовування у фосфоліпіди мембран [1]. Введення ω -3 ПНЖК після закінчення дії опромінення не проявляло протективного ефекту на клітини печінки, оскільки значення активностей амінотрансфераз не відрізнялися від показників групи опромінених тварин, яким не вводили ліпофільних нутрієнтів. Встановлено, що ω -3 ПНЖК проявляли незначний протективний ефект, коли їх вводили за дві години до дії лазерного опромінення, оскільки ензимна активність АЛТ та АСТ знижувалася порівняно з опроміненими тваринами, проте не досягала значень контролю (рис. 1).

Підвищення рівня ензимної активності амінотрансфераз у плазмі крові, очевидно, зумовлене негативним впливом низькоінтенсивного лазерного опромінення на внутрішні мембрани та плазмолему клітин печінки. Іншою причиною гіперферментемії АЛТ і АСТ можуть бути метаболічні та циркуляторні ураження печінки за дії опромінення. Попереднє введення ω -3 ПНЖК сприяє стабілізації внутрішньоклітинних мембран.

Оскільки до гепатобілярної системи також входить і жовчний міхур, то за умов лазерного опромінення можуть спостерігатися порушення і його роботи. Стан цього органу оцінювали за рівнем загального та прямого білірубину. Встановлено, що у тварин, які зазнавали дії лазерного опромінення, у плазмі крові вміст загального білірубину перевищував показник контролю в 1,8 раза — після 7-денного опромінення та у 2,5 раза — після 14-денного опромінення (рис. 2).

Поряд з підвищенням рівня загального білірубину в плазмі крові опромінених тварин підвищувався рівень прямого білірубину. Проте таке підвищення незначне, оскільки на 7-у добу опромінення він в 1,3 раза, а на 14-у — в 1,6 раза перевищував показник інтактних тварин (рис. 3). Підвищення рівня прямого білірубину в плазмі крові вказує на порушення відтоку жовчі у жовчовивідних шляхах. Встановлений факт свідчить про те, що рівень загального білірубину підвищується за рахунок фракції саме непрямого білірубину [7], а це може свідчити про порушення процесів глюкуронування у печінці за дії опромінення.

Коригувальний вплив на стан гепатобілярної системи мають ω -3 ПНЖК за умов їх попереднього введення, оскільки рівні загального та прямого білірубину не відрізнялися від показників контролю на 7-у добу опромінення та незначно підвищувалися на 14-у добу (рис. 2, рис. 3). Під час застосування ω -3 ПНЖК після закінчення дії опромінення рівень загального та прямого білірубину не відрізнявся від показників групи тварин, які зазнавали дії лазерного діода і не отримували ω -3 ПНЖК. Введення ω -3 ПНЖК за дві години до дії лазерного опромінення призводить до підвищення рівня загального та прямого білірубину в плазмі крові після 14-денного опромінення порівняно з показниками інтактних тварин, проте такі зміни не досягають рівня показників групи опромінених тварин, яким не вводили ω -3 ПНЖК (рис. 2, рис. 3). Імовірно, щоденне попереднє введення ω -3 ПНЖК спочатку може проявляти антиоксидантний ефект, а в міру збільшення терміну опромінення ω -3 ПНЖК стають субстратами дії АФО, що призводить до ліпопероксидації і порушення функцій органів гепатобілярної системи.

Отже, за умов лазерного опромінення в печінці відбувається порушення реакцій перетворення білірубину, а гіпербілірубінемія розвивається за рахунок підвищення обох фракцій. Кількість вільного білірубину може зростати у зв'язку з функціональною недостатністю гепатоцитів і зниженням їх кількості, а зв'язаного — за рахунок збільшення проникності мембран клітин печінки, а також через порушення секреції з жовчю. Ці зміни вказують на ураження паренхіми печінки. Найбільший коригувальний вплив на печінку ω -3 ПНЖК мають за умов їх введення до початку опромінення.

Дослідження ензимної активності ГГТ як маркера стану гепатобілярної системи у плазмі крові опромінених щурів показало її підвищення в міру збільшення терміну опромінення порівняно з неопроміненими тваринами (рис. 4). Оскільки ГГТ у великій кількості локалізована на мембранах клітин печінки, то підвищення активності цього ензиму в крові свідчить про пошкодження клітин печінки [8]. Використання ω -3 ПНЖК як протекторів біологічних мембран показало найбільше підвищення активності ГГТ в плазмі крові за умов їх введення після закінчення двотижневого опромінення, що свідчить про низьку ефективність досліджуваних нутрієнтів за такої схеми введення.

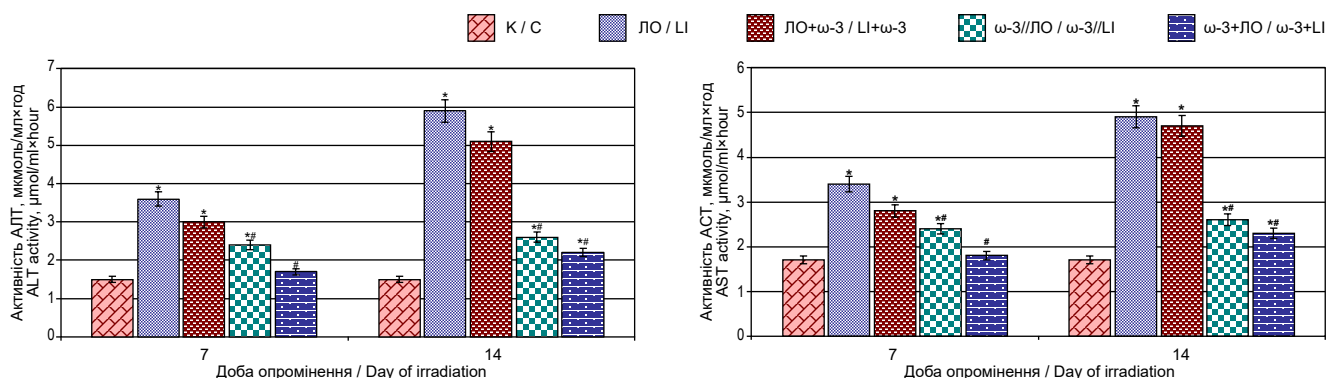


Рис. 1. Аланінамінотрансферазна (А) та аспартатамінотрансферазна (Б) активності у плазмі крові щурів за умов дії низькоінтенсивного лазерного опромінення та ω -3 поліненасичених жирних кислот

Fig. 1. Alanine aminotransferase (A) and aspartate aminotransferase (B) activity in the blood plasma of rats under conditions of low-intensity laser irradiation and ω -3 polyunsaturated fatty acids

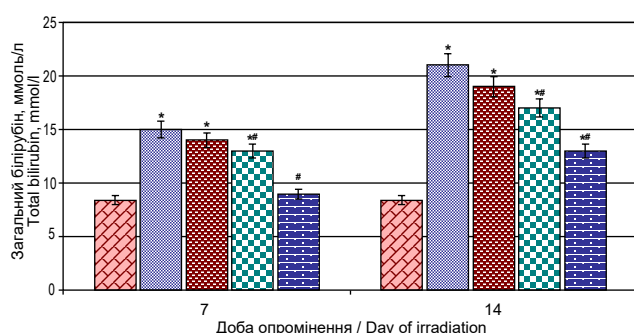


Рис. 2. Вміст загального білірубину в плазмі крові щурів за умов дії низькоінтенсивного лазерного опромінення та ω -3 поліненасичених жирних кислот

Fig. 2. The content of total bilirubin in the blood plasma of rats under conditions of low-intensity laser irradiation and ω -3 polyunsaturated fatty acids

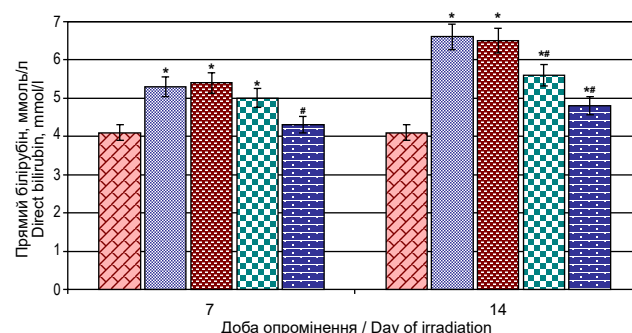


Рис. 3. Вміст прямого білірубину в плазмі крові щурів за умов дії низькоінтенсивного лазерного опромінення та ω -3 поліненасичених жирних кислот

Fig. 3. The content of direct bilirubin in the blood plasma of rats under conditions of low-intensity laser irradiation and ω -3 polyunsaturated fatty acids

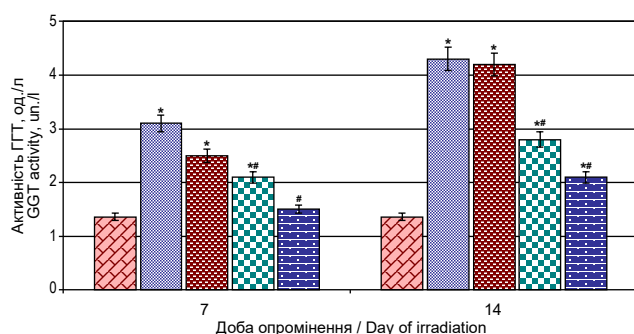


Рис. 4. Ензимна активність γ -глутамілтрансферази у плазмі крові щурів за умов дії низькоінтенсивного лазерного опромінення та ω -3 поліненасичених жирних кислот

Fig. 4. Enzymatic activity of γ -glutamyltransferase in the blood plasma of rats under conditions of low-intensity laser irradiation and ω -3 polyunsaturated fatty acids

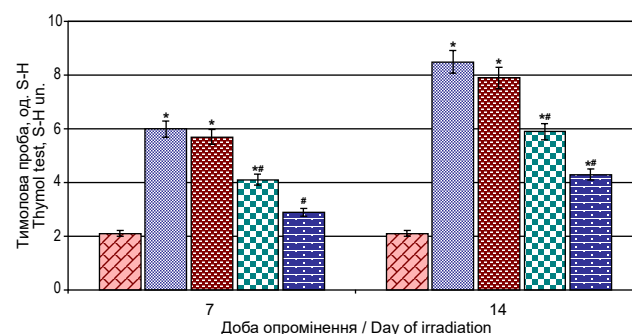


Рис. 5. Рівень тимолової проби у плазмі крові щурів за умов дії низькоінтенсивного лазерного опромінення та ω -3 поліненасичених жирних кислот

Fig. 5. The level of thymol test in the blood plasma of rats under conditions of low-intensity laser irradiation and ω -3 polyunsaturated fatty acids

Примітка. К — інтактні тварини (контроль); ЛО — щури, які зазнавали дії лазерного діода; ЛО+ ω -3 — щури, яким після опромінення лазером вводили ω -3 ПНЖК; ω -3//ЛО — щури, яким ω -3 ПНЖК вводили щоденно за дві години до лазерного опромінення; ω -3+ЛО — щури, яким ω -3 ПНЖК вводили 7 днів попередньо перед застосуванням лазерного опромінення.

* — статистично вірогідна різниця порівняно з показником інтактних тварин ($P \leq 0.05$);

— статистично вірогідна різниця порівняно з показником опромінених щурів ($P \leq 0.05$).

Note. C — intact animals (control); LI — rats which were irradiated with a laser diode;

LI+ ω -3 — rats which after laser irradiation were injected ω -3 PUFA; ω -3//LI — rats, which were injected ω -3 PUFA daily two hours before laser irradiation; ω -3+LI — rats which were injected ω -3 PUFA 7 days before the laser irradiation.

* — statistically significant difference compared with control ($P \leq 0.05$);

— statistically significant difference compared to irradiated rats ($P \leq 0.05$).

Водночас попереднє введення ω -3 ПНЖК перед опроміненням мало найвищий коригувальний вплив на печінку, оскільки активність ГГТ не відрізнялася від показників контролю після 7-денного опромінення та підвищувалася лише після 14-денного опромінення в 1,5 раза порівняно з контролем. Щоденне введення ω -3 ПНЖК за дві години до дії лазерного діода також проявляло протекторний ефект на печінку, оскільки сприяло зниженню активності ГГТ в плазмі крові порівняно з опроміненими тваринами, проте не досягало значень контролю (рис. 4).

Виявлене підвищення активностей амірансфераз та ГГТ у плазмі крові за умов дії лазерного діода в ділянці черевної порожнини може свідчити не лише про порушення структури гепатоцитів, але й їх функціонального стану. Щоб перевірити це припущення, ми визначили показник тимолової проби для оцінки білково-синтетичної функції печінки.

Результати проведених досліджень показали, що за дії лазерного опромінення рівень тимолової проби підвищувався у 2,9 раза — після 7-денного опромінення і в 4,1 раза — після 14-денного опромінення (рис. 5). Імовірно, за дії лазерного опромінення у печінці відбувається зміна балансу синтезу білків, внаслідок чого у крові зменшується кількість альбуміну, що призводить до швидшого осадження інших фракцій (β - і γ -глобулінів) при взаємодії з тимолом [7].

Корекція синтетичної функції печінки здійснювалася за дії ω -3 ПНЖК, особливо за умов їхнього попереднього введення до дії лазера. Так, у цієї групи тварин показник тимолової проби в 1,4 і 2 рази перевищував показник контролю на 7-у та 14-у доби опромінення відповідно. Введення ω -3 ПНЖК після двотижневої дії лазера не призводило до зміни показника тимолової проби порівняно з опроміненими тваринами, що свідчить про низьку ефективність ліпофільних нутрієнтів за цих умов. Введення ω -3 ПНЖК щоденно за дві години до опромінення проявляло низький коригувальний ефект на синтетичну функцію печінки (рис. 5).

Отже, застосування лазерного опромінення за експозиції 4 хв. щоденно у ділянці черевної порожнини після попереднього введення ω -3 ПНЖК знижує порушення функціонального стану печінки.

Висновки

1. Локальна дія низькоінтенсивного лазерного опромінення в ділянці черевної порожнини супроводжується змінами функціонального стану печінки, про що свідчать підвищені активності амірансфераз та ГГТ у плазмі крові поряд з підвищенням рівня загального і прямого білірубину і показника тимолової проби у крові.

2. Коригувальний ефект на функціональний стан печінки проявляють ω -3 ПНЖК. Однак протекторні властивості досліджуваних ліпофільних нутрієнтів залежать від схеми їхнього введення. Встановлено,

що найвищий гепатопротекторний ефект ω -3 ПНЖК проявляють за умови введення до дії лазерного опромінення, про що свідчить зниження гіперферментемії АЛТ, АСТ, ГГТ, зниження рівня фракцій білірубину і показника тимолової проби у плазмі крові.

Перспективи подальших досліджень

Дослідження біохімічних механізмів протективної дії ω -3 ПНЖК за умов впливу лазерного опромінення на органи дадуть змогу широкого застосування цього виду терапії у медицині.

1. Ayee MAA, Bunker BC, De Groot JL. Membrane modulatory effects of omega-3 fatty acids: Analysis of molecular level interactions. *Curr. Top. Membr.* 2020; 86: 57–81. DOI: 10.1016/b3.ctm.2020.08.001.
2. Bissig KD, Han W, Barzi M, Kovalchuk N, Ding L, Fan X, Pan-kowicz FP, Zhang QY, Ding X. P450-humanized and human liver chimeric mouse models for studying xenobiotic metabolism and toxicity. *Drug Metab. Dispos.* 2018; 46 (11): 1734–1744. DOI: 10.1124/dmd.118.083303.
3. Chen L, Chen R, Kemper S, Cong M, You H, Brigstock DR. Therapeutic effects of serum extracellular vesicles in liver fibrosis. *J. Extracell. Vesicles.* 2018; 7 (1): 1461505. DOI: 10.1080/20013078.2018.1461505.
4. De Avelar CR, Pereira EM, de Farias Costa PR, de Jesus RP, de Oliveira LPM. Effect of silymarin on biochemical indicators in patients with liver disease: Systematic review with meta-analysis. *World J. Gastroenterol.* 2017; 23 (27): 5004–5017. DOI: 10.3748/wjg.v23.i27.5004.
5. Jampa-Ngern S, Viravaidya-Pasuwat K, Suvanasuthi S, Khantachawana A. Effect of laser diode light irradiation on growth capability of human hair follicle dermal papilla cells. *39th Annu. Int. Conf. IEEE Eng. Med. Biol. Soc.* 2017: 3592–3595. DOI: 10.1109/EMBC.2017.8037634.
6. Kunkel HG, Hoagland CL. Mechanism and significance of the thymol turbidity test for liver disease. *J. Clin. Invest.* 1947; 26 (6): 1060–1071. DOI: 10.1172/JCI101898.
7. Kwo PY, Cohen SM, Lim JK. ACG clinical guideline: evaluation of abnormal liver chemistries. *Am. J. Gastroenterol.* 2017; 112 (1): 18–35. DOI: 10.1038/ajg.2016.517.
8. Lozano-Paniagua D, Parrón T, Alarcón R, Requena M, López-Guamido O, Lacasaña M, Hernández AF. Evaluation of conventional and non-conventional biomarkers of liver toxicity in greenhouse workers occupationally exposed to pesticides. *Food Chem. Toxicol.* 2021; 151: 112127. DOI: 10.1016/j.fct.2021.112127.
9. Michalopoulos GK, Bhushan B. Liver regeneration: biological and pathological mechanisms and implications. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2021; 18 (1): 40–55. DOI: 10.1038/s41575-020-0342-4.
10. Moss DW, Henderson AR. Clinical enzymology. In: Burtis CA, Ashwood ER, eds. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 3rd ed. Philadelphia, W.B Saunders Company, 1999: 617–721.
11. Muster B, Rapp A, Cardoso MC. Systematic analysis of DNA damage induction and DNA repair pathway activation by continuous wave visible light laser micro-irradiation. *AIMS Genet.* 2017; 4 (1): 47–68. DOI: 10.3934/genet.2017.1.47.
12. Schumann G, Bonora R, Ceriotti F, Féraud G, Ferrero CA, Franck PFH, Gella FJ, Hoelzel W, Jørgensen PJ, Kanno T, Kessner A, Klauke R, Kristiansen N, Lessinger JM, Linsinger TPJ, Misaki H, Panteghini M, Pauwels J, Schiele F, Schimmel HG. IFCC Primary reference procedures for the measurements of catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C. Part 6.

- Reference procedure for the measurements of catalytic concentration of γ -glutamyltransferase. *Clin. Chem. Lab Med.* 2002; 40 (7): 734–738. DOI: 10.1515/CCLM.2002.126.
13. Shahidi F, Ambigaipalan P. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and their health benefits. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* 2018; 9: 345–381. DOI: 10.1146/annurev-food-111317-095850.
 14. Shobha R, Narayanan VS, Jagadish Pai BS, Jaishankar HP, Jijin MJ. Low-level laser therapy: A novel therapeutic approach to temporomandibular disorder — A randomized, double-blinded, placebo-controlled trial. *Indian J. Dent. Res.* 2017; 28 (4): 380–387. DOI: 10.4103/ijdr.IJDR_345_15.
 15. Shurygina IP, Zilov VG, Smekalkina LV, Naprienko MB, Safonov MI, Akulov SN. Effect of infrared low-intensity laser irradiation on lipid peroxidation under conditions of experimental circulatory hypoxia of visual analyzer. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2020; 168 (5): 602–604. DOI: 10.1007/s10517-020-04760-6.
 16. Simmons NA. An automated method for serum bilirubin determination. *J. Clin. Path.* 1968; 21: 196–201. DOI: 10.1136/jcp.21.2.196.
 17. Sullivan EM, Pennington ER, Green WD, Beck MA, Brown DA, Shaikh SR. Mechanisms by which dietary fatty acids regulate mitochondrial structure-function in health and disease. *Adv. Nutr.* 2018; 9 (3): 247–262. DOI: 10.1093/advances/nmy007.
 18. Thomas L. Alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST). In: *Clinical Laboratory Diagnostics*. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft, 1998: 55–65.

Biochemical markers of hepatobiliary system functional state in rats under the action of laser irradiation and ω -3 polyunsaturated fatty acids

O. V. Ketsa, I. Y. Kapitanchuk
o.ketsa@chnu.edu.ua

Yuriy Fedkovych Chernivtsi National University,
2 Kotsyubynskoho str., Chernivtsi, 58012, Ukraine

Markers of the functional state of the hepatobiliary system — enzymatic activities of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), γ -glutamyltransferase (GGT), levels of total and direct bilirubin, the value of thymol probe in the plasma of the diaphragm waves and the introduction of ω -3 PUFA were investigated. It has been found that the action of laser irradiation in blood plasma increases the enzymatic activities of aminotransferases and GGT, along with an increase in the level of total and direct bilirubin and thymol index. The corrective effect on the liver functional state is shown by ω -3 polyunsaturated fatty acids (PUFA). It has been established that the protective properties of ω -3 PUFAs depend on the scheme of their introduction. The highest hepatoprotective effect of ω -3 PUFAs is manifested under the conditions of their previous introduction to the action of laser irradiation, as evidenced by a decrease in hyperenzymemia ALT, AST, GGT, a decrease in total and direct bilirubin and thymol in plasma. The introduction of ω -3 PUFA after the end of the laser diode does not change the markers of the functional state of the liver in blood plasma compared with irradiated animals that were not injected with the studied lipophilic nutrients.

Key words: rats, liver, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, γ -glutamyltransferase, bilirubin, laser irradiation, ω -3 polyunsaturated fatty acids