

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ

ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН НААН

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ШАТИНСЬКА Олена Андріївна

УДК 616.379-008.64:57.017.7:661.746.5

**БІОХІМІЧНІ ПРОЦЕСИ В ОРГАНІЗМІ ЩУРІВ З
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНО ІНДУКОВАНИМ ДІАБЕТОМ ЗА ДІЇ
ЦИТРАТІВ МАГНІЮ І ХРОМУ**

03.00.04 – біохімія

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії
(кандидата біологічних наук)

Дисертація містить результати власних досліджень.

Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на
відповідне джерело _____ О.А. Шатинська

Науковий керівник:

ІСКРА Руслана Ярославівна,

доктор біологічних наук,

старший науковий співробітник

Львів – 2018

АНОТАЦІЯ

Шатинська О.А. Біохімічні процеси в організмі щурів з експериментально-індукованим діабетом за дії цитратів магнію і хрому. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук (доктора філософії) за спеціальністю 03.00.04 «Біохімія». – Інститут біології тварин НААН, Львів, 2018.

Метою дисертаційної роботи було з'ясувати біохімічні особливості функціонування вуглеводного та ліпідного обмінів, системи антиоксидантного захисту в крові та тканинах щурів з експериментальним цукровим діабетом за впливу цитратів магнію та хрому, синтезованих методом нанотехнології, та розробити на цій основі нові підходи до профілактики виникнення та корекції метаболічних порушень.

Для досягнення поставленої мети було проведено експериментальні дослідження, у три етапи. На першому етапі експериментальної частини було підібрано п'ять груп щурів лінії Вістар (по 5 тварин у кожній): контрольна і чотири дослідні, аналогів за живою масою (130-150 г) та віком. Тваринам другої, третьої та четвертої дослідних груп впродовж 30 діб з моменту постановки досліду, профілактично разом із питною водою випоювали цитрат магнію у дозах 100, 250 і 500 мг Mg^{2+} /кг маси тіла, відповідно.

На другому етапі роботи було сформовано чотири групи тварин (контрольна і три дослідні) по 5 щурів у кожній, аналогів за живою масою (130-150 г) та віком. Тваринам другої і третьої дослідних груп, протягом 30 діб експерименту, з метою профілактики експериментального цукрового діабету, до питної води додавали комплекс цитрату магнію і цитрату хрому у кількостях, відповідно другій групі – 250 мг Mg^{2+} /кг маси тіла і 25 мкг Cr^{3+} /кг маси тіла; третій групі – 250 мг Mg^{2+} /кг маси тіла і 10 мкг Cr^{3+} /кг маси тіла.

На третьому етапі роботи було сформовано три групи тварин: контрольна і дві дослідні. Тварини другої дослідної групи споживали 1,25% водний розчин лимонної кислоти.

З метою індукції експериментального цукрового діабету тваринам усіх дослідних груп першого, другого і третього етапів досліджень на тлі 24-годинного голодування на 21-шу добу, з моменту постановки досліду, одноразово внутрішньоочеревинно було введено розчин алоксан моногідрату (“Синбіас”, Україна) з розрахунку 150 мг (у 0,85% фізіологічному розчині) на 1000 г маси тіла тварини.

Досліджували вплив цитрату магнію та цитрату хрому, синтезованих методом нанотехнології, на активність ключових ензимів і вміст метаболітів вуглеводного обміну, вміст загальних ліпідів та їх класів, продуктів пер оксидного окиснення ліпідів та активність ензимів антиоксидантної системи в організмі щурів із експериментальним цукровим діабетом.

Встановлено, що в плазмі крові тварин з експериментально індукованим цукровим діабетом вірогідно зростала концентрація глюкози, однак знижувались концентрації інсуліну та С-пептиду. Проте, за додавання до раціону тварин цитрату магнію зокрема та у комплексі з цитратом хрому, концентрація глюкози у плазмі крові знижувалась, що супроводжувалось підвищенням концентрації інсуліну та С-пептиду. Найкращий нормалізуючий ефект спостерігали при застосуванні цитрату магнію у дозі 250 мг Mg^{2+} /кг та сумісному застосуванні цитратів магнію і хрому у дозах 250 мг Mg^{2+} /кг та 25 мкг Cr^{3+} /кг.

Було встановлено, що за алоксан-індукованого цукрового діабету активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази в еритроцитах крові, печінці, скелетних м'язах та підшлунковій залозі знижувалась. Натомість, активність лактатдегідрогенази – ензиму кінцевої ланки гліколізу знижувалась у печінці та підшлунковій залозі, а в еритроцитах крові та м'язовій тканині – підвищувалась. Водночас було встановлено підвищення вмісту L-лактату і зниження вмісту пірувату у крові, печінці, м'язах та піжшлунковій залозі тварин з експериментальним цукровим діабетом. Такі зміни можуть бути зумовлені недостатністю дії інсуліну за умов діабету, що супроводжується підвищенням рівня глюкози внаслідок недостатнього її використання організмом як джерела енергії. Відповідно, організм більшою мірою

намагається використати альтернативний безкисневий шлях вивільнення енергії з глюкози.

Застосування цитрату магнію (250 мг Mg^{2+} /кг м.т.) окремо та сумісно з цитратом хрому (25 мкг Cr^{3+} /кг м.т.) дозволило запобігти розвитку гострої гіперглікемії та покращити показники вмісту метаболітів та динаміки активності ензимів вуглеводної ланки метаболізму.

При дослідженні ліпідів плазми крові щурів з алоксановим цукровим діабетом виявлено підвищення вмісту загальних ліпідів, фосфоліпідів, холестеролу, вільних жирних кислот. Проте, профілактичне застосування цитратних сполук сприяло деякій нормалізації окремих показників ліпідного обміну в плазмі крові щурів за умов гіперглікемії, зумовленої цукровим діабетом.

У проведених дослідженнях було зафіксовано пригнічення функціональної активності антиоксидантної системи та інтенсифікацію процесів перикисного окиснення ліпідів у щурів з експериментальним цукровим діабетом, що свідчить про провідну роль ліпопероксидації в патогенезі захворювання. Зокрема, у тварин з алоксан-індукованим цукровим діабетом у плазмі крові, печінці, м'язовій тканині та підшлунковій залозі підвищувався вміст гідропероксидів ліпідів та ТБК-активних продуктів. Показано, що за введення досліджуваних цитратних сполук макро- і мікроелементів частково нормалізувалися показники системи антиоксидантного захисту із наступним зниженням вмісту продуктів ліпопероксидації.

Оксидативний стрес, який виникає на фоні розвитку експериментального цукрового діабету, зумовлював дисбаланс у діяльності антиоксидантної системи із подальшими змінами активностей основних антиоксидантних ензимів. Було встановлено зниження активності супероксиддисмутази у крові, печінці, скелетних м'язах та підшлунковій залозі; зниження активності каталази у крові та підшлунковій залозі, проте підвищення у печінці та м'язах; підвищення активності ензимів глутатіонової ланки та вмісту відновленого глутатіону у крові, проте зниження активності глутатіонредуктази та глутатіонпероксидази у печінці й підшлунковій залозі, а також зниження вмісту відновленого глутатіону в м'язах і підшлунковій залозі тварин з алоксановим цукровим діабетом.

Введення цитрату магнію (у дозах 100 і 250 мг Mg^{2+} /кг м.т.), а також сумісне введення цитратів магнію і хрому (250 мг Mg^{2+} /кг м.т. та 25 мкг Cr^{3+} /кг) сприяло деякому покращенню функціонального стану системи глутатіону порівняно з показниками діабетичних тварин.

Таким чином, у результаті проведених досліджень вперше з'ясовані механізми дії синтезованих методом нанотехнології цитратів магнію і хрому за умов алоксанового діабету, що залежить від дози сполук і реалізується через їх вплив на конкретні мішені, зокрема вуглеводний та ліпідний обмін, а також про/антиоксидантна систему в крові та тканинах щурів. Встановлено виражену антиоксидантну дію цитратів Mg^{2+} і Cr^{3+} за досліджуваної патології, про що свідчить зниження вмісту гідропероксидів ліпідів, ТБК-активних продуктів та часткова нормалізація активності ензимів антиоксидантного захисту в крові та тканинах тварин. З'ясовано нові аспекти гіпоглікемічної дії досліджуваних цитратних сполук, які, активізуючи ензими вуглеводного обміну та зменшуючи вміст L-лактату, сприяють деякій інтенсифікації аеробного гліколізу і, як наслідок, зниженню рівня глюкози в крові. Продемонстровано, що за дії досліджуваних сполук підвищується концентрації інсуліну та C-пептиду у плазмі крові щурів із алоксановим діабетом. Вперше показано, що запропоновані нами сполуки знижують вміст холестеролу та загальних ліпідів у плазмі крові за цукрового діабету, що може свідчити про їх антиатерогенний ефект.

У результаті проведених досліджень експериментально обґрунтовано позитивний вплив цитратів магнію і хрому на обмінні процеси в організмі щурів за умов цукрового діабету. Проведені дослідження дали змогу довести ефективність використання цитрату магнію, як окремо, так і сумісно з цитратом хрому для корекції метаболічних порушень, які виникають при розвитку цукрового діабету. Отримані дані розширюють уявлення щодо фармакодинамічних механізмів гіпоглікемічного впливу цих сполук.

Практичним результатом роботи стала розробка способу сумісного застосування цитратних сполук магнію і хрому для попередження розвитку цукрового діабету, на яку отримано два патенти України на корисну модель.

Видано методичні рекомендації “Живлення тварин та фізіологі-біохімічні процеси в організмі за дії цитратів мікроелементів”.

Одержані в дисертаційній роботі результати впроваджені у навчальний процес під час викладання спецкурсів на кафедрі біохімії біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка, кафедри біологічної хімії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, кафедр медичної біохімії та функціональної і лабораторної діагностики ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України»

Результати роботи можуть стати фундаментом подальших багатоступеневих досліджень у напрямі створення нових засобів для попередження і лікування цукрового діабету та гіперглікемії.

Ключові слова: цукровий діабет, цитрат магнію, цитрат хрому, інсулін, гіперглікемія, вуглеводний обмін, ліпідний обмін, оксидативний стрес, система антиоксидантного захисту, щури.

Список опублікованих праць за темою дисертації:

1. Шатинська О. А. Комплексний вплив цитратів магнію і хрому на функціонування глутатіонової системи захисту у печінці щурів із алоксановим цукровим діабетом. Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Серія «Біологія». 2017. Вип. 28. С. 5–11.

2. Шатинська О. А., Іскра Р. Я., Сварчевська О. З. Активність ензимів вуглеводного обміну у м'язовій тканині щурів з експериментальним цукровим діабетом за комплексної дії цитратів магнію і хрому. Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи). 2017. Т. 9, Вип. 1. С. 23–27. *(Дисертантка провела дослідження активності ензимів, статистично опрацювала отримані дані, брала активну участь у аналізі результатів досліджень, написанні та оформленні статті).*

3. Shatynska O. A., Iskra R. Ya., Svarchevska O. Z. The complex effects of the magnesium and chromium citrates on the carbohydrate metabolism in blood of rats with experimental diabetes mellitus. The Animal Biology. 2017. Vol. 19, № 3. P. 122–127.

(Дисертантка провела дослідження активності ензимів та метаболітів, статистично опрацювала отримані дані, брала активну участь у аналізі результатів досліджень, написанні та оформленні статті).

4.Шатинська О. А., Іскра Р. Я. Дія цитрату магнію на про/антиокси-дантний статус печінки за експериментального цукрового діабету у щурів. Біологічні студії. 2016. Т. 10, № 2. С. 45–52. *(Дисертантка виконала експериментальну частину досліджень, статистично опрацювала отримані дані, брала активну участь у аналізі результатів досліджень, написанні та оформленні статті).*

5.Шатинська О. Зміни активності ензимів вуглеводного обміну у печінці щурів з експериментально-індукованим діабетом за дії цитратів магнію і хрому. Вісник Львівського університету. Серія біологічна. 2016. Вип. 73. С. 235–239.

6.Шатинська О., Іскра Р. Корекція цитратом магнію оксидативного стресу в крові щурів з експериментальним діабетом. Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Серія Біологія. 2016. Вип. 71, № 1. С. 81–84. *(Дисертантка виконала експериментальну частину досліджень, статистично опрацювала отримані дані, брала активну участь у аналізі результатів досліджень, написанні та оформленні статті).*

7.Шатинська О. А. Активність ензимів вуглеводного обміну в тканинах щурів з алоксан-індукованим цукровим діабетом за додавання магній цитрату. Вісник Запорізького національного університету. Біологічні науки. 2016. № 2. С. 96–101.

8.Шатинська О., Іскра Р., Пилипець А., Сварчевська О. Вплив магній цитрату на вміст ліпідів у плазмі крові щурів за умов експериментального цукрового діабету. Науковий вісник Східноєвропейського національного університету імені Лесі Українки. Біологічні науки. 2016. № 12. С. 115–120. *(Дисертантка провела визначення класів ліпідів, статистично опрацювала отримані дані, брала активну участь у аналізі результатів досліджень, написанні та оформленні статті).*

9.Іскра Р. Я., Слівінська О. М., Шатинська О. А., Сварчевська О. З., Сеньків О. М., Пилипець А. З. Метаболічні процеси у печінці щурів за експериментального діабету та вплив цитрату хрому. Науковий вісник Східноєвропейського національного університету імені Лесі Українки. 2015. № 12. С. 161–166. *(Дисертантка брала участь в аналізі результатів досліджень, оформленні статті).*

10. Спосіб профілактики та лікування цукрового діабету за використання цитратів магнію та хрому: пат. 122791, Україна / Шатинська О. А., Іскра Р. Я., Слівінська О. М. МПК (2017.01) А61К 35/00, А61К 33/30 (2006.01), А61К 47/00, А61Р 3/10 (2006.01); заявл. 31.07.2017, опубл. 25.01.2018, Бюл. № 2. 5с. *(Дисертантка провела визначення активності ензимів вуглеводного обміну та класів ліпідів, статистично опрацювала отримані дані, оформила та написала патент).*

11. Спосіб профілактики цукрового діабету при комплексному використанні цитратів хрому та цинку: пат. 121254, Україна / Слівінська О. М., Іскра Р. Я., Шатинська О. А. МПК А61К 33/00, А61Р 3/10 (2006.01); заявл. 26.06.2017, опубл. 27.11.2017, Бюл. № 22. 5с. *(Дисертантка брала участь в аналізі результатів досліджень, оформленні патенту).*

12. Шатинська О., Іскра Р. Профілактика ускладнень цукрового діабету при використанні цитрату магнію отриманого за аквананотехнологією: Матеріали II Всеукраїнської науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю «Нанотехнології у фармації та медицині» (19–20 квіт., 2018 р., м. Харків). Харків, 2018. С. 94–95. *(Дисертантка виконала експериментальну частину досліджень, статистично опрацювала отримані дані, оформила та написала тези).*

13. Шатинська О. А., Іскра Р. Я. Вплив цитрату магнію на вміст магнію у тканинах нирок і печінки щурів з експериментальним цукровим діабетом: Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича «Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій» (12–13 квіт., 2018 р., м. Харків). Харків: НФаУ, 2018. С. 130. *(Дисертантка виконала експериментальну частину досліджень, статистично опрацювала отримані дані, оформила та написала тези).*

14. Iskra R., Shatynska O. Some aspects of carbohydrate metabolism in the blood of rats with experimental diabetes and under complex action of magnesium and chromium citrates: Paper presented at the CEECHE Environmental and health issue in fast changing economies (Krakow, June 10–14, 2018). Krakow: CEECHE, 2018. P-11. *(Дисертантка виконала експериментальну частину досліджень, статистично опрацювала отримані дані, оформила та написала тези).*

15. Шатинська О. А., Іскра Р. Я., Сварчевська О. З. Сполуки цитратів магнію і хрому як засоби для профілактики цукрового діабету: Матеріали XVI Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених «Молоді вчені у вирішенні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини» присвяченох доктору біологічних наук, професору Головачу Василю Миколайовичу (8–9 груд., 2017 р., м. Львів). Біологія тварин. 2017. Т. 19, № 4. С. 161. *(Дисертантка виконала експериментальну частину досліджень, статистично опрацювала отримані дані, оформила та написала тези).*

16. Шатинська О. А. Вплив магнію цитрату на вуглеводний обмін та антиоксидантну систему захисту в підшлунковій залозі щурів з алоксаніндукованим цукровим діабетом: Матеріали конференції молодих учених «Актуальні проблеми біохімії та біотехнології – 2016» (26–27 трав., 2016 р., м. Київ). Ukr. Biochem. J. 2016. Т. 88, № 4. С. 85.

17. Шатинська О. А., Пилипець А. З. Вплив цитратів магнію та хрому на вміст ліпідів у плазмі крові щурів за умов гіперглікемії: Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Актуальні проблеми сучасної біології, тваринництва та ветеринарної медицини» (29–30 верес., 2016 р., м. Львів). Львів, 2016. С. 203. *(Дисертантка виконала експериментальну частину досліджень, статистично опрацювала отримані дані, оформила та написала тези).*

18. Шатинська О. А., Іскра Р. Я. Корекція порушень вуглеводного обміну у м'язовій тканині щурів з експериментальним цукровим діабетом за комплексної дії цитратів магнію і хрому: Матеріали XV Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених «Молоді вчені у вирішенні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини» (8–9 груд. 2016 р., м. Львів). Біологія тварин. 2016. Т. 18, № 4. С. 203. *(Дисертантка виконала експериментальну частину досліджень, статистично опрацювала отримані дані, оформила та написала тези).*

19. Слівінська О. М., Шатинська О. А., Іскра Р. Я. Оксидативно-нітративний стрес у щурів з експериментально-індукованим діабетом та його корекція цитратом хрому: Матеріали конференції-конкурсу молодих учених «Актуальні проблеми біохімії та біотехнології – 2015» (23–24 квіт., 2015 р., м. Київ). Київ, 2015. С. 59. *(Дисертантка статистично опрацювала отримані дані, брала участь у оформленні тез).*

20. Шатинська О. А., Іскра Р. Я., Слівінська О. М. Вплив цитрату магнію на прооксидантно-антиоксидантну систему крові щурів з експериментальним діабетом: Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Актуальні проблеми сучасної біології, тваринництва та ветеринарної медицини», присвяченої 55-річчю Інституту біології тварин НААН (2–3 жовт., 2015 р., м. Львів). Біологія тварин. 2015. Т.17, № 3. С. 219. *(Дисертантка виконала експериментальну частину досліджень, статистично опрацювала отримані дані, оформила та написала тези).*

21. Шатинська О. А., Іскра Р. Я. Дія цитрату магнію на метаболічні процеси в клітинах м'язової тканини щурів з експериментальним діабетом: Матеріали XIV Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених «Молоді вчені у вирішенні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини», присвяченої 100-річчю від дня народження доктора біологічних наук, професора Скородинського Зеновія Павловича (3–4 груд., 2015 р., м. Львів). Біологія тварин. 2015, Т. 17, № 4. С. 212. *(Дисертантка виконала експериментальну частину досліджень, статистично опрацювала отримані дані, оформила та написала тези).*

22. Іскра Р. Я., Слівінська О. М., Шатинська О. А. та інші. Живлення тварин та фізіологі-біохімічні процеси в організмі за дії цитратів мікроелементів: методичні рекомендації. Львів. 2016. С. 27. *(Дисертантка брала активну участь в оформленні та написанні методичних рекомендацій).*

SUMMARY

Shatynska O. Biochemical processes in the rats organism with experimentally induced diabetes under the action of magnesium and chromium citrates. – Manuscript.

Thesis for a Candidate Degree in PhBiology (PhD): specialty 03.00.04 – biochemistry. – Institute of Animal Biology, NAAS Ukraine, Lviv, 2018.

The aim of dissertation was elucidate of the biochemical features of the carbohydrate and lipid metabolism, antioxidant defense system in blood and tissues of rats with experimental diabetes under the influence different of magnesium and chromium citrates. Citrate compounds were synthesized by nanotechnology method.

Three stage of experimental research were conducted. Studies were performed on male white Wistar rats, analogs for body weight (130-150 g) and age. Five group of rats were formed at the first stage of the experimental part: control and four experimental (5 animals per each). Solution of magnesium citrate in doses: RG2 – 100 mg Mg^{2+} /kg bw; RG3 – 250 mg Mg^{2+} /kg bw and RG4 – 500 mg Mg^{2+} /kg bw was added to the drinking water for all animals. Such activities were carried out 30 days for the profilation of the diabetes.

At the second stage of the work four groups of animals (control and three experimental) of 5 rats in each were formed. The complex of magnesium and chromium citrates in doses: RG2 – 250 mg Mg^{2+} /kg bw and 25 μg Cr^{3+} /kg bw; RG3 – 250 mg Mg^{2+} /kg bw and 10 μg Cr^{3+} /kg bw was added to the drinking water for all animals. Such activities were carried out 30 days for the profilation of the diabetes.

Three groups of animals were formed at the third stage of experimental studies: control and two research groups. Aqueous citric acid solution (1,25%) was added to the animals of second research group.

The experimental diabetes was induced on the backdrop of a 24-hour fasting by a single intraperitoneal administration of alloxan monohydrate (“Synbias”) in dosage 150 mg/kg body weight in 0,85% saline solution.

The influence of magnesium and chromium citrates on the activity of carbohydrate metabolism key enzymes and it's metabolites contents, content of total lipids and their classes, the lipid oxidation products and activity of antioxidant enzymes in the body of rats with experimental diabetes mellitus was investigated.

Concentration of insulin and C-peptide in blood plasma of rats with diabetes were significant decreased, but glucose concentration in blood plasma was significant increased. Nevertheless, under the influence of magnesium citrate, alone, and together with chromium citrates in the animals had shown significant increase of the insulin and C-peptide concentrations and, also, significant decrease of glucose concentration. Preferable normalizing effect during use magnesium citrates in dose 250 mg Mg^{2+} /kg and its complex with chromium in doses 25 μg Cr^{3+} /kg was observed.

In red blood cells, liver, muscles and pancreas of animals with alloxan diabetes decrease of the glucose-6-phosphate dehydrogenase activity was investigated. In return, decrease of the lactate dehydrogenase activity – terminal glycolytic enzyme in liver and pancreas, and increase of the lactate dehydrogenase activity in red blood cell and muscles was observed. Simultaneously increase L-lactate and decrease pyruvate in red blood cell and tissues of diabetic animals was observed. This may be due to increased hyperglycemia, which is a cause of the destruction of the pancreatic β -cell, and this is directly connected to the decreasing of insulin sensitivity and disturbers in secretion of this hormone. Increased glucose levels in the blood may be the result of deviation of intracellular glucose metabolism, reducing its utilization or lowering of synthesis and increase of the glycogen catabolism in the liver.

Application of the magnesium citrate (250 mg Mg^{2+}/kg bw) and its complex with chromium citrate (25 μg Cr^{3+}/kg bw) allowed to prevent the development of acute hyperglycemia, improve the content of metabolites and dynamics of the carbohydrate metabolism enzymes activity.

It was observed increase the content of total lipids, phospholipids, cholesterol and free fatty acids in blood plasma of diabetic rats. Albeit prophylactic use of magnesium and chromium citrates have promoted normalization of lipid metabolism in rat blood plasma under hyperglycemia.

Decrease the functional activity of antioxidant defence system and increase the lipid peroxidation in diabetic rats were established. This may be affirm that lipoperoxidation play a key role in pathogenesis of that disease. It was observed increase the content of lipid hydroperoxides and TBA-active products in blood plasma, liver and pancreas of alloxan-diabetic rats. It has been shown that oral introduction of macro- and micronutrient citrates compounds decrease the content of lipid peroxidation products.

Oxidative stress, as a result of experimental diabetes, has caused an imbalance in the activity of the antioxidant defence system and antioxidant enzymes. It was establish imbalance of superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, glutathione reductase activities and content of reduced glutathione in blood and tissues of alloxan-diabetic rats.

Addition to the diet of magnesium citrate (in doses of 100 and 250 mg Mg^{2+} /kg bw) and together with chromium citrate (in doses 250 mg Mg^{2+} /kg bw and 25 μg Cr^{3+} /kg bw) has been contributed to the improvement of the functional status of the glutathione defence system compared to these indexes in diabetic animals.

As a result of the conducted researches have been determine that magnesium and chromium citrates play considerable role in carbohydrate and lipid metabolism, antioxidant defense system in rats organism under experimental diabetes.

Pronounced antioxidant effect of magnesium and chromium citrate under diabetes was determined. That can be confirmed by decreased the content of lipid hydroperoxides and TBA-active products and increased antioxidant enzymes activity in rats organism. A new hypoglycemic aspects under investigation compound were determine. Citrate compound has intensified glycolysis by activate carbohydrate enzyme activity.

Effectiveness of the magnesium citrate on its own and in combination with chromium citrate on the metabolism in organism of rats with experimental diabetes was substantiated. It was proved that complex of the magnesium and chromium citrate can prevent and correction of metabolic disorders under diabetes mellitus.

The results of the work can become the basis for further multistage research for the creating a new remedy for the prevention and treatment of diabetes mellitus and hyperglycemia.

Key words: diabetes mellitus, magnesium citrate, chromium citrate, insulin, hyperglycemia, carbohydrate metabolism, lipid metabolism, oxidative stress, antioxidant defense system, rats.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	18
ВСТУП.....	19
Розділ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	26
1.1. Сучасні уявлення щодо патогенезу цукрового діабету та його ускладнень.....	26
1.2. Особливості вуглеводного обміну за цукрового діабету	31
1.3. Роль оксидативного стресу в розвитку ускладнень за цукрового діабету.....	34
1.4. Порушення ліпідного обміну за цукрового діабету	37
1.5. Основні особливості дії Магнію та Хрому та їх значення організмі...	39
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	47
2.1. Об'єкти та умови досліджень	47
2.2. Етапи досліджень.....	47
2.3. Моделювання аллоксанового цукрового діабету	49
2.4. Сполуки Магнію і Хрому, що використовувалися у дослідженнях.....	51
2.5. Приготування матеріалу для досліджень.....	51
2.6. Методи визначення показників у дослідженнях.....	52
2.6.1. Визначення активності ензимів та вмісту метаболітів деяких ланок вуглеводного обміну	52
2.6.2. Визначення вмісту продуктів пероксидного окиснення ліпідів.....	55
2.6.3. Визначення показників системи антиоксидантного захисту.....	57
2.6.4. Визначення концентрації загального протеїну.....	61
2.6.5. Визначення показників ліпідного обміну	61
2.6.6. Імуноензимний аналіз вмісту інсуліну та С-пептиду.....	63
2.6.7. Визначення вмісту Mg та Cr методом атомно-абсорбційної спектрофотометрії.....	64
2.7. Статистична обробка результатів.....	65
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	66

3.1. Вплив цитрату магнію у дозах 100, 250 та 500 мг $Mg^{2+}/кг$ на вуглеводний обмін в крові та тканинах щурів з ЦД _A	66
3.1.1. Вплив цитрату магнію на стан вуглеводного обміну в крові щурів із ЦД _A	66
3.1.2. Активність досліджуваних ензимів вуглеводного обміну в тканинах щурів із ЦД _A та за впливу цитрату магнію.....	70
3.2. Вплив цитрату магнію у дозах 100, 250 та 500 мг $Mg^{2+}/кг$ на процеси пероксидного окиснення ліпідів та активність антиоксидантної системи в крові та тканинах щурів із ЦД _A	73
3.2.1. Вплив цитрату магнію на інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів та активність ключових ензимів антиоксидантної системи в крові щурів із ЦД _A	74
3.2.2. Інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів та функціональний стан антиоксидантної системи в тканинах щурів із ЦД _A та за дії різних доз цитрату магнію	78
3.3. Вплив цитрату магнію у дозах 100, 250 та 500 мг $Mg^{2+}/кг$ на ліпідний обмін в організмі щурів з ЦД _A	86
3.4. Вплив цитрату магнію на вміст Магнію у тканинах нирок і печінки щурів з ЦД _A	91
3.5. Сумісний вплив цитратів магнію та хрому на концентрацію інсуліну, С-пептиду та глюкози в плазмі крові щурів за умов ЦД _A	92
3.6. Сумісний вплив цитратів магнію та хрому на вуглеводний обмін в організмі щурів за умов ЦД _A	95
3.6.1. Активність деяких ензимів вуглеводного обміну в крові щурів із ЦД _A та за сумісної дії цитратів магнію і хрому	95
3.6.2. Сумісний вплив цитратів магнію і хрому на показники вуглеводного обміну в тканинах щурів із ЦД _A	96
3.7. Сумісний вплив цитратів магнію та хрому на інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів та стан антиоксидантної системи в організмі щурів з ЦД _A	100

3.7.1. Інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів та активність ключових ензимів антиоксидантної системи в крові щурів із ЦД _A та за сумісного впливу цитратів магнію і хрому.....	100
3.7.2. Вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів та активність ключових ензимів антиоксидантної системи в тканинах щурів із ЦД _A та за сумісної дії цитратів магнію і хрому.....	104
3.8. Сумісний вплив цитратів магнію та хрому на ліпідний обмін у плазмі крові щурів з ЦД _A	110
3.9. Сумісний вплив цитратів магнію та хрому на вміст Хрому у тканинах нирок і печінки щурів з ЦД _A	113
3.10. Вплив лимонної кислоти на деякі ланки вуглеводного обміну та антиоксидантну систему крові та печінки щурів з ЦД _A	114
3.11. Кореляційні взаємозв'язки досліджуваних показників вуглеводного обміну, пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи в організмі щурів з ЦД _A та за впливу цитратів магнію та хрому залежно від рівня глікемії.....	118
РОЗДІЛ 4. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ...	123
ВИСНОВКИ.....	137
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	141
ДОДАТКИ.....	166

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ЦД	-	цукровий діабет
ЦД _A	-	аллоксановий цукровий діабет
АОЗ	-	антиоксидантний захист
АОС	-	антиоксидантна система
АФО	-	активні форми Оксигену
ГП	-	глутатіонпероксидаза
ГР	-	глутатіонредуктаза
GSH	-	відновлений глутатіон
GSSG	-	окиснений глутатіон
ГПЛ	-	гідроперекиси ліпідів
ПОЛ	-	пероксидне окиснення ліпідів
СОД	-	супероксиддисмутаза
H ₂ O ₂	-	гідроген пероксид
•O ²⁻	-	супероксиидний радикал
•НО	-	гідроксильний радикал
НОО ⁻	-	гідропероксидний радикал
LOO ⁻	-	гідропероксидний радикал пероксирадикали жирних кислот
NADP	-	нікотинамідаденіндинуклеотид-фосфат
NADPH	-	нікотинамідаденіндинуклеотид-фосфат відновлений
NAD ⁺	-	нікотинамідаденіндинуклеотиид
NADH	-	нікотинамідаденіндинуклеотиид відновлений
АТФ	-	аденозинтирифосфат
GAPDH	-	гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогеназа

ВСТУП

Актуальність теми. Цукровий діабет (ЦД) – є одним із найнебезпечніших захворювань XXI ст. Швидке зростання поширеності цього захворювання в усьому світі стало причиною надання Всесвітньою організацією охорони здоров'я (ВООЗ) ЦД статусу неінфекційної пандемії [47]. Останні статистичні дослідження показали, що у світі налічується близько 415 млн хворих на ЦД і їх кількість продовжує зростати. Кожні 13–15 років кількість людей із ЦД подвоюється, і до 2040 року, як прогнозується, становитиме близько мільярду хворих [166].

Цукровий діабет є гетерогенним клінічним синдромом, що характеризується ендокринними і метаболічними змінами, які впливають на гомеостаз. Основною ендокринною проблемою є інсулінорезистентність та порушення секреції інсуліну, і як наслідок його часткова або повна недостатність, що охоплює практично всі регуляторні системи організму і призводить до глибоких змін у метаболізмі вуглеводів, білків і ліпідів [206]. Подолання цих проблем відкриває перспективи не тільки вторинної профілактики ускладнень ЦД, але й первинної профілактики цього захворювання [59, 151].

Підбір адекватної цукрознижувальної терапії і досягнення бажаного ступеня компенсації захворювання у хворих на цукровий діабет має певні труднощі, що обумовлено саме значною гетерогенністю даного захворювання, як наслідок це утруднює пошук патогенетичного лікування в кожному конкретному випадку. Водночас, допомога хворим на ЦД має бути комплексною і, крім глікемічного контролю, потребує здійснення багатьох заходів, які спрямовані на усунення факторів ризику виникнення ЦД [224].

Експериментальні дослідження показали, що деякі вітаміни (В₁, В₃, С, D і Е), а також макроелементи (Кальцій, Магній) та мікроелементи (Цинк, Хром, Ванадій) володіють гіпоглікемічною дією за ЦД [201]. Проте даних літератури щодо механізмів сумісної дії мінеральних сполук, які входили б до складу

препаратів, що можуть бути використані для профілактики та лікування цукрового діабету, недостатньо.

Останнім часом зростає зацікавленість щодо можливої протекторної ролі Хрому та Магнію шляхом їх залучення до метаболічних процесів, які зазнають суттєвих змін за патологічних станів організму, що може відігравати важливу роль у профілактиці та лікуванні цукрового діабету та його ускладнень.

Як показано деякими авторами, певні есенціальні елементи можуть опосередковано брати участь у механізмах дії інсуліну та енергетичному обміні. Зокрема, Магній (Mg) заслуговує на увагу, оскільки залучений до різних ланок метаболізму як у нормі, так і за ЦД, хоча не всі аспекти впливу цього елемента з'ясовані. [164]. Не виключено, що Mg може позитивно впливати на систему антиоксидантного захисту (АОЗ), яка, як відомо, пригнічується за ЦД. Баланс прооксиданти/антиоксиданти корелює із вмістом Магнію в клітині [213]. Значна кількість ензимів, які беруть участь в гліколізі, дихальному ланцюзі та циклі Кребса і представляють собою ядро енергетичного метаболізму, є Mg-залежними. Магній може виступати як алостеричний модулятор або як кофактор у вигляді Mg-ATP²⁻ [237]. Встановлена тенденція до дефіциту цього макроелементу в пацієнтів з цукровим діабетом. Рівень Магнію в плазмі крові, як було показано, прямо пропорційний чутливості до інсуліну [128]. Дефіцит Магнію може призвести до порушення активності тирозинкінази рецептора інсуліну і збільшення вмісту внутрішньоклітинного Кальцію, що зумовлює розвиток резистентності до інсуліну [154, 155].

Також Магній володіє антиоксидантними властивостями, знищуючи вільні радикали, що можливо, впливає на швидкість спонтанної дисмутації супероксидного йона [156]. Крім того, було показано, що добавки Магнію можуть зменшити викликані діабетом порушення ліпідного обміну [105].

Не менш важливим є Хром тривалентний (Cr), який проявляє свій біологічний ефект через вплив на метаболізм глюкози, ліпідів та протеїнів [99]. Як стверджують деякі автори, похідне Хрому, хромодулін є біологічно активною його формою в організмі, і ця сполука здатна впливати на процеси

зв'язування інсуліну з його рецепторами, імовірно за рахунок їх активації [60, 233]. Експериментальними дослідженнями було показано, що дефіцит Хрому в організмі призводить до порушення толерантності до глюкози, але при додаванні Хрому до раціону це явище можна суттєво послабити [159].

Попри все, сьогодні є недостатньо експериментально обґрунтованих доказів використання Cr і Mg у профілактиці та лікуванні цукрового діабету, тому результати довготривалих випробувань необхідні для того, щоб оцінити корисну роль цих елементів [155]. Особливу зацікавленість викликає застосування цих сполук у вигляді карбоксилатів, синтезованих нанотехнологічним методом, оскільки вони проявляють високу біологічну активність і є нетоксичними. Тому дослідження можливих механізмів дії цитратів Mg і Cr необхідні для того, щоб оцінити їхню функціональну роль за умов розвитку цукрового діабету. Це у перспективі може бути теоретичною основою розробки нових методів чи засобів для попередження виникнення та лікування цього захворювання.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дослідження, що увійшли до дисертаційної роботи, є частиною науково-дослідної роботи лабораторії біохімії адаптації та онтогенезу тварин Інституту біології тварин НААН згідно з етапами «Дослідити вплив цитрату магнію на вуглеводний обмін та антиоксидантну систему щурів за умов гіперглікемії» (завдання 31.00.01.01 Ф, ДР № 0111U006159) та «Дослідити комплексний вплив цитратів хрому і магнію на метаболічні процеси в організмі щурів за умов гіперглікемії» (завдання 35.00.01.02 Ф, ДР № 0116U001407), у яких дисертантка була співвиконавцем і досліджувала метаболічні зміни вуглеводного та ліпідного обміну, гормональний і антиоксидантний статус, процеси пероксидного окиснення ліпідів за умов експериментального діабету та за впливу цитратів магнію і хрому.

Мета і завдання дослідження. Мета роботи – з'ясувати вплив цитратів магнію і хрому, синтезованих методом нанотехнології, на окремі ланки вуглеводного та ліпідного обміну, про/антиоксидантний статус у крові та

тканинах щурів з експериментальним алоксановим цукровим діабетом (ЦДА) для розробки нових підходів корекції метаболічних порушень.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити наступні завдання:

1. Дослідити вплив цитрату магнію окремо та сумісно з цитратом хрому на окремі ланки вуглеводного обміну в організмі щурів на тлі ЦДА;
2. З'ясувати вплив цитрату магнію окремо та сумісно з цитратом хрому на певні ланки ліпідного обміну в організмі щурів на тлі ЦДА;
3. Оцінити стан антиоксидантної системи та вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів у організмі щурів за впливу цитрату магнію окремо та сумісно з цитратом хрому на тлі ЦДА;
4. Визначити вміст інсуліну та С-пептиду у крові щурів за сумісного впливу цитратів магнію і хрому на тлі ЦДА.
5. Дослідити вплив лимонної кислоти на окремі ланки вуглеводного обміну та стан антиоксидантної системи в крові і тканинах щурів на тлі ЦДА.

Об'єкт дослідження – біохімічні процеси в організмі щурів за впливу різних доз цитратів магнію і хрому на тлі алоксанового цукрового діабету.

Предмет дослідження – окремі ланки вуглеводного, ліпідного та мінерального обміну, процеси ПОЛ і активність ензимів антиоксидантного захисту в крові та тканинах щурів за впливу різних доз цитратів магнію і хрому на тлі експериментального цукрового діабету.

Методи дослідження: біохімічні (визначення концентрації глюкози, лактату і пурувату, продуктів пер оксидного окиснення ліпідів, активність ензимів вуглеводного обміну та системи АОЗ), хроматографічні (визначення вмісту загальних ліпідів, класів ліпідів), атомно-адсорбційної спектроскопії (визначення вмісту Магнію і Хрому), імуноферментні (визначення концентрації інсуліну та С-пептиду) та статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше з'ясовано, що дія цитратів магнію і хрому за умов ЦДА залежить від дози і реалізується через їх дію на конкретні мішені, якими є досліджувані ланки вуглеводного та ліпідного

обміну, а також про/антиоксидантна система в крові й тканинах щурів. Отримані дані розширюють уявлення про механізми гіпоглікемічного впливу цих сполук. Встановлено виражену антиоксидантну дію цитратів Mg^{2+} і Cr^{3+} за досліджуваної патології. Про це свідчить зниження вмісту гідропероксидів ліпідів залежно від дози, ТБК-активних продуктів та часткова нормалізація активності досліджуваних ензимів антиоксидантного захисту в крові та тканинах тварин. Показано, що цитратні сполуки магнію і хрому, синтезовані методом нанотехнології, здатні виявляти гіпоглікемічний ефект за ЦД_A, вираженість якого залежить від дози. Більше того, застосування цих сполук зумовлює пригнічення анаеробного гліколізу та зниження вмісту L-лактату, тим самим сприяючи нормалізації аеробного гліколізу і, як наслідок, зниженню рівня глюкози в крові. Продемонстровано, що за дії досліджуваних сполук підвищується концентрація інсуліну і С-пептиду й знижується вміст холестеролу та загальних ліпідів у плазмі крові тварин за алоксанового цукрового діабету, що може свідчити про їх антиатерогенний ефект. Запропоновано метод застосування різних доз цитратів магнію та хрому з метою запобігання розвитку та корекції гіперглікемії, що може стати основою розроблення ефективних медичних засобів для профілактики та лікування цукрового діабету та його ускладнень.

Практичне значення одержаних результатів. У результаті проведених досліджень експериментально обґрунтовано позитивний вплив цитратів магнію і хрому на обмінні процеси в організмі щурів за умов цукрового діабету. Одержані результати дали змогу довести ефективність використання цитрату магнію, як окремо, так і сумісно з цитратом хрому для корекції метаболічних порушень, які виникають за наявності ЦД. Результати роботи стануть фундаментом подальших досліджень у напрямі створення нових гіпоглікемічних засобів для профілактики та лікування гіперглікемії, індукованої цукровим діабетом.

Практичним результатом роботи стала розробка способу сумісного застосування цитратів магнію і хрому для профілактики та лікування цукрового діабету, на яку отримано два патенти України на корисну модель.

Одержані в дисертаційній роботі результати впроваджені у навчальний процес кафедри біохімії біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка, кафедри біологічної хімії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького і кафедр медичної біохімії та функціональної і лабораторної діагностики ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України».

Особистий внесок здобувача. Автором особисто проведено патентно-інформаційний пошук, опрацьовано літературу за темою дисертаційної роботи, виконано експериментальну частину роботи (на базі Інституту біології тварин НААН), проведено аналіз отриманих результатів і їх обговорення, статистичне опрацювання матеріалу, оформлено та написано дисертаційну роботу. Дисертантка спільно з науковим керівником – д.б.н. Р. Я. Іскрою сформулювала робочу гіпотезу дослідження, основні положення, мету і завдання, обґрунтувала методичні підходи, сформулювала висновки, які виносяться на захист дисертаційної роботи. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, використано фактичний матеріал досліджень автора.

Апробація результатів досліджень. Основні результати дисертаційної роботи були представлені на конференції-конкурсі молодих вчених «Актуальні проблеми біохімії та біотехнології» (23–24 квітня 2015 р., 26–27 травня 2016 р., м. Київ); науково-практичній конференції молодих вчених «Молоді вчені у вирішенні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини» (3–4 грудня 2015 р., 8–9 грудня 2016 р., 8–9 грудня 2017 р., м. Львів); міжнародній науково-практичній конференції «Актуальні проблеми сучасної біології, тваринництва та ветеринарної медицини» (2–3 жовтня 2015 р., 29–30 вересня 2016 р., м. Львів); міжнародній науковій конференції «Актуальні проблеми сучасної біохімії», присвяченій до 100-річчя від дня

народження професора Б. Ф. Сухомлинова (16–18 листопада 2016 р., м. Львів); ІІ всеукраїнській науково-практичній інтернет-конференції з міжнародною участю «Нанотехнології у фармації та медицині» (19–20 квітня 2018 р., м. Харків); всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича «Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій» (12–13 квітня 2018 р., м. Харків); міжнародній конференції «The Central and Eastern European Conference on Health and the Environment 2018» (Krakow, June 10–14, 2018).

Публікації. За результатами досліджень опубліковано 22 наукові праці, в тому числі 9 статей (2 – у журналах, 7 – у вісниках) у фахових наукових виданнях, з яких 8 у міжнародних наукометричних базах даних, два патенти на корисну модель, методичні рекомендації і 10 тез доповідей на міжнародних і вітчизняних наукових конференціях.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація складається із вступу, огляду літератури, матеріалів і методів досліджень, результатів досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, списку використаних джерел і чотирьох додатків. Дисертацію викладено на 169 сторінці друкованого тексту (з них – 123 основного тексту) і проілюстровано 20 рисунками та 23 таблицями. Список використаних джерел налічує 240 найменувань (86 кирилицею, 154 латиницею).

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Сучасні уявлення щодо патогенезу цукрового діабету та його ускладнень

Цукровий діабет (ЦД) – це гетерогенна група метаболічних порушень, що характеризуються гіперглікемією, яка є результатом порушення секреції і/або дії інсуліну, що призводить до глюкозурії, а також виникнення порушень ліпідного, вуглеводного й протеїнового обмінів [12, 47, 169].

У даний час діабет є серйозною проблемою охорони здоров'я і займає третє місце серед серцево-судинних та онкологічних хвороб, які призводять до інвалідизації, і нерідко до смерті. За різними джерелами в світі налічується від 380 до 410 млн. хворих діабетом, що складає 2-3% від всього населення планети. За сьогоднішніми прогнозами кожні 15 років очікується двократне збільшення числа людей, які страждають на цукровий діабет [30, 47, 180].

Інтерес до вивчення механізмів виникнення цієї патології не згасає і спонукає науковців також до пошуків нових шляхів діагностики та лікування цукрового діабету і його ускладнень [133].

У розвитку патогенезу ЦД беруть участь ряд процесів: від автоімунного ураження β -клітин підшлункової залози з розвитком, у подальшому, відносного або абсолютного дефіциту інсуліну, до порушень, що спричиняють розвиток периферичної резистентності до дії інсуліну. Таким чином, за ЦД 1 типу, рівень інсуліну в крові значно нижчий, ніж у нормі, а за ЦД 2 типу рівень інсуліну, на початку захворювання, може знаходитися у межах норми, або навіть бути вищим. Цукровий діабет може розвинути як самостійне основне захворювання, тобто первинно, або ж внаслідок іншої патології, тобто вторинно. Враховуючи вищеописане, важливим є розділити різні типи цього захворювання.

Комітетом експертів ВООЗ (1999) запропоновано наступну етіологічну класифікацію цукрового діабету:

1. Цукровий діабет 1 типу (деструкція β -клітин, яка зазвичай призводить до відносної або абсолютної інсулінової недостатності), який поділяють на автоімунний та ідіопатичний.

Цукровий діабет 1 типу – імуноопосередкована форма захворювання, яка може бути індукована вірусною інфекцією (вірус Коксаки В3 і В4, епідемічний паротит, цитомегаловірус тощо), а також різноманітними стресовими факторами зовнішнього середовища на тлі спадкової схильності. Цей тип діабету зазвичай діагностується у 5–10% від загальної кількості хворих і проявляється найчастіше у осіб віком до 30 років, хоча може траплятися і в осіб похилого віку. Найчастіше хвороба проявляється між 11-м і 12-м роками життя. Цей тип ЦД характеризується не тільки його симптомами такими як спрага, голод і часте сечовипускання, але високим рівнем глюкози в крові [174].

Лабораторно ЦД 1 типу діагностується гіперглікемією та поліурією. Крім того, першим проявом захворювання на ЦД 1 типу може бути ацидоз. У стані явно вираженого клінічного кетоацидозу додатково спостерігають кетонурію та метаболічний ацидоз [3]. Для діабету 1 типу характерна гіпоінсулінемія (низька секреція інсуліну), що в подальшому супроводжується поступовим розвитком відносного або абсолютного дефіциту інсуліну. Це підтверджується низьким рівнем С-пептиду плазми або його повною відсутністю. Тому, лікування пацієнтів полягає у замісному введенні інсуліну.

ЦД 1 типу є наслідком автоімунного руйнування β -клітин підшлункової залози. Маркерами імунної деструкції β -клітин є аутоантитіла до різних структур острівців Лангергарса, які виявляються у крові більшості пацієнтів. У розвитку ЦД 1 типу важливу роль відіграють генетичні чинники: особи з антигенами DR3 і DR4 системи антигенів лейкоцитів (HLA) мають підвищену схильність до захворювання, хоча ймовірність розвитку захворювання у дітей, чий найближчі родичі хворіють на цукровий діабет, становить 5-10% [186].

Ідіопатичний цукровий діабет – це форма діабету, яка супроводжується руйнуванням β -клітин, інсуліновою недостатністю, проте без підвищення титру аутоантитіл. Дана патологія, поряд з аутоімунним підтипом, відноситься до цукрового діабету 1 типу. Вона частіше трапляється у пацієнтів африканського або азіатського походження. Хоча, до сих пір, є незрозумілим походження та патогенез цієї форми діабету, вона може бути пов'язаною з ліпотоксичністю, глюкозною токсичністю або транскрипційними факторами, що впливають на метаболізм. Характерними типовими симптомами ідіопатичного діабету 1 типу є діабетичний кетоацидоз, але його подальший клінічний перебіг часто нагадує діабет 2 типу [3].

Деструкція β -клітин підшлункової залози призводить до недостатнього вироблення організмом інсуліну, але при ідіопатичному цукровому діабеті 1 типу, синтез інсуліну знижується без органічних змін в залозі. Необхідність замісної терапії інсуліном у хворих на ідіопатичний цукровий діабет виникає періодично [98].

2. Цукровий діабет 2 типу (з переважаючою резистентністю до інсуліну) є гетерогенним захворюванням, основу якого становить інсулінорезистентність і порушення функції β -клітин, діагностується у людей 40 років і старших, які мають сімейну історію діабету [20, 174].

У 85% хворих на цукровий діабет 2 типу, як основа патогенезу, виявляється інсулінорезистентність, що обумовлена генетичними факторами (причому, генетична схильність до цього типу вища, ніж до цукрового діабету 1 типу) і деякими факторами зовнішнього середовища, а також особливостями способу життя пацієнта [12, 30]. Основними провокуючими факторами ризику є ожиріння, неправильний режим харчування, гіподинамія, стреси, літній вік [12].

Інсулінорезистентність обумовлена зниженою чутливістю, або реактивністю до метаболічної дії інсуліну і характеризується низьким рівнем поглинання глюкози периферичними тканинами організму, що є результатом резистентності клітин і тканин різних органів до цукрознижувальної дії цього гормону. Інсулінорезистентність призводить до компенсаторного посилення

секреції інсуліну β -клітинами, поки вони зберігають здатність до гіперсекреції інсуліну. При цьому базальна секреція інсуліну не змінена, але секреція інсуліну у відповідь на прийом їжі (прандіальна секреція інсуліну) згладжена і відтермінована. У результаті порушуються основні метаболічні процеси в організмі – вуглеводний, ліпідний та протеїновий обміни [12, 53].

Таким чином, інсулінорезистентність стає причиною виникнення двох важливих дефектів – компенсаторної гіперінсулінемії, яка збільшує інсулінорезистентність, і гіперглікемії [20].

Порушення секреції інсуліну або дії інсуліну часто наявні в одного і того ж хворого, тому іноді незрозуміло, яке порушення є первинною причиною гіперглікемії [44].

В основі патогенезу інсулінорезистентності лежать розлади функції внутрішньоклітинних протеїнів-транспортів глюкози (ГЛЮТ), внаслідок мутацій в генах, що кодують ці транспортери [30, 53]. Але не можна виключати інших чинників, в тому числі недостатнє забезпечення макро- та мікроелементами, які впливають на розвиток інсулінорезистентності.

3. Інші специфічні типи діабету:

а) генетичні дефекти функції β -клітин: цукровий діабет дорослого типу у молодих (діабет типу Mason), відоміший як MODY-діабет (від англ. maturity onset diabetes of the young) – неоднорідна група схожих за перебігом форм діабету з аутосомно-домінантним типом успадкування, обумовлених генетичними дефектами, що призводять до погіршення секреторної функції β -клітин підшлункової залози. Це захворювання можна умовно віднести до «проміжних» типів діабету: воно має риси, характерні для діабету 1 і 2 типів.

Захворювання виявляється у молодому віці (зустрічається приблизно у 5 % хворих на цукровий діабет), однак перебіг є легкий, як при діабеті 2 типу у дорослих, але часто без зниження чутливості до інсуліну. На відміну від пацієнтів із цукровим діабетом 1 типу, має низьку інсулінозалежність, рівень С-пептиду відповідає нормі, відсутній кетоацидоз.

З поглибленням знань визначення MODY-діабету звузилося, і в новій етіологічній класифікації MODY відносять до типів діабету, що пов'язаний з генетичним дефектом функціонування β -клітин, з розбивкою на підтипи відповідно до конкретного ураженого гена (MODY1-MODY9): MODY-1 (хромосома 20, ген HNF-4a); MODY-2 (хромосома 7, ген глюкокінази); MODY-3 (хромосома 12, ген HNF-1a) [225].

b) генетичні дефекти дії інсуліну (резистентність до інсуліну типу А; синдром Рабсона-Менденхолла; ліпоатрофічний діабет) – тип діабету, який виникає внаслідок мутацій генів, що кодують послідовність амінокислот у молекулі інсуліну, перетворення проінсуліну в інсулін, утворення рецепторів до інсуліну. Аномальні інсуліни не можуть взаємодіяти з рецепторами, проінсулін має тільки 5-10% інсулінової активності, при мутаціях рецептора порушується периферична дія гормону [48].

c) хвороби екзокринної частини підшлункової залози (панкреатит; фіброкалькульозна панкреатопатія, синдром Кушинга та інші);

d) цукровий діабет, індукований ліками та хімічними речовинами.

4. Гестаційний цукровий діабет – стан у вагітних, що характеризується розвитком гіперглікемії, що зазвичай спонтанно зникає після пологів. Гестаційний цукровий діабет в анамнезі багатьма фахівцями розглядається як «тривожний дзвіночок» щодо схильності жінки до цукрового діабету 2 типу або навіть як стан явного предіабету, навіть якщо після пологів параметри вуглеводного обміну у жінки повернулися до норми і ніяких ознак патології виявити не вдається. Таким чином, попри те, що ознаки цукрового діабету у вагітних самостійно зникають після пологів, у матері в майбутньому істотно підвищений ризик розвитку цукрового діабету 2 типу. Іноді гормональні зрушення в організмі вагітної, можуть сприяти розвитку істинного цукрового діабету. Як правило, це цукровий діабет 2 типу, в той час як розвиток цукрового діабету 1 типу зустрічається значно рідше [30, 44].

Таким чином, діабет – це захворювання, при якому метаболізм глюкози відіграє центральну роль. Високий рівень глюкози в крові є наслідком втрати

інсулінпродукуючих клітин підшлункової залози при діабеті 1 типу, або втрати нормальної реакції на інсулін клітин-мішеней, таких як м'язові та жирові клітини при діабеті 2 типу. Це призводить до серйозних клінічних ускладнень [206]. Проте розуміння механізмів протікання цього захворювання, вчасна діагностика, профілактика та лікування дадуть можливість запобігти розвитку хвороби особливо на початкових стадіях.

1.2. Особливості вуглеводного обміну за цукрового діабету

За гіперглікемії викликаній цукровим діабетом відбувається активація різних патогенетичних механізмів, внаслідок чого глюкоза не може повною мірою надходити до тканин, що викликає порушення їх функціонування. Однією із причин цього є часткове інгібування супероксидним радикалом ($O_2^{\bullet-}$) одного із ензимів гліколізу – гліцеральдегідфосфатдегідрогенази. Як наслідок, відбувається зміни напрямку перетворення всіх інших метаболітів (глюкози, фруктозо-6-фосфату, гліцеральдегід-3-фосфату) у бік альтернативних патологічних шляхів їх перетворення [54].

Так, за гіперглікемії включається збільшення потоку глюкози та інших цукрів через поліоловий шлях обміну глюкози, активація процесів глікозилювання (збільшується внутрішньоклітинне утворення кінцевих продуктів глікозилювання (AGEs), експресія рецепторів для AGE та його активуючих лігандів), активація ізоформ протеїнкінази C (PKC), а також підвищення активності гексозамінового шляху [110].

Гіперглікемія викликає у інсулін-незалежних тканинах активацію поліолового шляху перетворення глюкози. Поліоловий шлях потребує активності ензимів сімейства альдо-кеторедуктаз, які можуть використовувати в якості субстратів широкий спектр карбонільних сполук. Ключовим ензимом цього шляху є альдозоредуктаза, яка перетворює глюкозу в сорбітол із супутнім зниженням концентрації NADPH [42]. Оскільки NADPH є коензимом, необхідним для регенерації глутатіону – важливого компоненту глутатіонової

системи захисту і одного з основних скавенджерів активних форм Оксигену, це може викликати або посилювати внутрішньоклітинний оксидативний стрес [149].

У подальшому, сорбітол окиснюється до фруктози сорбітолдегідрогеназою, що може призвести до активації протеїнкінази С за рахунок збільшення співвідношення $\text{NADH} / \text{NAD}^+$ [108]. Незважаючи на те, що у результаті даних реакцій безпосередньо не виробляються АФО, проте відбувається порушення редокс-дисбалансу, що посилює оксидативний стрес.

Кінцеві продукти глікозилювання утворюються за рахунок неензиматичного перетворення сполук, одержуваних як з глюкози, так і за рахунок підвищеного окиснення жирних кислот [115].

Внутрішньоклітинне виробництво попередників AGE може пошкодити клітини трьома загальними механізмами. По-перше, внутрішньоклітинні білки, модифіковані AGE, мають змінену функцію. По-друге, позаклітинні матричні компоненти, модифіковані попередниками AGE, аномально взаємодіють з іншими матричними компонентами та матричними рецепторами (інтегринами), які експресуються на поверхні клітин. Нарешті, протеїни плазми, модифіковані попередниками AGE, зв'язуються з рецепторами AGE на таких клітинах, як макрофаги, стимулюючи утворення великої кількості прозапальних цитокінів (ТНФ α , ІЛ-1, ІЛ-6), вазоконстрикторів (ендотелін-1), молекул адгезії (ICAM-1, VCAM-1) та ростових факторів [152].

Протеїнкіназа С відноситься до сімейства протеїнкіназ, яке складається принаймні з одинадцяти ізоформ серин / треонінкіназ, що беруть участь у сигнальних шляхах, активованих фосфатидилсеріном, Кальцієм та особливо діацилгліцеролом (DAG) [147].

Активация РКС відбувається внаслідок інгібування активності внутрішньоклітинного гліколітичного ензиму гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогенази (GAPDH) [149]. Це зумовлене, перш за все, посиленням синтезу *de novo* DAG з глюкози через тріозофосфат, доступність якого збільшується, оскільки збільшується інгібувальна активність АФО, а також

підвищенням внутрішньоклітинних рівнів тріозофосфату попередника DAG [203].

Також припускають, що активація ізоформ РКС є наслідком взаємодії AGEs та їхніх клітинних рецепторів [203].

Головним чином, за гіперглікемії відбувається активація таких ізоформ РКС, як β і δ , проте також активується р38 α мітоген-активуюча протеїнкіназа (МАРК). Активація МАРК спричинює ряд каскадних реакцій, в результаті чого відбувається дефосфорилування β рецепторів тромбоцитарного фактора росту, зменшується сигналізування з боку даного рецептора, що призводить до апоптозу [147].

Внаслідок підвищення концентрації глюкози у клітині, надлишок фруктозо-6-фосфату з гліколітичного шляху використовується у гексозаміновому шляху, де стає субстратом для глутамін-фруктозо-6-фосфат амінотрансферази (GFAT). Внаслідок цього, фруктозо-6-фосфат перетворюється в УДФ-N-ацетилглюкозамін. Специфічні трансферази використовують утворену сполуку для пострансляційних модифікацій залишків серину і треоніну, що призводить до різноманітних внутрішньоклітинних пошкоджень, в тому числі і на генетичному рівні. Внаслідок цього зростає експресія трансформуючого фактора росту- β 1, інгібітора активатора плазміногену-1 і фактора росту тромбоцитів, що веде до посилення гемокоагуляції і розвитку судинної дисфункції [113].

1.3. Роль оксидативного стресу в розвитку ускладнень за цукрового діабету

Цукровий діабет, як загальний метаболічний розлад, характеризується надмірною глікемією, яка часто супроводжується поліфагією, полідипсією, поліурією та глюкозурією. Саме стійка гіперглікемія зумовлює підвищену продукцію вільних радикалів, особливо активних форм Оксигену (АФО): йонів, вільних радикалів і пероксидів, у всіх тканинах за рахунок аутоокиснення глюкози та глікозилування протеїнів [182].

Оксидативний стрес розглядається в якості невід'ємної складової патогенезу цукрового діабету та його специфічних і неспецифічних ускладнень (рис.1.1) [149].

Безпосередні компоненти оксидативного стресу – вільні радикали – можуть бути охарактеризовані як такі, що здатні до незалежного існування та такі, що містять один або більше неспарених електронів. У біологічних системах постійно генерується велика кількість різноманітних радикалів з різною реакційною здатністю в залежності від природи та типу молекули. Так, супероксидний аніон ($O_2^{\bullet-}$) утворюється ензиматчно завдяки NAD(P)H-оксидазам та ксантин-оксидазі або неензиматичним шляхом завдяки таким активним метаболітам, як семі-убіхінон мітохондріального дихального ланцюга. $O_2^{\bullet-}$ може конвертуватися ензиматично або неензиматично у гідроген пероксид (H_2O_2) та синглетний кисень (1O_2). У свою чергу, відносно малоактивний H_2O_2 стає джерелом високореактивного та агресивного гідроксильного радикалу ($\bullet OH$) у присутності металів з перемінною валентністю (іони Феруму, Купруму) через реакцію Фентона ($Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^- + \bullet OH$), або в присутності супероксидного аніону в реакції Хабер-Вайса ($H_2O_2 + O_2^{\bullet-} \rightarrow \bullet OH + O_2 + OH^-$) [158].

При неспроможності клітин подолати гіперпродукування АФО [180], порушуються механізми регуляції клітинної проліферації, міграції і сигналювання позаклітинного матриксу. Це, в свою чергу, може призвести до змін у цілісності та проникності клітинних мембран і внутрішньоклітинних органел, таких як мітохондрії, що впливає на йонний обмін, процеси окиснення та синтез протеїнів [173].

Активні форми Оксигену здатні індукувати процеси пероксидного окиснення ліпідів, що є додатковим фактором пошкодження біологічних мембран, а це відповідно є причиною серйозних метаболічних порушень функціонального стану різних органів і систем. Важливу роль у розвитку оксидативного стресу посідає забезпечення рівноваги про/антиоксидантного

балансу, зсув цієї рівноваги в бік прооксидантів викликає компенсаторну активацію антиоксидантної системи [37].

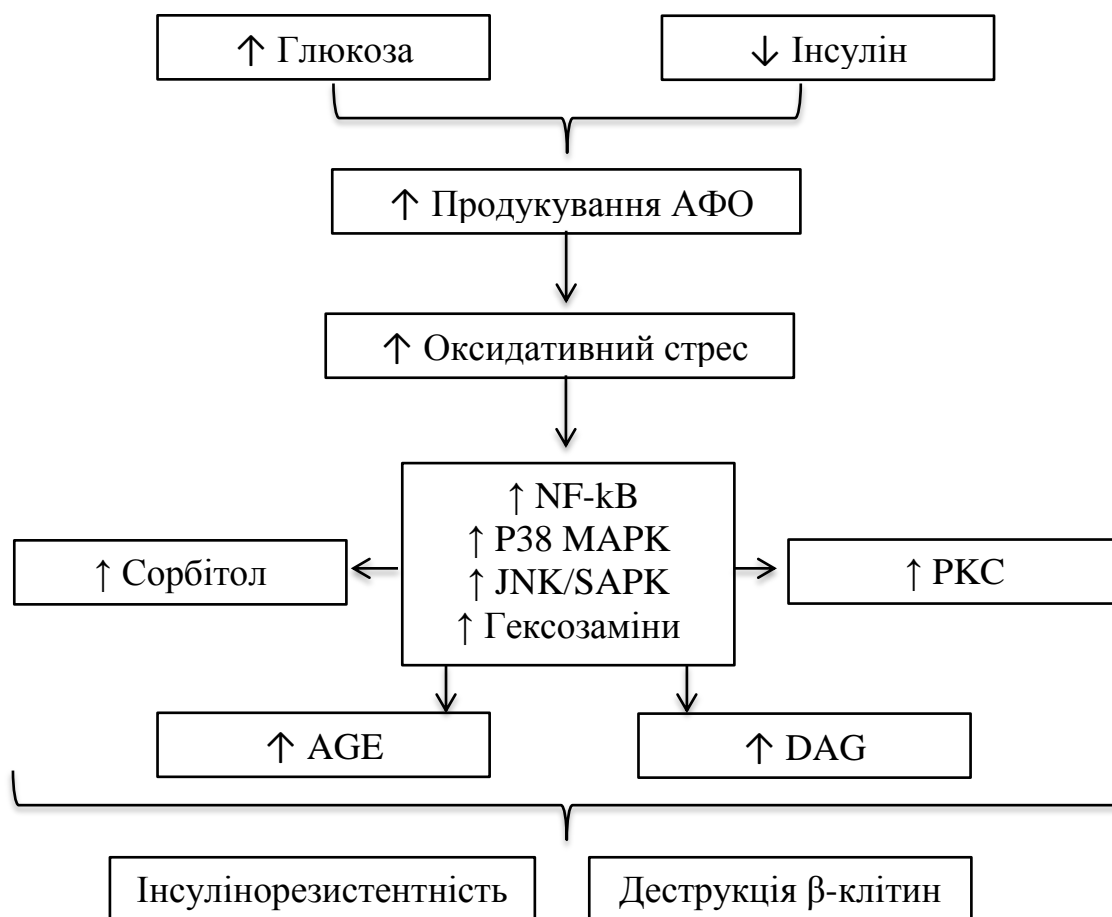


Рис. 1.1. Причинно-наслідковий зв'язок між гіперглікемією, мітохондріальною генерацією активних форм Оксигену, оксидативним стресом і розвитком діабетичних ускладнень

Головними ферментами, які забезпечують перетворення високореактивних сполук у менш реактивні є супероксиддисмутаза, глутатіонпероксидаза і каталаза. За надмірного продукування АФО, активність цих ферментів є недостатньою, що призводить до ще більшої продукції АФО.

Супероксиддисмутаза (СОД) є ферментом, який забезпечує першопочатковий захист від АФО. Цей фермент присутній практично у всіх клітинах організму і забезпечує перетворення $O_2^{\bullet-}$ у H_2O_2 . Мітохондріальна і бактерійна СОД містить Mn, тоді як цитозольна СОД є димером, яка містить Cu і Zn. Оскільки

H_2O_2 може надалі вступати в реакцію з іншими АФО, він деградується одним з двох інших антиоксидантних ензимів, глутатіонпероксидазою або каталазою.

Гідрогенпероксидаза локалізована у мітохондріях. Вона каталізує деградацію H_2O_2 за рахунок окиснення двох молекул глутатіону (GSH), з утворенням його дисульфіді (GSSG).

Регенерація глутатіону за допомогою глутатіонредуктази, потребує присутності NADPH, який окиснюється до $NADP^+$. Каталаза, з іншого боку, яка локалізована насамперед у пероксисомах, детоксифікує H_2O_2 , який дифундує з мітохондрій до цитозолу, перетворюючи його в воду та молекулярний Оксиген [139, 161].

Аномально високі рівні вільних радикалів і одночасне послаблення антиоксидантних захисних механізмів може призвести до порушення функцій протеїнів і ензимів, нуклеїнових кислот, посилення пероксидного окиснення ліпідів у клітинах [175].

Крім того, багаточисельні клінічні та експериментальні дослідження показали, що посилення оксидативного стресу в різних тканинах призводить до надлишкової гіперглікемії, зниження чутливості до інсуліну і пошкодження інсулінпродукуючих клітини підшлункової залози [174].

Розвиток резистентності до інсуліну за оксидативного стресу виникає внаслідок модифікації внутрішньоклітинних шляхів сигналізації, що супроводжується активацією стрес-чутливих сигнальних каскадів [136]. За таких умов відбувається активація транскрипційного ядерного фактора NF- κ B, p38 мітоген-активованої протеїнкінази (p38 MAPK), c-Jun NH_2 -термінальної кінази, гексозамінів тощо [135].

Доведено, що джерелами постійного та інтенсивного утворення вільних радикалів за умов ЦД є неензиматичні, ензиматичні та мітохондріальні шляхи. Неензиматичне джерело АФО пов'язано, в першу чергу, з гіперглікемією. Так, за умов високих концентрацій глюкоза аутоокислюється, що призводить до генерації агресивного радикалу $\cdot OH$ [109], крім того, процес неензиматичного глікозилювання протеїнів та взаємодія глікозилюваних продуктів із

специфічними рецепторами супроводжуються утворенням АФО на декількох стадіях [143]. Ензиматичні джерела АФО за умов ЦД, головним чином, реалізуються через залучення NO-синтази, NADPH-оксидази та ксантинооксидази [88]. Однак, за останніми даними, найвагомим є те, що ініціаторним джерелом вільних радикалів за умов ЦД є мітохондрії, які під впливом надлишку субстрату (глюкоза та вільні жирні кислоти) для окиснювального фосфорилування генерують супероксид-аніон у кількості, яку не здатні інактивувати захисні системи організму [207].

1.4. Порушення ліпідного обміну за цукрового діабету

Ліпіди – один з найважливіших класів складних біомолекул, присутніх в організмі. Вони відіграють важливу роль у життєдіяльності живих організмів і виконують найрізноманітніші функції. Ліпіди входять до складу клітинних мембран (структурні ліпіди: фосфоліпіди і холестерол), слугують попередниками стероїдних гормонів, жовчних кислот, простагландинів і фосфоінозитидів, є важливим джерелом енергії, що забезпечує життєдіяльність тварин навіть в умовах довготривалого голодування (резервні ліпіди – триацилгліцероли). Відомо, що при окисненні ліпідів звільняється в 2 рази більше енергії, ніж при окисненні протеїнів і вуглеводів [21].

За умов цукрового діабету, який супроводжується інсулінорезистентністю і супутньою гіперінсулінемією, глюкоза метаболізується в жирні кислоти (ЖК) з подальшим синтезом жирів і відкладенням їх у жировій тканині. ЖК у підвищеній концентрації знижують активність ліпопротеїнліпази та інших ензимів у тканинах і посилюють їхню резистентність до інсуліну. Оскільки печінка відіграє ключову роль в обміні ліпідів у організмі, забезпечуючи інтенсивний біосинтез та перетворення основних груп ліпідів, у тому числі й ЖК, використовуючи їх як енергосубстрат, вона починає синтезувати велику кількість триацилгліцеролів (ТГ) [66].

Діабетична дисліпідемія може виникати вже на стадії предіабету, внаслідок порушення толерантності до глюкози, поряд з інсулінорезистентністю. Супутня інсулінорезистентність призводить до посилення ліполізу і вивільнення значної кількості вільних ЖК із жирової тканини, внаслідок чого розвивається гіпертригліцеролемія. Це у поєднанні з гіперглікемією зумовлює підвищений синтез ліпопротеїнів дуже низької щільності (ЛПДНЩ), збагачених триацилгліцеридами, а також підвищення рівня окиснених, глікозильованих і "малих" ліпопротеїнів. У свою чергу, висока концентрація ТГ призводить до зниження рівня антиатерогенних ліпопротеїнів високої щільності через прискорення їхнього розпаду і сповільнення синтезу в умовах порушеної активності ліпопротеїніліпази [218].

Гіперглікемія, яка виникає за цукрового діабету, зумовлює глікозилювання апопротеїну В, порушення розпізнавання, зв'язування апопротеїну В ЛПНЩ з рецепторами печінки та їх вивільнення з організму природним шляхом. У цьому випадку глікозилювані ЛПНЩ, не розпізнаються специфічними ЛПНЩ-рецепторами, а потрапляють до специфічних скавенджер-рецепторів на макрофагах, що з часом призводить до формування пінистих клітин та атеросклеротичних бляшок [210].

За цукрового діабету, характерним є активація вільнорадикальних реакцій (ВР), що супроводжується накопиченням в організмі продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) і, як наслідок, посилюється окиснювальне пошкодження мембранних структур.

Ліпіди є субстратами для вільнорадикальних реакцій і легко піддаються модифікаціям з боку АФО. Одним із основних субстратів, в першу чергу, виступають молекули поліненасичених жирних кислот, ліпідні компоненти ЛПНЩ і ЛПДНЩ та фосfolіпіди. Цей процес називається пероксидне окиснення ліпідів, де $\cdot\text{OH}$ та $\cdot\text{O}_2$ утворюють гідрпероксили ліпідів (ГПЛ) або дієнові кон'югати, які в подальшому метаболізуються у вторинні – малоновий діальдегід і третинні продукти пероксидного окиснення ліпідів – шиффові основи [13].

Гідропероксидні продукти здатні пошкоджувати плазматичні мембрани, або можуть проникати в інші клітини організму і цим самим зумовлювати проникність судин та зумовлювати запальний процес шляхом зв'язування з рецепторами LOX-1 (з *англ.* Lectin-like oxidized low-density lipoprotein (LDL) receptor-1) та рецепторами апоптозу [114]

Відомо, що пероксидні радикали, видаляючи Гідроген з ліпідів, виробляють гідроперокси, які далі залучаються у вільнорадикальні процеси [172]. Крім того, гідроперокси мають токсичний вплив на клітини як безпосередньо, так і через деградацію на високотоксичні гідроксильні радикали. Вони також можуть взаємодіяти з перехідними металами, такими як Ферум або Купрум, для утворення стійких альдегідів, які пошкоджують клітинні мембрани [217].

Таким чином, підвищений рівень пероксидного окислення ліпідів має безпосередній тісний зв'язок з високим рівнем глікемії та оксидативним стресом при цукровому діабеті [100].

1.5. Основні особливості дії Магнію та Хрому та їх значення організмі

Магній (Mg) є найбільш необхідним і поширеним внутрішньоклітинним двовалентним катіоном, який присутній в живих організмах [154, 156].

Магній бере участь у більш ніж 300 метаболічних реакціях і відіграє істотну роль в широкому діапазоні основних біологічних процесів. Зокрема, він виконує важливу роль в біоенергетиці, оскільки комплекс Mg^{2+} -АТФ необхідний для багатьох ключових ензимів гліколізу, циклу Кребса і глюконеогенезу. В організмі близько 90% внутрішньоцелюлярного Магнію зв'язано з АТФ. Оскільки, однією із функцій Магнію є утворення комплексу з АТФ, існує досить складний зв'язок між вмістом внутрішньоклітинного Магнію і концентрацією у клітині АТФ. Зниження вмісту АТФ у клітині може частково пояснити зниження в ній вмісту Магнію. З іншого боку, зниження в клітині концентрації АТФ призводить до зменшення утворення зв'язків Магнію з АТФ

(Mg-АТФ), що можливо, зумовлює підвищення внутрішньоклітинного вмісту Магнію [101]. Крім того, Магній є необхідним для синтезу внутрішньоклітинного антиоксиданту – глутатіону [103].

Утворення і використання АТФ залежні від Mg, таким чином, такі процеси як синтез усіх протеїнів (включаючи ензими і гормони), нуклеїнових кислот, нуклеопротеїнів, нуклеотидів, ліпідів і вуглеводів, а також активація форміату, ацетату і сульфату, перетворення метильних груп також перебувають в безпосередній залежності від вмісту цього елемента у клітині [157].

Магній бере участь у стабілізації рибосом, за рахунок чого вони не піддаються деградації, і тим самим не переривається біосинтез поліпептидів. Таким чином, високі концентрації Магнію і фосфату у клітині є фізіологічно важливими [140].

Магній необхідний для підтримання глюкозного балансу на декількох рівнях. Крім того, він відіграє важливу роль в дії ензимів, які залучені в окиснення глюкози і може відігравати роль у вивільненні інсуліну, підтримує здатність β -клітин підшлункової залози до продукування цього гормону (дефіцит Магнію може призвести до атрофування β -клітин). Магній здатний збільшувати афінність і число інсулінових рецепторів, ділянок на поверхні клітин, які взаємодіють із інсуліном, і цим самим, змінюють чутливість β -клітин острівців Лангерганса до глюкози, забезпечуючи її проникнення всередину клітини. Магній, в основному, представлений внутрішньоклітинно, а інсулін безпосередньо стимулює його поглинання [154, 156].

Магній також може впливати на кіназну активність фосфорилази b шляхом вивільнення глюкозо-1-фосфату з глікогену. Крім того, Магній може безпосередньо впливати на активність транспортера глюкози – GLUT4, що допомагає регулювати процеси перенесення глюкози в клітину [104, 132, 194, 208].

Внутрішньоклітинний Магній відіграє важливу роль в регуляції дії інсуліну, а також в інсулін-опосередкованому поглинанні глюкози. Низький вміст Магнію в організмі призводить до порушення гомеостазу глюкози та

інсулінової чутливості, зокрема у пацієнтів із цукровим діабетом 2 типу. Резистентність до інсуліну – основний фактор ризику діабету 2 типу – також пов’язана із зниженням внутрішньоклітинного Mg і може полегшуватись достатнім його надходженням в організм. Зокрема, було показано, що резистентність до інсуліну в скелетних м’язах можна зменшити шляхом введення Магнію. Крім того, низький вміст цього елемента у сироватці крові безпосередньо може вказувати на розвиток цукрового діабету [196, 234].

Зниження внутрішньоклітинного вмісту Магнію призводить до порушень у активності інсулінової тирозинкінази, пошкодження пострецепторної дії інсуліну, а також погіршення резистентності до інсуліну. Так, було показано, що низький вміст Магнію в еритроцитах призводить до зростання в’язкості мембран, що може погіршувати зв’язування інсуліну із його рецепторами [219].

Від внутрішньоклітинного і позаклітинного вмісту Mg безпосередньо залежить вміст у клітині інсуліну і глюкози, які, в свою чергу, є важливими регуляторами метаболізму цього макроелементу [154]. Результати багатьох досліджень вказують, що інсулін модулює активність механізмів, які відповідають за йонний транспорт у клітинах: регулює концентрацію внутрішньоклітинного Магнію, шляхом активації $\text{Na}^+/\text{Mg}^{++}$ помпи плазматичної мембрани, внаслідок чого Магній поглинається із крові у клітини, де він найбільш необхідним. Було показано, що за гіперінсулінемії спостерігався низький внутрішньоклітинний рівень Магнію в організмі [138].

Проте, також, існує взаємозв’язок між концентрацією Магнію у клітині і активністю інсуліну. Так як Магній є необхідним кофактором у всіх реакціях перенесення АТФ, то звідси випливає, що концентрація внутрішньоклітинного Магнію має вирішальне значення в фосфорилуванні рецептора інсуліну [216]. Це підтверджується дослідженнями, у яких було показано, що у щурів, яких утримували на дієті з низьким вмістом Магнію, знижувалась тирозинкіназна активність рецепторів м’язової тканини [211]. Це підтверджує те, що нестача Магнію безпосередньо впливає на прояв дії інсуліну.

Оскільки, однією з найбільш поширених причин дефіциту Магнію в організмі є цукровий діабет, у 13,5-47,7% хворих (діабет 2 типу) відмічається гіпомагніємія [189, 194]. Знижені рівні Магнію за діабету обумовлені кількома чинниками: нечутливістю до інсуліну, що в свою чергу впливає на транспорт елементу, а також метаболізм глюкози; підвищена ниркова екскреція Магнію, в результаті підвищеної екскреції глюкози; дієти, які призводять до недостатності Магнію [184].

Зв'язок між дефіцитом Магнію і розвитком діабету підтверджується тим спостереженням, що деякі методи лікування цукрового діабету 2 типу полягають у підвищенні рівня Магнію. Так, наприклад, метформін підвищує рівень Магнію в печінці. Піоглітазон, антидіабетичний агент типу тiazолідиндіонів, який підвищує чутливість до інсуліну, збільшує концентрацію вільного Магнію в адипоцитах [183].

Недавні дослідження показали, що споживання Магнію обернено пропорційне частоті виникнення цукрового діабету 2 типу. Цей факт дозволяє припустити, що підвищене споживання продуктів багатих Магнієм, таких як зерно, боби, горіхи і зелені листові овочі можуть знизити ризик розвитку діабету [121, 142, 168].

Крім того показано, що на фоні достатнього внутрішньоклітинного вмісту Магнію, суттєво знижується рівень триацилгліцеролів [240], а це, в свою чергу, знижує вміст ліпопротеїнів дуже низької щільності і ліпопротеїнів низької щільності [195].

Хром (Cr), зокрема шестивалентний, багато років був відомий як елемент, що має виражений алергічний, нейротоксичний і канцерогенний ефекти [36]. Лише недавно була виявлена позитивна дія тривалентного Хрому на організм. В організмі людини міститься від 6 до 12 мг Cr (III), хоча з віком кількість його в організмі знижується. Значна кількість його сконцентрована в шкірі, а також в кістковій тканині. Слід зазначити, що в плазмі та сироватці крові міститься тривалентна фракція Хрому, а в еритроцитах – шестивалентна, що виявлено у результаті токсикологічного дослідження [52].

Після всмоктування у шлунково-кишковому тракті Хром (III) транспортується до клітин трансферином. Трансферин – протеїн сироватки крові, у якому до 30 % належить Феруму, а решта – містить інші іони [89]. Між іонами Хрому (Cr^{3+}) і Феруму (Fe^{3+}) існує конкуренція за зв'язування із трансферином. За низького рівня насичення молекули цього транспортера Ферумом, іони Cr^{3+} і Fe^{3+} займають різні сайти зв'язування, за вищих концентрацій Феруму іони Cr^{3+} і Fe^{3+} конкурують за них [59].

Перенесення Cr з крові в інсулін-залежні клітини за допомогою трансферину відбувається внаслідок перетворення неактивної форми рецептора інсуліну (IR) в активну форму, шляхом зв'язування інсуліну. Зокрема, Хром надходить у клітини шляхом ендоцитозу, де вивільняється з трансферину. У клітині чотири атоми Cr зв'язуються із олігопептидом апохроммодуліном (apoLMWCr, неактивний хромодулін) [123]. В результаті цього утворюється низькомолекулярна хром-зв'язуюча речовина (LMWCr), також відома як хроммодулін – олігопептид, який здатен транспортувати Хром в організмі [226]. Він складається з чотирьох амінокислотних залишків: аспартату, цистеїну, глутаміну і гліцину, які пов'язані з чотирма іонами Cr^{3+} [137, 228]. LMWCr зв'язується з внутрішньоклітинною частиною рецептора інсуліну – тирозинкіназою, активуючи її, що сприяє підтриманню рецептора в активному стані, тим самим підсилюючи ефект інсуліну [95, 96]. Здатність LMWCr активувати тирозинкіназу рецептора інсуліну залежить від вмісту в ньому Хрому. Коли концентрація інсуліну падає, LMWCr, можливо, вивільняється з клітини, щоб припинити свою дію [126]. Є припущення, що LMWCr в присутності інших іонів чи за відсутності тривалентного Хрому неефективний [230].

Докази існування хроммодуліну виходять з того, що видалення з крові ^{51}Cr перевищує швидкість надходження ^{51}Cr в сечу [232]. Це вказує на те, що транспортування Cr^{3+} повинне включати проміжний продукт (тобто Хроммодулін) і що Cr^{3+} переміщається з крові в тканини у відповідь на підвищення рівня інсуліну [229, 232].

Експериментальні дані показали, що зв'язування Cr^{3+} з хроммодуліном є міцним і висококооперативним [231]. Дослідження *in vitro* показали, що апохроммодулін проявляє свою максимальну активність до рецепторів інсуліну при титруванні 4 еквівалентів Cr^{3+} [117].

Хроммодулін є досить специфічним для Cr^{3+} , тоді як ніякі інші метали не здатні стимулювати активність тирозинової кінази. Дослідження вказують на те, що з хроммодуліном зв'язується саме трьохвалентний Хром [227]. Крім того, дослідження показали, що Хром не зв'язується з жодною з N-кінцевою аміногрупою, а скоріше з карбоксилатами (хоча точні амінокислоти, наразі невідомі) [229].

Оскільки хроммодулін може зв'язуватися з інсуліновим рецептором, підтримуючи його активну конформацію, ампліфікує гормональний сигнал і стимулює кіназну активність, то він діє як частина системи трансдукції сигналу від інсуліну [230, 233].

Крім того, вважається, що Хром має здатність інгібувати активність ензиму, який відщеплює фосфат від рецептора інсуліну, що призводить до зниження його чутливості [127].

Один з біологічних ефектів Хрому пов'язаний з його впливом на так званий фактор толерантності глюкози (Glucose Tolerance Factor, GTF), оскільки цей мікроелемент є важливим компонентом даного низькомолекулярного органічного комплексу. Так, було показано, що активність GTF падає при нестачі Хрому і відновлюється після ліквідації дефіциту даного мікроелементу в організмі. Фактор толерантності глюкози є сполукою, яка містить у своєму складі Хром, нікотинову кислоту і три амінокислоти: гліцин, глютамінову кислоту і цистеїн [178]. Фактор толерантності глюкози нормалізує проникність клітинних мембран для глюкози, процеси використання її клітинами та депонування, здатний посилювати окислення глюкози до CO_2 , і в цьому плані функціонує спільно з інсуліном [177].

Найголовніше значення Хрому (III) для організму – це його участь у вуглеводному обміні, оскільки він є важливим мікроелементом для метаболізму

вуглеводів і жирів. На тлі дефіциту Хрому (III) розвивається синдром порушення толерантності до глюкози, що супроводжується гіперглікемією і глюкозурією, спостерігається знижене поглинання глюкози і її утилізація шляхом ліпогенезу, підвищується утворення CO₂ і знижується синтез глікогену. Крім того, за дефіциту Хрому (III) у тварин порушується здатність включення амінокислот гліцину, серину, метіоніну і аміно-ізомасяляної кислоти в серцевий м'яз [33].

Припускають, що недостатність Хрому є фактором, який сприяє розвитку цукрового діабету 2 типу внаслідок погіршення толерантності до глюкози [160, 222]. Так, було показано, що у пацієнтів із цукровим діабетом 2 типу спостерігались вища екскреція Хрому із сечею порівняно із здоровими людьми [181].

Встановлено, що дефіцит Хрому також проявляється гіперглікемією, гіперінсулінемією, зниженням кількості інсулінових рецепторів та підвищенням концентрації холестеролу і триацилгліцеролів у плазмі крові [120, 124, 176].

Завдяки Хрому покращується зв'язування інсуліну з його рецептором, збільшується число інсулінових рецепторів на плазматичній мембрані та інтерналізація інсуліну, чутливість β-клітин, із загальним збільшенням чутливості до інсуліну та активації гормону. Дослідження показали, що Хром покращує передачу сигналів від інсуліну на рецепторному і пост-рецепторному рівнях, що призводить до збільшення споживання глюкози шляхом збільшення активності GLUT 4 переносника, що супроводжується посиленням транспорту глюкози у клітини [87, 118].

Таким чином, Хром – важливий мікроелемент в організмі людини і тварин, який потрібний для нормального обміну вуглеводів, ліпідів та протеїнів через здатність впливати на функціонування інсулінового рецептора і підсилювати ефекти інсуліну в усіх метаболічних процесах, регульованих цим гормоном [159, 227, 233].

Невиключено, що гіперглікемія, індукована розвитком цукрового діабету в організмі, може мати свої особливості прояву, що може бути обумовлено специфічністю перебігу метаболічних процесів у тих чи інших тканинах. Як наслідок, відбуваються зміни перебігу ключових процесів вуглеводного та ліпідного обмінів, а також зміни у діяльності регуляторних систем в результаті порушення гомеостазу в цілому організмі. Проте, на даний час це питання залишається недостатньо з'ясованим. У зв'язку з цим, дослідження застосування цитратів елементів, можуть сприяти більш ґрунтовному розумінню механізмів їх залучення до корекції метаболічних процесів, зміни у яких відбуваються за умов розвитку цукрового діабету. Тому, необхідними є подальші дослідження, які дозволять поглибити уявлення ролі цих елементів, виявити основні мішені їхньої дії та встановити більш ефективні дози, що сприятимуть профілактиці та лікуванню цукрового діабету.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Об'єкти та умови досліджень

Дослідження за темою дисертаційної роботи виконані в 2015-2017 роках у відповідності з планами науково-дослідних робіт лабораторії біохімії адаптації та онтогенезу тварин (акредитація № 021/біол.) Інституту біології тварин НААН. Дослідження проводили на білих лабораторних щурах лінії Вістар у віварії за постійного температурного режиму (20-25°C), вологості (40-45%) та освітлення з дотриманням загальних етичних принципів проведення експериментів на тваринах згідно з “Загальними принципами роботи на тваринах”, затвердженими I Національним конгресом з біоетики (Київ, Україна, 2001) і погодженими з положеннями “Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, які використовують в експериментальних та інших наукових цілях” (Страсбург, Франція, 1985). Дослідні тварини мали вільний доступ до комбікорму (з розрахунку добової потреби) та води (з розрахунку 20 мл води на одного щура на добу). Кількість спожитого комбікорму визначали за його залишком у годівниці. Контроль за ростом і розвитком тварин проводили шляхом зважування їх на початку та в кінці дослідів.

2.2. Етапи досліджень

Згідно поставлених завдань дисертаційної роботи експериментальна частина роботи включала три етапи досліджень (рис. 2.1).

Метою першого етапу досліджень було з'ясувати оптимальну дозу Магнію, у цитратній формі, яка б проявляла найбільш позитивний вплив на досліджувані ланки метаболічних процесів за умов розвитку та перебігу ЦДА.

З огляду на вищезазначене, завданням першого етапу експериментальних досліджень було вивчити вплив різних доз цитрату магнію (100, 250, 500 мг Mg^{2+} /кг маси тіла) на окремі показники вуглеводного та ліпідного обмінів, інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів, стан антиоксидантної системи в організмі щурів за умов ЦДА. Для цього було підібрано п'ять груп щурів: контрольна (КГ) і чотири дослідні (по 5 тварин у кожній) лінії Вістар, масою 130-150 г та однакового віку. Тваринам другої (ДГ2), третьої (ДГ3) та четвертої (ДГ4) дослідних груп протягом 30 діб, з моменту постановки досліду, разом із питною водою давали цитрат магнію ($C_6H_6O_7Mg$) у дозах 100 мг Mg^{2+} /кг маси тіла (0,46 мг Mg^{2+} на 1 мл води), 250 мг Mg^{2+} /кг маси тіла (1,42 мг Mg^{2+} на 1 мл води) і 500 мг Mg^{2+} /кг маси тіла (2,8 мг Mg^{2+} на 1 мл води), відповідно.

Метою другого етапу досліджень було з'ясувати найбільш ефективну сумісну дозу цитратів магнію та хрому, необхідну для попередження розвитку та перебігу ЦДА. На основі численних експериментальних досліджень щодо впливу неорганічних і органічних сполук Хрому на організм тварин, які проводили у лабораторії біохімії адаптації та онтогенезу тварин, було підібрано наступні дози цитрату хрому: 25 мкг Cr^{3+} /кг маси тіла та 10 мкг Cr^{3+} /кг маси тіла.

Згідно з поставленою метою, завданням другого етапу досліджень було вивчити сумісний вплив оптимальної дози цитрату магнію (визначеної в першій серії досліджень – 250 мг Mg^{2+} /кг маси тіла) та цитрату хрому (у дозах 25 мкг Cr^{3+} /кг маси тіла та 10 мкг Cr^{3+} /кг маси тіла) на окремі показники вуглеводного та ліпідного обмінів, інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів, стан антиоксидантної системи, концентрацію інсуліну та С-пептиду в організмі щурів за умов ЦДА. Для виконання поставленого завдання було сформовано чотири групи тварин (контрольна і три дослідні) по 5 щурів у кожній, масою 130-150 г та однакового віку. Тваринам другої (ДГ2) і третьої (ДГ3) дослідних груп, протягом 30 діб експерименту, до питної води одночасно додавали цитрат магнію ($C_6H_6O_7Mg$) і цитрат хрому ($C_6H_5CrO_7$) у дозах, відповідно, другій групі – 250 мг Mg^{2+} /кг маси тіла (1,42 мг Mg^{2+} на 1 мл води) і 25 мкг Cr^{3+} /кг маси тіла (0,142 мкг Cr^{3+} на 1 мл води); третій групі – 250 мг Mg^{2+} /кг маси тіла (1,42 мг Mg^{2+} на 1 мл води) і 10 мкг Cr^{3+} /кг маси тіла (0,057 мкг Cr^{3+} на 1 мл води).

У зв'язку з тим, що досліджувані елементи вводили у вигляді солей лимонної кислоти, було вирішено з'ясувати вплив цієї кислоти на окремі ланки метаболізму у крові та печінці тварин з ЦД_A. З огляду на це, був проведений третій етап експериментальних досліджень. Для вирішення цього питання було сформовано контрольну і дві дослідних групи тварин (по 5-ть щурів у групі). Тварини третьої дослідної групи (ДГ3) протягом 30 діб споживали 1,25% водний розчин лимонної кислоти [97, 185, 215, 238].

На 30 добу досліджень першого, другого і третього етапів експериментальних досліджень тварин виводили з експерименту за легкого ефірного наркозу шляхом декапітації. Матеріалом для біохімічних досліджень слугували кров (як антикоагулянт використовували гепарин), печінка, скелетні м'язи, нирки і підшлункова залоза.

2.3. Моделювання алоксанового цукрового діабету

З метою індукції експериментального цукрового діабету тваринам усіх дослідних груп першого, другого і третього етапів досліджень на тлі 24-годинного голодування на 21-шу добу, з моменту постановки досліду, одноразово внутрішньоочеревинно було введено розчин алоксан моногідрату ("Синбіас", Україна) з розрахунку 150 мг (у 0,85% фізіологічному розчині) на 1000 г маси тіла тварини. Алоксан зумовлює селективне руйнування β -острівців клітин Лангергарса підшлункової залози, що в кінцевому підсумку призводить до некротичної загибелі клітин [133]. Тривалість ЦД_A становила 10 діб, з моменту введення діабетогенної речовини. Для підтвердження гіперглікемії проводилось щодобове вимірювання глюкози крові, зібраної з хвостової вени, за допомогою портативного глюкометра ("Gamma-M"). Для експерименту використовували тварин з концентрацією глюкози від 14 ммоль/л до 23 ммоль/л.

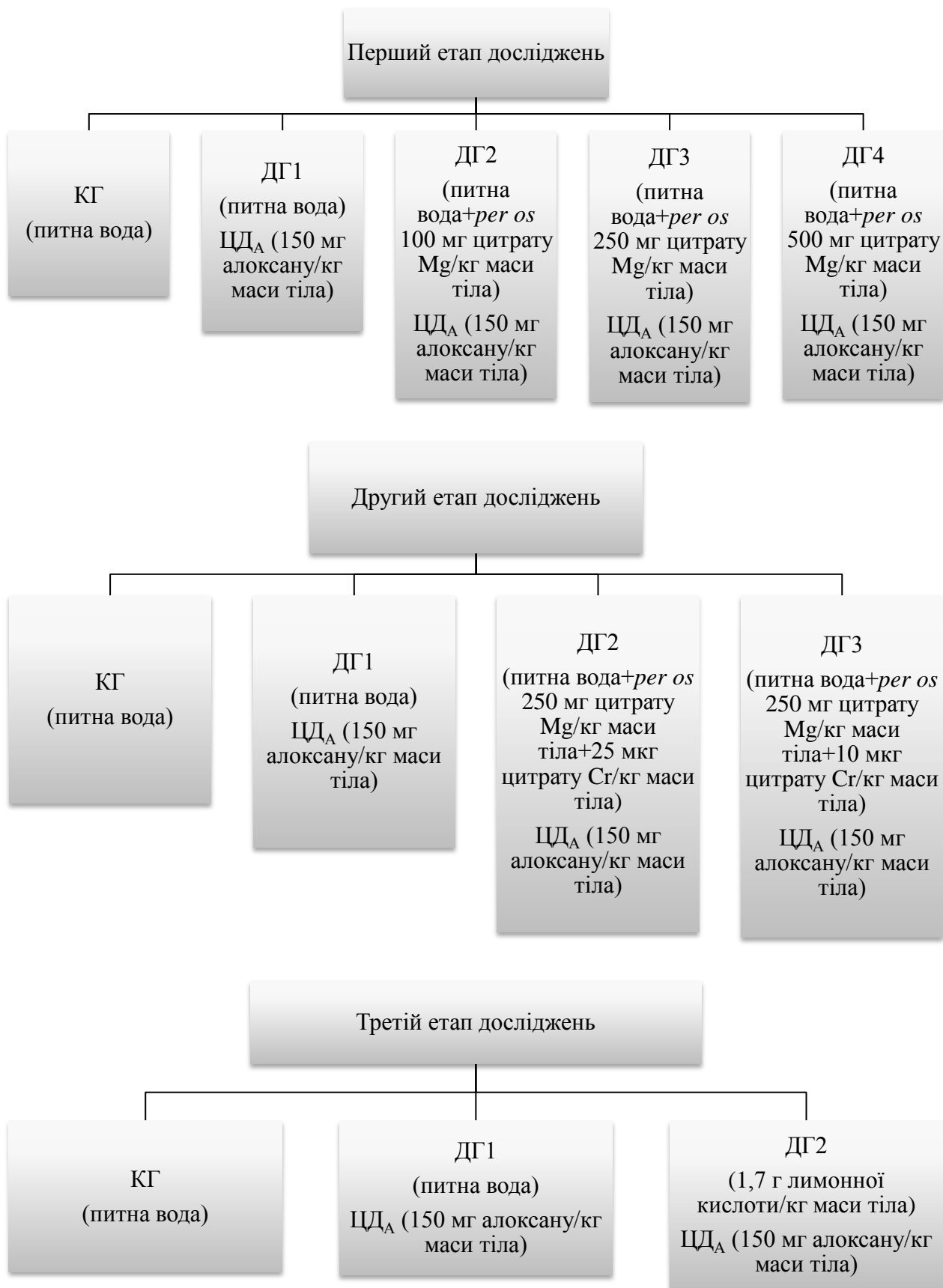


Рис.2.1. Схема експериментальних досліджень

2.4. Сполуки Магнію і Хрому, що використовувалися у дослідженнях

У дослідженні використовували цитрат магнію та цитрат хрому отриманих за допомогою аквананотехнології на базі ДУ "Інститут гігієни та медичної екології ім. О.М. Марзєєва НАМН України" (Україна, Київ). Отримання наночастинок відповідних металів, оснований на вимиванні поверхні електропровідних матеріалів шляхом швидкого випаровування речовини з поверхні, утворенні плазми, дії на речовину, що аблює, плазмою для її розпаду і іонізації, конденсації перенасиченої пари в наночастинок при швидкому охолодженні. Абляцію поверхні електропровідних матеріалів здійснюють шляхом локалізованого руйнування гранул електропровідних матеріалів імпульсами електричного струму, плазму створюють електричними розрядами в проміжках гранул, а швидке охолодження перенасиченої пари здійснюють в діелектричній рідині. Це дозволяє отримати добре розчинні у воді наночастинок з високою біологічною і хімічною активністю.

2.5. Приготування матеріалу для досліджень

Приготування лізатів еритроцитів

Еритроцити відділяли від плазми шляхом центрифугуванням при 3500 об/хв протягом 15 хв. Плазму відбирали і використовували для подальших досліджень. Еритроцити тричі промивали охолодженим фізіологічним розчином (0,9% розчин NaCl) при 3500g по 15 хв. Відмиті еритроцити гемолізували дистильованою водою, додаючи до 1 мл еритроцитарної маси 10 мл дистильованої води. Суміш збовтували протягом 10 хв і центрифугували при 4000 об/хв для видалення стром еритроцитів. Відбирали супернатант, який використовували для подальших досліджень [10].

Приготування гомогенатів тканин

Об'єктом дослідження були зразки печінки, скелетних м'язів та підшлункової залози, одержані через 1-2 хв після забою тварин. Тканини зберігали протягом 5-6 хв на льоду, потім їх обезкровлювали багаторазовою перфузією охолодженим фізіологічним розчином за допомогою голки і шприца та дрібчасто подрібнювали ножницями.

Подрібнену тканину зважували (наважка 1 г) та поміщали у скляний гомогенізатор з тефлоновим пестиком (МРТУ – 421505-63). Для попередження нагрівання під час гомогенізації посудину гомогенізатора поміщали у мішечок з кусочками льоду. Гомогенізацію тканини проводили впродовж 30-50 с, роблячи декілька рухів посудину вгору і вниз; швидкість обертання пестика становила 800-900г. Середовищем для гомогенізації був охолоджений 5 мМ тріс-НСІ буфер рН 7,4.

Отриманий тканинний гомогенат фільтрували через 2 шари марлі в пробірку для центрифугування. Для одержання цільної фракції і видалення не повністю зруйнованих клітин і ядер гомогенат центрифугували 10 хв при 3000g ($t=0\pm 2^{\circ}\text{C}$). Для досліджень використовували надосадову рідину [10].

2.6. Методи визначення показників у дослідженнях

2.6.1. Визначення активності ензимів та вмісту метаболітів деяких данок вуглеводного обміну. **Визначення активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (КФ 1.1.1.49) [134] та лактатдегідрогенази (КФ 1.1.1.27) [204]**

Активність цих ензимів визначали за допомогою спектрофотометричних методів, що базуються на використанні спряжених систем окиснення або відновлення нікотинамідних коензимів.

Спектрофотометричні вимірювання проводили на спектрофотометрі UNICO 1205 при $t +37^{\circ}\text{C}$. Поглинання при $\lambda=340$ нм вимірювали в інтервалі 5 хв. Використовували молярний коефіцієнт екстинції NADH і NADPH (6,22 при

$\lambda=340$ нм). Визначення активності досліджуваних ензимів проводили в 0,2 М тріс-НCl буфері, рН 7,5. Загальний об'єм реакційної суміші становив 3 мл.

Конкретні концентрації компонентів субстратних сумішей складали:

- для глюкозо-6-фосфатдегідрогенази: 1×10^{-3} М глюкозо-6-фосфату, 5×10^{-3} М $MgCl_2$; $0,5 \times 10^{-4}$ М $NADP^+$;

- для лактатдегідрогенази: 1×10^{-3} М пірувату натрію, 5×10^{-5} $NADH$, 3×10^{-3} М $MgCl_2$.

Активність досліджуваних ензимів розраховували за формулою:

$$A = \frac{\Delta E \times V_k}{6,22 \times V_z \times C \times t}, \text{ де} \quad (2.1)$$

ΔE – зміна оптичної густини за певний проміжок часу, хв;

V_k – об'єм кювети;

C – концентрація протеїну, мг/мл;

6,22 – коефіцієнт молярної екстинції нікотинамідних коензимів;

V_z – об'єм внесеного зразка;

t – час проходження реакції.

Визначення вмісту L-лактату [7]

Визначення проводили за допомогою аналітичного ензиматичного методу визначення вмісту L-лактату у біологічних рідинах. Принцип методу: ензиматичне окиснення L-лактату поєднане із неензиматичною реакцією між фероціанідом $Fe(CN)_6^{4+}$, генерованим внаслідок ензиматичної реакції, та іонами Феруму (III). Внаслідок цих взаємодій утворюється інтенсивно забарвлений продукт – «Берлінська блакить». В якості ензиму використовували L-лактат:ферицитохром с-оксидоредуктазу, яка каталізує необоротне окиснення L-лактату до пірувату.

Реакційна суміш для проведення колориметричного аналізу складалася з 25 мМ фосфатного буфера, рН 7,7, та з наступних інгредієнтів з кінцевою концентрацією: - 3мМ фероціанід калію ($K_3Fe(CN)_6$); - 20 мМ хлорид заліза (III)

в 30 мМ НСІ; - 0,5 М щавлева кислота; - 0,023од./мл. активності флавоцитохрому b2 (ФЦ b2).

Хід аналізу: для аналізу відбирали 0,68 мл 25 мМ фосфатного буферу, рН 7,7; 0,1 мл 30 мМ $K_3Fe(CN)_6$ та 0,02 мл ФЦ b2 (з об'ємною активністю 1,1од./мл). Запускали реакцію додаванням 0,2 мл досліджуваного зразка. Реакцію проводили в затемненому місці протягом 30 хв при температурі 25°C. Ензиматичну реакцію зупиняли додаванням реагенту 0,3 мл 200 мМ $FeCl_3$ в 30 мМ НСІ, який водночас приводить до утворення кінцевого кольорового продукту – «берлінської блакиті». Для його солюбілізації вносили 1,7 мл 0,9 М щавлевої кислоти. Вимірювання оптичної густини реакційної суміші проводили на спектрофотометрі UNICO-1205 в кюветі на 3 мл (оптичний шлях 1 см), при 525 нм проти "сліпої" проби (додавались усі компоненти, крім дослідного зразка і 0,2мл дистильованої води). Концентрацію L-лактату у реальних зразках визначали за калібрувальною кривою, побудованою на основі модельних водних розчинів L-лактату.

Визначення концентрації пірвіноградної кислоти [34]

Принцип методу базується на реакції перетворення пірвату в лактат, під дією лактатдегідрогенази. Дана реакція зворотня, а рівновага реакції зміщена вправо, але відбуваються зміни напрямку реакції за патологічних умов. Реакція протікає стахіометрично, тому окиснення 1 моля NADH відповідає відновленню 1 моля пірвату.

Реактиви:

1. Тріс-НСІ буфер 0,3 М розчин, рН, 7,5;
2. НАДН 0,005 М розчин;
3. Лактатдегідрогеназа;

Хід визначення. У кювету вносили всі вищезазначені реактиви, крім ензиму, і досліджуваний екстракт. Доводили об'єм бідистильованою водою до 3 мл, перемішують і через 3 хв фіксували показник спектрофотометра (E_1). Реакцію запускали додаванням лактатдегідрогенази. Після закінчення реакції

через 15 хв фіксували показник приладу (E_2). Вміст піровиноградної кислоти в пробі розраховували за формулою:

$$A = \Delta E \times K / 6,22, \text{ де} \quad (2.2)$$

$\Delta E = (E_1 - E_2)$ — зміна оптичної щільності;

K — коефіцієнт розведення відносно до тканини (Γ);

6,22 — коефіцієнт молярної екстинкції NADH при довжині хвилі 340 нм у кюветі шириною 1 см.

Визначення концентрації глюкози глюкозооксидазним методом [38]

Для визначення концентрації глюкози використовували аналітичний набір для ензиматичного визначення глюкози в сироватці і плазмі крові «ХРОМГЛЮКОЗА+» (Україна). Принцип методу базується на реакції, яку каталізує глюкозооксидаза:



Розрахунок концентрації глюкози (в ммоль/л) здійснювали за формулою:

$$C = \left(\frac{E}{E_K} \right) \times 10, \text{ де} \quad (2.3)$$

C – вміст глюкози в дослідній пробі, ммоль/л; E і E_K – оптичні густини дослідної та калібрувальної проб відповідно; 10 – концентрація глюкози в калібрувальному розчині, ммоль/л.

2.6.2. Визначення вмісту продуктів пероксидного окиснення ліпідів.

Визначення вмісту гідропероксидів ліпідів [39]

Принцип методу полягає у визначення вмісту гідропероксидів ліпідів у біологічному матеріалі шляхом осадження протеїнів розчином трихлороцтової кислоти (ТХО) та екстракцією ліпідів етанолом з наступною взаємодією досліджуваних екстрактів з тіоціанатом амонію.

Підготовку проб для екстрагування проводили при $t < 4$ °С. 0,2 мл біологічного матеріалу поміщали в центрифужну пробірку, додавали 2,8 мл

етанолу і 0,05 мл 50 % розчину ТХО. Пробірку закривали і струшували протягом 5–6 хв. Утворений протеїновий осад виділяли центрифугуванням протягом 10 хв при 3000 g.

Одержаний супернатант, який являє собою етанольний екстракт ліпідів, використовували як об'єкт для визначення гідропероксидів ліпідів. Визначення гідропероксидів ліпідів: до 1,5 мл етанольного екстракту додавали 1,2 мл етанолу, 0,02 мл концентрованої HCl і 0,03 мл 1 % розчину солі Мора в 3 % розчині HCl. Суміш струшували і через 30 с додавали 0,2 мл 20 % розчину тіоціанату амонію. Вимірювання оптичної густини проводили через 10 хв після додавання тіоціанату амонію на спектрофотометрі при довжині хвилі 480 нм. У контрольну пробу замість біологічного матеріалу вносили 0,2 мл бідистильованої води.

Вміст гідропероксидів ліпідів у біологічному матеріалі розраховували за формулою:

$$D_{480}(\text{дослід}) - D_{480}(\text{контроль}) = \Delta D_{480} (\text{гідропероксидів ліпідів}) \quad (2.4)$$

Отримані результати виражали у показниках різниці оптичної густини досліджуваного зразка при $\lambda=480$ нм з розрахунку на 1 мл плазми крові ($\Delta D_{480}/\text{мл}$) або на 1 г гомогенату тканини ($\Delta D_{480}/\text{г}$).

Визначення вмісту ТБК-активних продуктів [25]

Принцип методу ґрунтується на активації ПОЛ іонами двоховалентного Феруму до рівня, який реєструється спектрофотометрично. При високій температурі в кислому середовищі малоновий діальдегід (МДА) реагує з тіобарбітуратом кислотою (ТБК), утворюючи забарвлений комплекс, що містить одну молекулу МДА та дві молекули ТБК.

До 0,2 мл плазми крові/1 мл гомогенату тканини додавали 5 мл/4,5 мл 20 % фосфорно-вольфрамової кислоти, пробірки закривали корками, перемішували і залишали на холоді 15 хв. Охолоджену суміш центрифугували при $t +4$ °C протягом 15 хв при 2500 g. Надосадову рідину зливали, а до осаду додавали 2 мл H₂O і 1 мл 0,8 % ТБК. Перемішували, закривали корками та інкубували одну

годину на водяній бані при 100°C. Після інкубації суміш охолоджували і центрифугували 10 хв при 6000 g.

У центрифугаті вимірювали оптичну густину при довжині хвилі 535 нм і 580 нм, щоб виключити поглинання зафарбованих комплексів ТБК-речовинами неліпідної природи.

Концентрацію ТБК-активних продуктів в пробі визначали, використовуючи коефіцієнт молярної екстинції $0,156 \text{ мкМ}^{-1} \times \text{см}^{-1}$ і виражали їх в нмоль/л.

2.6.3. Визначення показників системи антиоксидантного захисту.

Визначення активності супероксиддисмутази [66]

Принцип методу визначення супероксиддисмутази (СОД; КФ 1.15.1.1) ґрунтується на здатності ензиму конкурувати з нітросинім тетразолієм за супероксидні аніон-радикали, які утворюються у результаті аеробної взаємодії NADH і феназинметасульфату. У результаті цієї реакції нітросиній тетразолій відновлюється з утворенням гідразинтетразолію (нітроформазану). За присутності СОД відсоток відновлення нітросинього тетразолію знижується. Активність ензиму визначали за відсотком блокування утворення гідразинтетразолію.

До 1,5 мл інкубаційної суміші (37 мг ЕДТА- Na_2 , 330 мг нітротетразолію синього, 55 мг феназинметасульфату і 300 мг 0,15 М фосфатного буферу рН-7,8) додавали 0,1 мл супернатанту та 0,1 мл розчину 1 мМ NADH у тріс-ЕДТА буфері (рН 8,0) та інкубували за кімнатної температури. Через 10 хвилин вимірювали екстинцію при довжині хвилі $\lambda=540$ нм проти води у кюветі з довжиною оптичного шляху 1 см. У контрольній пробі замість супернатанту вносили дистильовану воду. Активність ензиму визначали за формулою:

$$\% \text{ блокування} = \frac{E_{\text{к.пр.}} - E_{\text{д.пр.}}}{E_{\text{к.пр.}}} \times 100\%, \text{ де} \quad (2.5)$$

$E_{к.пр.}$ – екстинція контрольної проби, од. екст.; $E_{д.пр.}$ – екстинція дослідної проби, од. екст. Супероксиддисмутазну активність виражали в умовних одиницях на 1 мг протеїну (1 ум. од. = 50% блокування).

Визначення активності каталази [26]

Принцип методу визначення активності каталази (КФ 1.11.1.6) базується на здатності H_2O_2 утворювати з солями молібдену стійкий забарвлений комплекс. Інтенсивність забарвлення пероксидних сполук молібдену залежить від кількості H_2O_2 в розчині, тобто від активності каталази в пробі.

Каталазну реакцію запускали додаванням до 0,1 мл гемолізату еритроцитів або гомогенату тканини (100 мг тканини на 1 мл 0,05 М Тріс-НСІ буферу, рН 7,8), 2 мл 0,03% розчину гідроген пероксиду. Холоста проба 1 мл 4% розчину амоній молібдату на 0,025 н H_2SO_4 та 2 мл H_2O_2 . Реакцію у дослідній пробі зупиняли через 10 хв додаванням 1 мл 0,25 н H_2SO_4 та 1 мл 4% розчину амоній молібдату. У холосту пробу вносили 1 мл 0,25 н H_2SO_4 та 0,1 мл гемолізату/гомогенату.

Проби центрифугували 5 хв при 3000 г. Інтенсивність забарвлення визначали спектрофотометрично при $\lambda=410$ нм у кюветі з довжиною оптичного шляху 1 см.

Активність каталази розраховували за формулою:

$$A = \frac{\Delta E \times V \times n}{\varepsilon \times t \times 0,1 \times C}, \text{ де} \quad (2.6)$$

ΔE – різниця екстинкції холостої та дослідної проб;

V – загальний об'єм реакційної суміші в кюветі, мл;

n – розведення вихідного екстракту;

ε - молярний коефіцієнт екстинкції комплексу H_2O_2 з амоній молібдатовим при $\lambda = 410$ нм, рівний $22200 \text{ M}^{-1} \times \text{см}^{-1}$, в розрахунках використовували величину молярного коефіцієнта екстинкції, виражену як $22,2 \times 10^3 \text{ ммоль}^{-1} \text{ см}^{-1}$;

C – концентрація протеїну, мг/мл;

t – час реакції (10 хв).

Визначення активності глутатіонпероксидази [40]

Активність глутатіонпероксидази (ГП, КФ 1.11.1.9) вимірювали за швидкістю окиснення відновленого глутатіону у присутності гідроперекису третинного бутилу. В основі розвитку кольорової реакції лежить взаємодія SH-груп з реактивом Елмана (0,01М розчин 5,5'-дитіобіс-2-нітробензойної кислоти на метанолі) з утворенням кольорового продукту – тіонітрофенільного аніону. Кількість останнього прямо пропорційна кількості SH-груп, що прореагували з реактивом Елмана.

До 0,1 мл гемолізату (0,2 мл гомогенату) додавали 0,83 мл 0,1 М тріс-НСІ буфер (який містив 6 мМ ЕДТА, 12 мМ NaN_3) і 4,8 мМ відновленого глутатіону (рН 8,5) та інкубували при 37 °С протягом 10 хв. До проби додавали 0,07 мл 20 мМ гідроперексиду третинного бутилу та інкубували 5 хв (t - час інкубації). Реакцію зупиняли додаванням 0,2 мл холодного 20%-го розчину ТХО. Для приготування контрольної проби додавали всі перелічені вище реагенти, однак осадження протеїнів ТХО проводили без попередньої інкубації лізату з тріс-НСІ буфером, який містив ЕДТА, NaN_3 , відновленого глутатіону та третинний бутил.

Пробу з доданою ТХО центрифугували 10 хв при 3000 g. До 2 мл 0,1 М тріс-НСІ буферу (рН 8,5) додавали 0,02 мл супернатанту і 0,02 мл реактиву Елмана. Через 5 хв проби фотометрували при довжині хвилі 412 нм у кюветі з довжиною оптичного шляху 1 см. Отримані результати виражали в мкМоль/мл і розраховували за формулою:

$$A = \frac{\Delta E \times P}{E_{\text{ст}} \times t \times V \times C}, \text{ де} \quad (2.7)$$

ΔE – різниця екстинкцій контрольної та дослідної проб;

P – розведення;

V – об'єм дослідного зразка в кюветі, мл;

$E_{\text{ст}}$ – екстинкція стандартної проби;

C – концентрація протеїну, мг/мл;

t – час реакції (5 хв).

Визначення активності глутатіонредуктази [116]

Принцип методу полягає у визначенні активності глутатіонредуктази (ГР, КФ 1.8.1.7) спектрофотометрично за швидкістю відновлення глутатіону в присутності NADPH.

Визначення активності ГР проводили при температурі 37°C, у реакційному середовищі, яке містило 2 мл 0,15 М фосфатного буфера, рН 7,4; 0,2 мл ЕДТА; 0,5 мл окисненого глутатіону; 0,2 мл дослідного зразку та 0,1 мл 2 мМ NADPH.

Активність ензиму визначали за зниженням вмісту NADPH при 37°C протягом 10 хв на спектрофотометрі при довжині хвилі 340 нм.

Активність ГР визначали за формулою:

$$A = \frac{\Delta E \times V}{\epsilon \times C \times t \times \alpha \times l}, \text{ де} \quad (2.8)$$

ΔE – різниця екстинкції за час реакції;

V – об'єм інкубаційного середовища, мл;

ϵ – молярний коефіцієнт екстинкції для NADPH, що дорівнює 6200 М⁻¹ см⁻¹;

t – час реакції, хв.;

C – концентрація протеїну, мг/мл;

α – об'єм лізату, який вносили у кювету;

l – довжина оптичного шляху.

Активність ГР виражали в мкмоль NADPH/хв×мг протеїну.

Визначення вмісту відновленого глутатіону

Вміст відновленого глутатіону (GSH) визначали за рівнем утворення тіонітрофенільного аніону в результаті взаємодії SH-груп глутатіону з 5,5'-дитіобіс-2-нітробензойною кислотою при довжині хвилі 412 нм [1]. Були використані наступні реактиви: осаджуючий реактив (льодяна метафосфорна кислота – 6,68 г; трилон Б – 0,80 г; хлористий натрій – 120,0 г; дистильована вода до 400 мл); 0,3М розчин Na₂HPO₄ в дистильованій воді; реактив Елмана

(0,04% розчин 5,5- дитіобіс-2-нітробензойної кислоти в 1% розчині 3-заміщеного цитрату натрію).

I етап. Дослідна проба: гемолізат еритроцитів (1:10), або гомогенат тканини – 2 мл, осаджуючий реактив – 3 мл; контрольна проба: осаджуючий реактив – 3 мл, дистильована вода – 2 мл. 5 хвилин витримували при кімнатній температурі. Надалі центрифугували при 3500 g, після чого відфільтровували надосадову рідину (отримували безпротеїновий фільтрат-центрифугат).

II етап. Дослідна проба: центрифугат – 2 мл, 0,3М розчин Na_2HPO_4 – 8 мл, реактив Елмана – 0,1 мл; контрольна проба – 0,3М розчин Na_2HPO_4 – 8 мл, реактив Елмана – 0,1 мл. Через 5 хвилин спектрофотометрували дослідну пробу проти контрольної при довжині хвилі 412 нм. Розрахунок кількості GS-H в еритроцитах в ммоль/л (або на г, якщо тканина) оцінювали за допомогою калібрувальної кривої.

2.6.4. Визначення концентрації загального протеїну

Концентрацію протеїну визначали за методом Лоурі за допомогою стандартизованих наборів (Україна) згідно інструкцій фірм-виробників (“SIMKO Ltd”) [223]. Результат виражали у мг протеїну на мл зразка. Метод базується на утворенні кольорових продуктів взаємодії ароматичних амінокислот з реактивом Фоліна-Чекальтеу у поєднанні з біуретовою реакцією на пептидні зв’язки протеїну.

2.6.5. Визначення показників ліпідного обміну. **Екстракція ліпідів за Фолчем** [141]

Екстракцію ліпідів проводили сумішшю хлороформ-метанол (2:1). Принцип методу полягає в руйнуванні ліпідно-протеїнових зв’язків полярним розчинником (наприклад, метанолом), що сприяє наступному екстрагуванню ліпідів неполярним розчинником (петролейним ефіром, етиловим ефіром або хлороформом).

У пробірки або колби з притертими корками вносили необхідну кількість сироватки крові або гомогенату тканин і хлороформ–метанолову суміш (2:1) у співвідношенні 1:20. Струшували і залишали на ніч для екстрагування ліпідів. Потім суміш фільтрували через знежирений фільтр, повторно промивали хлороформ–метаноловою сумішшю (4–5 мл). Цією ж сумішшю об'єм доводили до вихідного рівня (залежно від кількості взятої сироватки). До одержаного ліпідного екстракту додавали 0,74 % розчин КСІ. Одержану суміш залишали на ніч для розділення. Верхній шар обережно видаляли. Граничний шар промивали сумішшю «верхньої фази» (хлороформ – 8 частин, метанол – 4 частини). Таким способом видаляли всі ліпідні суміші. Потім об'єм доводили до вихідного метанолом (0,5–1 мл), а одержаний, очищений екстракт зливали у пробірки з притертим корком. Одержаний ліпідний екстракт використовували для кількісного визначення загальних ліпідів, фосфоліпідів, загального і ефірозв'язаного холестеролу, нейтральних жирів, нейтральних жирних кислот.

Гравіметричний метод визначення загальної кількості ліпідів

Цей метод найбільш придатний для визначення сумарної кількості ліпідів шляхом зважування сухого залишку.

Екстракт ліпідів, який отримують за методом Фолча висушували шляхом відгонки випарювача, а відтак доводили до постійної маси у вакуумексикаторі. Для цього проби поміщали в ексикатор, який заповнений волого вловлювачем (фосфорний ангідрид, концентрована H_2SO_4 , сухий $NaOH$ або $CaCl_2$). Через 2 год проби зважували на аналітичній вазі та визначали кількість ліпідів за формулою:

$$Q = \frac{(A-B) \times 100}{C}, \text{ де} \quad (2.9)$$

Q – загальна кількість ліпідів;

A — маса бюкса з ліпідами, г;

B — маса бюкса без ліпідів, г ;

C — маса тканини, мг;

100 — коефіцієнт перерахунку у мг%.

Визначення класів ліпідів методом тонкошарової хроматографії [86]

Окремі класи ліпідів визначали за допомогою тонкошарової хроматографії на силікагелі в системі розчинників гексан – диетиловий ефір – льодяна оцтова кислота у співвідношенні 70:30:1. При цьому виділяли фосфоліпіди, диацилгліцероли і триацилгліцероли, вільні жирні кислоти, вільний і ефірозв'язаний холестерол.

Для тонкошарової хроматографії використовували скляні пластинки товщиною 1,0–1,2 мм таких розмірів: а) 6x6 і 9x9 — для розділення фосфоліпідів; б) 3x9 і 9x12 — для розділення нейтральних ліпідів.

2.6.6. Імуноензимний аналіз вмісту інсуліну та С-пептиду

Вміст інсуліну та С-пептиду у плазмі крові щурів визначали імуноензимним методом застосовуючи стандартні набори ELISA згідно інструкцій фірм-виробників DRG.

Набір DRG Інсулін ELISA є ензимзв'язаним імуносорбентним аналізом (ELISA), який базується на принципі сендвіча. Мікро планшетні комірки покриті моноклоальним антитілом, яке здатне реагувати з антигеном, тобто інсуліном. Аліквот сироватки зразка біоматеріалу, який містив ендогени інсуліну, інкубували в комірках, які покриті ензимним кон'югантом (виступає в якості анти-інсулін антитіла, що кон'юговане біотином).

Після інкубації ензимний комплекс зв'язується з біотин-анти-інсулін антитілом. Кількість зв'язаного HRP комплексу пропорційна кількості інсуліну у зразку біоматеріалу. Після додавання розчину субстрату розвивається яскраве забарвлення, інтенсивність якого пропорційна концентрації інсуліну у досліджуваному зразку.

Визначення вмісту С-пептиду: у наборі використовується принцип конкурентного зв'язку. Мікро планшет покритий анти-мишачими антитілами, які зв'язують моноклоальне антитіло, яке здатне взаємодіяти з С-пептидом. Ендогенний С-пептид досліджуваного зразку конкурує з С-пептидом кон'югованим

з пероксидазою хрому за зв'язування з привитим антитілом. Після інкубації вимивається незв'язаний кон'югат. Кількість зв'язаного кон'югату обернено пропорційна концентрації С-пептиду в зразку. Після додавання розчину субстрату, інтенсивність кольору обернено пропорційно концентрації С-пептиду у досліджуваному зразку.

2.6.7. Визначення вмісту Mg та Cr методом атомно-абсорбційної спектрофотометрії

Для визначення Mg та Cr зразки попередньо мінералізували методом озолення. Після озолення проводили кислотну екстракцію.

Принцип методу полягає у тому, що зразок розпилюється у полум'ї, де утворюється холодна атомна пара. Через атомну пару проходять промені світла певної резонансної частоти відповідного елемента, де електронами зовнішньої оболонки поглинається частина світлового потоку, подальша інтенсивність якого визначається детектором. Поглинання пропорційне концентрації елемента у полум'ї. Порівняно з калібрувальною кривою за допомогою комп'ютерної програми йде перерахунок концентрації елемента у пробі.

Концентрацію елементів розраховували за формулою:

$$C_n = \frac{C_p \cdot V \cdot K}{m \cdot \text{або} \cdot V_1}, \text{ де} \quad (2.10)$$

C_n – концентрація елемента у пробі;

C_p – концентрація елемента у розчині;

V – вихідний об'єм досліджуваного розчину;

K – коефіцієнт розведення;

m – маса пробі;

V_1 – об'єм пробі.

2.7. Статистична обробка результатів

Статистична обробка результатів дослідження здійснювалася за допомогою програми Microsoft Excel та Statistica. Обчислення основних статистичних показників проводили за безпосередніми кількісними даними, отриманими в результаті досліджень (середнє арифметичне значення – M ; стандартна похибка середнього арифметичного – m).

Для оцінки кореляційних зв'язків між досліджуваними показниками застосовували коефіцієнт кореляції Пірсона.

Для оцінки вірогідності різниці між статистичними характеристиками двох альтернативних сукупностей даних обчислювали коефіцієнт Стюдента. Вірогідною вважали різницю при показах вірогідності $p \geq 0,95$.

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Вплив цитрату магнію у кількостях 100, 250 та 500 мг Mg²⁺/кг на деякі ланки вуглеводного обміну в крові та тканинах щурів з експериментальним цукровим діабетом

3.1.1. Вплив цитрату магнію на стан окремих ланок вуглеводного обміну в крові щурів із ЦД_A. Фізіологічна концентрація глюкози у крові здорової людини чи тварини є життєво необхідною для нормального енергетичного обміну й підтримується за рахунок динамічної рівноваги фізіологічними та біохімічними процесів, завдяки яким глюкоза надходить у кров, а з неї транспортується до клітин [188, 202]. Тривала гіперглікемія є одним із багаточисельних факторів, які спричиняють метаболічні порушення за ЦД. Зниження концентрації глюкози в крові до рівня, наближеного максимально до показників здорової людини – основна мета при лікуванні цукрового діабету.

У результаті проведених досліджень встановлено, що у тварин ДГ1 з ЦД_A концентрація глюкози в плазмі крові зростала (у 2,83 рази), порівняно із показниками тварин контрольної групи (рис. 3.1).

За додавання до раціону тварин ДГ2 і ДГ3 цитрату магнію, у дозах 100 мг/кг та 250 мг/кг, концентрація глюкози у плазмі крові знижувалася на 5,9% і 9,5% відповідно, а в тварин ДГ4 спостерігалась спрямованість до її зниження (на 4,8%) порівняно із тваринами ДГ1. Разом з тим, у тварин ДГ2-ДГ4 концентрація глюкози була вища порівняно із показником у тварин КГ. Очевидно, це пов'язане з надходженням глюкози в клітини, та її перетворенням як по шляху гліколізу, так і по пентозо-фосфатному шляху.

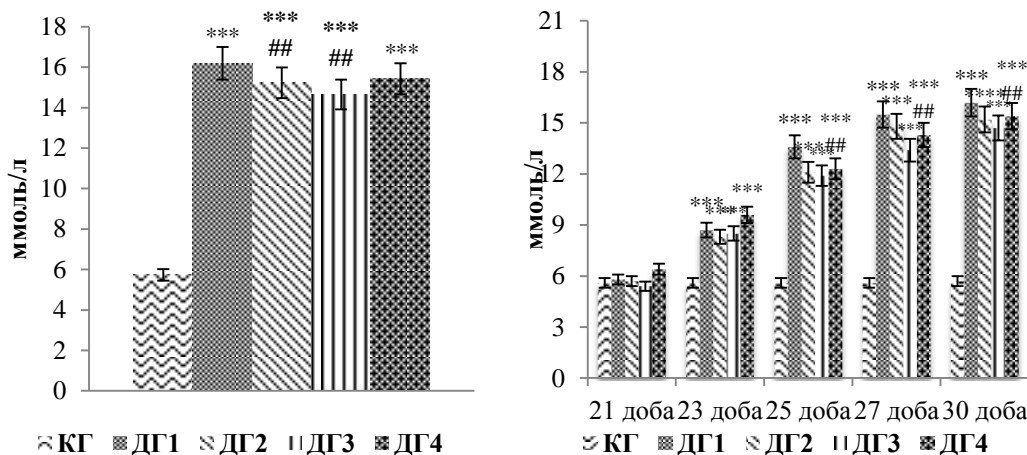


Рис.3.1. Концентрація глюкози в плазмі крові (а) та рівень глюкози в динаміці у крові (б) щурів із ЦДА (ДГ1) та за впливу цитрату магнію у дозах 100 (ДГ2), 250 (ДГ3) та 500 (ДГ4) мг Mg^{2+} /кг.

Примітка. Тут і далі: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ вірогідність показників ДГ1–ДГ4 порівняно з КГ; # – $p < 0,05$; ## – $p < 0,01$; ### – $p < 0,001$ вірогідність показників ДГ2–ДГ4 порівняно з ДГ1.

У гліколізі важливу роль також відіграє лактатдегідрогеназа (ЛДГ) – ензим який каталізує взаємоперетворення пірувату (основний кінцевий продукт аеробного гліколізу) та лактату [190]. В еритроцитах крові щурів ДГ1 з ЦДА активність ЛДГ підвищувалась на 196,8% у порівнянні із тваринами контрольної групи (табл.3.1). Поряд із зміною активності ЛДГ у ДГ1 було встановлено підвищення вмісту L-лактату на 33,3% і зниження вмісту пірувату на 27,3% у крові (табл.3.2) порівняно із тваринами контрольної групи, що свідчить про інтенсифікацію анаеробного шляху розщеплення глюкози.

Повне окиснення глюкози до вуглекислого газу та води забезпечується гексозомонофосфатним шунтом (пентозофосфатний шлях), який перебуває у паралельному і тісному взаємозв'язку з гліколізом і циклом трикарбонових кислот. Лімітуючим ензимом, який каталізує перетворення глюкози в пентозофосфатному циклі, є глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа (Г-6-ФДГ). Однією з важливих функцій пентозофосфатного шляху окиснення глюкози є генерація відновленого нікотинамідаденіндинуклеотидфосфату (NADPH) і тим

самим забезпечення багатьох біосинтетичних процесів, у першу чергу, біосинтезу жирних кислот [6].

Таблиця 3.1.

Активність деяких ензимів вуглеводного обміну в еритроцитах крові щурів із ЦД_A (ДГ1) та за впливу цитрату магнію у дозах 100 (ДГ2), 250 (ДГ3) та 500 (ДГ4) мг Mg²⁺/кг; нмоль/хв•мг протеїну (M±m, n=5)

Показник	Група тварин				
	КГ	ДГ1	ДГ2	ДГ3	ДГ4
Лактатдегідрогеназа	884,6±	2625,7±	731,8±	703,9±	379,3±
	134,8	18,3 ^{***}	18,3 ^{###}	149,01 ^{###}	31,9 ^{###}
Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа	736,3±	437,2±	629,5±	582,9±	645,6±
	49,3	21,9 ^{***}	42,3 ^{##}	42,4 ^{###}	38,9 ^{##}

Як свідчать результати проведених досліджень активність Г-6-ФДГ знизилась на 40,6% в еритроцитах крові тварин ДГ1, що можливо спричинене низькими концентраціями NADP⁺ потрібного як акцептор електронів.

Також спостерігалось вірогідне зниження активності Г-6-ФДГ у тварин ДГ3 (на 20,7%) та зниження активності ЛДГ у тварин ДГ4 (на 57,1%) порівняно із тваринами КГ (табл.3.1).

Такі зміни активностей досліджуваних ензимів вуглеводного обміну та вмісту метаболітів у тварин ДГ1 можуть бути зумовлені недостатністю інсуліну за умов діабету. В зв'язку із цим, високий рівень глюкози в тварин ДГ1, свідчить про її недостатнє надходження у тканини організму, особливо до мозку, де вона є основним джерелом енергії, що зумовлює енергетичне голодування організму. Внаслідок вичерпання енергетичних ресурсів в організмі знижується синтез молекул ензимів та протеїнів, що забезпечують повноцінне фізіологічне тканинне дихання – транспорт кисню в клітини та міжклітинну рідину. Відповідно, організм в більшій мірі намагається використати альтернативний безкисневий шлях вивільнення енергії з глюкози.

У результаті проведених досліджень на щурах, яким вполювали цитрат магнію у дозах 100, 250 і 500 мг Mg^{2+} /кг маси тіла, встановлені зміни досліджуваних показників вуглеводного обміну в крові дослідних тварин. Зокрема, активність ЛДГ за впливу цитрату магнію знижувалась в еритроцитах крові тварин ДГ2 на 72,1%, ДГ3 на 73,2% та ДГ4 на 85,6%, порівняно із тваринами ДГ1 з ЦДА (табл.3.1). Зміни активності ензиму супроводжувались достовірним зниженням вмісту L-лактату на 71,9% у крові тварин ДГ2, на 59,4% – ДГ3 та на 71,9% – ДГ4, порівняно із тваринами ДГ1. У той же час спостерігалось підвищення вмісту пірувату в тварин ДГ2 на 56,3% і ДГ3 на 12,5%, у той час як у тварин ДГ4 спостерігалось зниження його вмісту на 28,1%, порівняно із тваринами ДГ1 (табл.3.2).

Таблиця. 3.2.

Вміст L-лактату і пірувату в крові щурів із ЦДА (ДГ1) та за впливу цитрату магнію у дозах 100 (ДГ2), 250 (ДГ3) та 500 (ДГ4) мг Mg^{2+} /кг ($M \pm m$, $n=5$)

Метаболіт	Група тварин				
	КГ	ДГ1	ДГ2	ДГ3	ДГ4
L-лактат, мМ	2,4±0,2	3,2±0,1	0,9±0,01 ^{###}	1,3±0,01 ^{***###}	0,9±0,01 ^{###}
Піруват, мМ	0,44±0,02	0,32±0,02	0,50±0,05	0,36±0,01 ^{**}	0,23±0,01 ^{***}

Додавання цитрату магнію зумовлювало достовірне зростання активності Г-6-ФДГ в еритроцитах крові тварин ДГ2, ДГ3 та ДГ4 на 44,0, 33,3 та 47,7% відповідно, порівняно із тваринами ДГ1.

Отримані результати свідчать про активацію окисного шляху обміну глюкози за дії цитрату Mg.

3.1.2. Активність досліджуваних ензимів вуглеводного обміну в тканинах щурів із ЦДА та за впливу цитрату магнію. Вуглеводи є одним із важливих джерел енергії у клітинах організму, а узгодженість біохімічних

реакцій перетворення вуглеводів забезпечує життєдіяльність цих клітин у тканинах організму. При цьому варто зазначити, що у різних клітинах та тканинах організму інтенсивність шляхів перетворення вуглеводів неоднакова, і визначається певними особливостями обміну.

Згідно з результатами проведених досліджень активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, одного з основних ензимів пентозофосфатного шляху перетворення глюкози, знизилась на 8,5% у печінці, 15,3% у м'язах, 85,9% у підшлунковій залозі щурів ДГ1 з ЦДА у порівнянні із тваринами КГ (табл.3.3).

Таблиця 3.3.

Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназна активність у тканинах щурів з ЦДА (ДГ1) та за впливу цитрату магнію у дозах 100 (ДГ2), 250 (ДГ3) та 500 (ДГ4) мг Mg²⁺/кг; нмоль/хв•мг протеїну (M±m, n=5)

Тканина	Група тварин				
	КГ	ДГ1	ДГ2	ДГ3	ДГ4
Печінка	928,5±	849,6±	864,3±	888,0±	889,2±
	36,6	42,9	18,5	17,7	31,7
Скелетні м'язи	37,9±	32,1±	34,1±	41,4±	44,3±
	1,7	2,2	1,9	2,5 ^{##}	1,1 ^{####}
Підшлунко-ва залоза	367,2±	51,6±	141,4±	168,5±	153,5±
	8,2	5,4 ^{***}	6,3 ^{#####}	9,3 ^{#####}	9,6 ^{#####}

У тварин ДГ2-ДГ4 спостерігалась спрямованість до зниження активності Г-6-ФДГ у тканині печінки (7,0-4,3%) та вірогідне зниження у тканині підшлункової залози (61,5-54,1%) порівняно із контрольною групою тварин, однак встановлено збільшення активності Г-6-ФДГ у скелетних м'язах тварин ДГ3 (на 9,1%) та у ДГ4 (на 16,8%) порівняно до КГ тварин.

Встановлено, що за дії цитрату магнію Г-6-ФДГ-зна активність у печінці тварин ДГ2, ДГ3 та ДГ4 проявляла тенденцію до підвищення, у порівнянні із тваринами ДГ1, відповідно на 1,7, 4,5 та 4,7% (табл.3.3), у підшлунковій залозі Г-6-ФДГ-зна активність ензиму вірогідно зростала у 2,74, 3,27 та 2,97 раз, а в

скелетних м'язів тварин ДГ3 та ДГ4 – на 41,1 і 37,9% відповідно, порівняно із тваринами ДГ1 (табл.3.3).

Активність лактатдегідрогенази – ензиму кінцевої ланки анаеробного гліколізу знизилась у печінці та підшлунковій залозі тварин ДГ1, на 4,0% та на 52,5%, відповідно, проте підвищилась на 46,9% у м'язовій тканині у порівнянні із показниками у тварин контрольної групи (табл.3.4).

Таблиця 3.4.

Лактатдегідрогеназна активність у тканинах щурів із ЦДА (ДГ1) та за впливу цитрату магнію у дозах 100 (ДГ2), 250 (ДГ3) та 500 (ДГ4) мг Mg²⁺/кг; нмоль/хв•мг протеїну (M±m, n=5)

Тканина	Група тварин				
	КГ	ДГ1	ДГ2	ДГ3	ДГ4
Печінка	135,4±	129,9±	158,2±	149,7±	94,8±
	3,9	2,0	10,2 [#]	8,2 [#]	5,0 ^{****##}
Скелетні м'язи	79,3±	116,5±	107,9±	89,8±	83,1±
	24,0	11,5	4,2	2,9	6,9
Підшлункова залоза	442,8±	210,5±	483,6±	334,3±	401,6±
	32,3	20,5 [*]	33,2 ^{##}	8,5 ^{****##}	24,6 [#]

Встановлено незначне збільшення активності ЛДГ у печінці тварин ДГ2 та ДГ3, відповідно на 14,4 та 10,6%, та вірогідне зменшення на 30,0% у тварин ДГ4 у порівнянні з тваринами контрольної групи. Спостерігаємо чітку направленість до збільшення активності ЛДГ у скелетних м'язів тварин ДГ2-ДГ4 (4,8-36,1%) порівняно до тварин КГ. Нами не було виявлено суттєвих змін активності ЛДГ у підшлунковій залозі тварин ДГ2 та ДГ4, проте спостерігали зменшення активності ензиму в підшлунковій залозі ДГ3 на 24,5% відносно контролю (табл.3.4).

Також слід зазначити достовірне підвищення ЛДГ-ної активності у печінці тварин ДГ2 та ДГ3, відповідно на 21,7 і 15,2%, однак зниження у тварин ДГ4 на 27,1% порівняно із тваринами ДГ1. Разом з тим спостерігали зниження ЛДГ-ної

активності у м'язах тварин ДГ2, ДГ3 та ДГ4 на 7,3, 22,9 і 28,6% та достовірне зростання у підшлунковій залозі на 129,8, 11,0 і 90,8%, стосовно тварин ДГ1 з ЦДА (табл.3.4).

Зменшене використання глюкози, як джерела енергії у тканинах, і як наслідок зниження активності досліджуваних ензимів вуглеводного обміну, можливо зумовлено розвитком гострого панкреатиту, який виникає внаслідок алоксан-індукованого ЦД. Це призводить до руйнування β -клітин острівців Лангенгарса і, як наслідок, до дефіциту інсуліну. Відповідно, інсулін не може в достатній мірі реалізовувати свої функції щодо забезпечення надходження глюкози в клітини та тканини. На тлі зниження активності Г-6-ФДГ та ЛДГ спостерігали підвищення вмісту L-лактату та пірувату, що свідчить про порушення енергетичних процесів у клітинах та тканинах організму.

Посилення анаеробного гліколізу в скелетних м'язах, свідчить про недостатність у кисневому забезпеченні цих тканин. Оскільки регуляторна функція інсуліну, за цукрового діабету, порушується, то це також може впливати на еритроцити, як наслідок, кисеньзв'язувальна функція яких буде зазнавати змін. Тому для забезпечення рухової активності м'язів у цій тканині компенсаторно активується анаеробний шлях обміну глюкози.

Загалом одержані дані свідчать про здатність цитрату магнію, запобігати розвитку гострої гіперглікемії та підтримувати гомеостаз глюкози в крові та клітинах тканин організму, діючи опосередковано через магнійзалежний гормон інсулін. Згідно аналізу найбільш ефективною була доза 250 мг Mg^{2+} /кг маси тіла.

Висновки:

1. За умов ЦДА розвивається стійка гіперглікемія (приблизно 15 ммоль/л), що супроводжується зниженням глюкозо-6-фосфатдегідрогеназної активності та підвищенням лактатдегідрогеназної активності в крові дослідних тварин. Такі зміни активності ензимів вуглеводного обміну супроводжувались підвищенням вмісту L-лактату та зниження вмісту пірувату в крові дослідних тварин. У скелетних м'язах (як і в еритроцитах) тварин з ЦДА знижувалась

глюкозо-6-фосфатдегідрогеназна, однак зростала лактатдегідрогеназна активність, в той час як у печінці і підшлунковій залозі спостерігалось зниження активності обох досліджуваних ензимів.

2. Застосування цитрату магнію, як засобу для попередження виникнення ЦД дозволило запобігти розвитку гострої гіперглікемії, з наступним підвищенням активності Г-6-ФДГ в крові і тканинах, та ЛДГ – у печінці та підшлунковій залозі, проте зниженням у крові та м'язах.

3. Згідно з аналізом отриманих результатів, можна зробити висновок, що цитрат магнію у дозі 250 мг Mg^{2+} /кг маси тіла проявляв найкращий стабілізуючий ефект на показники вуглеводного обміну в крові та тканинах щурів із експериментальним ЦД.

Результати досліджень опубліковані у працях [70, 71]

3.2. Вплив цитрату магнію у дозах 100, 250 та 500 мг Mg^{2+} /кг на процеси пероксидного окиснення ліпідів та активність антиоксидантної системи в крові та тканинах щурів із ЦД_A

Рівновага окисно-відновних процесів є основою нормального функціонування клітин. За фізіологічних умов система реакцій ПОЛ контролюються залученням різних антиоксидантних захисних механізмів. Порушення такого контролю, зокрема за умов цукрового діабету, призводить до інтенсифікації процесів ПОЛ та накопичення в організмі продуктів ліпопероксидації – високореакційних молекул, які призводять до ушкоджень структур та функцій клітин [149, 150]. Накопичення АФО та продуктів ПОЛ (які є вторинними АФО) стимулює ензиматичну та неензиматичну систему антиоксидантну захисту.

3.2.1. Вплив цитрату магнію на інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів та активність ключових ензимів антиоксидантної системи в крові щурів із ЦД_A. У дослідженнях було встановлено, що за ЦД_A в плазмі крові щурів ДГ1 спостерігали напруженість до підвищення вмісту

гідропероксидів ліпідів на 18,3% та ТБК-активних продуктів на 13,1% порівняно із тваринами контрольної групи, що свідчить про посилення прооксидантних процесів за ЦД (табл.3.5).

Таблиця 3.5

Вміст продуктів ПОЛ в плазмі крові щурів із ЦДА (ДГ1) та за впливу цитрату магнію у дозах 100 (ДГ2), 250 (ДГ3) та 500 (ДГ4) мг Mg^{2+} /кг (M±m, n=5)

Показник	Група тварин				
	КГ	ДГ1	ДГ2	ДГ3	ДГ4
Гідропероксиди ліпідів, ΔD_{480} /мл	1,15±0,06	1,36±0,02	1,16±0,12	1,28±0,06	0,89±0,04 ^{***##}
ТБК-активні продукти, нмоль/мл	2,06±0,07	2,33±0,03	2,16±0,02 [#]	2,15±0,03	2,16±0,03 [#]

Суттєвих змін вмісту ГПЛ та ТБК-активних продуктів між тваринами ДГ2, ДГ3, ДГ4 та КГ нами не було встановлено, лише варто зазначити про вірогідне зниження вмісту ГПЛ на 22,6% у тварин ДГ4 у порівнянні із тваринами КГ.

У той же час, за додавання цитрату магнію в дозах 100-, 250- та 500 мг Mg^{2+} /кг м.т., спостерігалась зниження вмісту гідропероксидів ліпідів у тварин ДГ2 (на 14,7%), ДГ3 (на 5,9%) і вірогідне зниження у тварин ДГ4 (на 34,6%) порівняно з тваринами ДГ1 (табл.3.5).

Вміст ТБК-активних продуктів у плазмі крові тварин ДГ2 і ДГ4 знижувався на 7,3%, а в тварин ДГ3 спостерігалось незначне зниження їх вмісту на 7,7% порівняно із тваринами ДГ1 (табл.3.5).

У крові щурів ДГ1 за умов ЦДА на фоні посилення процесів ПОЛ спостерігалось зниження активності СОД на 11,0% та активності КАТ на 22,7% стосовно КГ, що може бути зумовлене виснаженням активності системи АОЗ за

оксидативного стресу, який виникає при діабеті (табл.3.6). Крім цього, було встановлено достовірне зниження активності КАТ та направленість до зростання активності СОД у крові тварин ДГ2, ДГ3 та ДГ4 стосовно тварин КГ.

Таблиця 3.6

Активність супероксиддисмутази та каталази в еритроцитах крові щурів із ЦДА (ДГ1) та за впливу цитрату магнію у дозах 100 (ДГ2), 250 (ДГ3) та 500 (ДГ4) мг Mg^{2+} /кг ($M \pm m$, n=5)

Показник	Група тварин				
	КГ	ДГ1	ДГ2	ДГ3	ДГ4
Супероксид-дисмутаза, ум. од./мг протеїну	47,07± 3,03	41,90± 4,19	56,47± 3,31 [#]	54,04± 3,11	55,96± 3,76 [#]
Каталаза, мкмоль/хв•мг протеїну	1,94± 0,13	1,5± 0,11 [*]	1,46± 0,14 [*]	1,32± 0,07 ^{**}	1,30± 0,03 ^{**}

У порівнянні із тваринами ДГ1, у тварин ДГ2 і ДГ4 активність СОД достовірно зростала на 34,8 і 33,6%, а у тварин ДГ3 спостерігалось деяке зростання активності ензиму на 29,0%, що свідчить про активацію досліджуваного ензиму або посилення його синтезу за дії цитрату магнію. У той час, активність КАТ в крові тварин ДГ2-ДГ4, у порівнянні з тваринами ДГ1 лише у незначній мірі знижувалась (табл.3.6), що свідчить про те, що цитрат Mg не впливав на активність цього ензиму.

Функціональну основу системи антиоксидантного захисту формує глутатіонова система, власне глутатіон і ензими, що каталізують реакції його зворотного перетворення (окиснення ↔ відновлення) [32]. Участь глутатіону і зв'язаних з ним систем у процесах біотрансформації та знешкодження АФО можна розглядати як один з елементів загальних механізмів, що визначають стійкість організму до оксидативного стресу.

Відновлений глутатіон є основним антиоксидантом глутатіонової ланки в організмі, який ензиматичним шляхом інактивує гідропероксиди ліпідів та неензиматичним шляхом інактивує H_2O_2 та інгібує АФО.

Було встановлено зростання активності ключових ензимів глутатіонової ланки захисту у крові тварин ДГ1 з ЦДА, зокрема зростання активності глутатіонредуктази на 15,4% та зростання активності глутатіонпероксидази у 2,3 рази ($p < 0,01$), що супроводжувалося зростанням (у 1,88 разів) вмісту відновленого глутатіону у порівнянні із КГ тварин (табл.3.7). Це свідчить про активацію глутатіонової ланки АОЗ в крові за оксидативного стресу, який виникає у тварин з ЦД.

Таблиця 3.7.

Активність ензимів глутатіонової ланки та вміст відновленого глутатіону в еритроцитах крові щурів із ЦДА (ДГ1) та за впливу цитрату магнію у дозах 100 (ДГ2), 250 (ДГ3) та 500 (ДГ4) мг Mg^{2+} /кг ($M \pm m$, $n=5$)

Показник	Група тварин				
	КГ	ДГ1	ДГ2	ДГ3	ДГ4
Глутатіон-редуктаза, мкмоль/хв•мг протеїну	0,13± 0,01	0,15± 0,01	0,08± 0,01 ^{**###}	0,12± 0,01 [#]	0,18± 0,01 ^{**}
Глутатіон-пероксидаза, мкмоль/хв•мг протеїну	3,16± 0,56	7,28± 0,78 ^{**}	2,94± 0,25 ^{###}	2,27± 0,11 ^{###}	2,94± 0,92 ^{##}
Відновлений глутатіон, мМ/л	0,08± 0,04	0,23± 0,01 ^{**}	0,25± 0,02 ^{**}	0,33± 0,03 ^{**###}	0,22± 0,02 ^{**}

Встановлено направленість до зниження активності ГП в еритроцитах крові тварин ДГ2, ДГ3 та ДГ4 (на 7,0, 28,2 та 7,0%) стосовно контролю. Активність ГР у тварин ДГ2 є достовірно менша на 38,5%, а у тварин ДГ4 достовірно більша на 38,5% стосовно тварин контрольної групи. Достовірно

більший вміст відновленого глутатіону встановлено в еритроцитах крові ДГ2 (у 3,1 рази), ДГ3 (у 4,1 рази) та ДГ4 (у 2,8 рази) порівняно з КГ тварин (табл.3.7).

За додавання цитрату магнію активність ГР у тварин ДГ2 та ДГ3 достовірно знижувалась, на 46,7 і 20,0%, в той час як у тварин ДГ4 – зростала на 20,0% у порівнянні із тваринами ДГ1 (табл. 3.7). Також спостерігали зниження активності ГП у тварин ДГ2, ДГ3 та ДГ4 порівняно з тваринами ДГ1 з ЦДА, на 59,6, 68,8 та 59,61%. У тварин ДГ4 спостерігали спрямованість до зниження вмісту відновленого глутатіону на 4,3% порівняно із тваринами ДГ1. Проте, у крові тварин ДГ2 та ДГ3, спостерігалось підвищення його вмісту на 8,7% та 43,5% порівняно із тваринами ДГ1, що може бути зумовлено інтенсифікацією його синтезу за дії цитрату магнію та оксидативного стресу в умовах ЦДА (табл.3.7).

Наближення активності ензимів глутатіонової ланки антиоксидантного захисту у тварин з ЦДА до рівня КГ, при застосуванні цитрату магнію, свідчить про позитивну дію досліджуваного макроелементу. Така біологічна дія Магнію, на нашу думку, може бути пов'язана з покращенням секреції інсуліну, що в свою чергу може покращувати його рецепцію, а також з відповідним супутнім послабленням дії стресового гормону кортизолу, який, як антагоніст інсуліну, в свою чергу сприяє зниженню активності ензимів ферментативної ланки антиоксидантного захисту. Рівень відновленого глутатіону, як кумулятора атомів Гідрогену, в даному випадку може забезпечуватись внаслідок більш інтенсивного пригнічення поліолового шляху обміну глюкози, який активується за ЦД. Як наслідок, у різних ланках обміну речовин, більш інтенсивного відбувається вивільнення великої кількості атомів Гідрогену які можуть кумулюватися відновленим глутатіоном.

3.2.2. Інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів та функціональний стан антиоксидантної системи в тканинах щурів із ЦДА та за впливу різних доз цитрату магнію. У результаті проведених досліджень (табл.3.8) за ЦДА у печінці щурів ДГ1 було виявлено достовірне підвищення

вмісту гідропероксидів ліпідів на 33,3% та вмісту ТБК-активних продуктів на 41,8% порівняно із тваринами контрольної групи. Встановлено вірогідно більший вміст гідропероксидів ліпідів у печінці тварин ДГ3 на 40,0% та ДГ4 на 150%, а в тварин ДГ2 спостерігалось деяке зростання їх вмісту на 16,7% відносно КГ. Подібні зміни спостерігали і щодо вмісту ТБК-активних продуктів, а саме – незначне їх збільшення у печінці тварин ДГ2 та ДГ3 на 1,7 та 35,6% відповідно, та збільшення на 56,5% у тварин ДГ4 стосовно тварин КГ.

Таблиця 3.8.

Вміст продуктів ПОЛ в тканинах щурів із ЦДА (ДГ1) та за впливу цитрату магнію у дозах 100 (ДГ2), 250 (ДГ3) та 500 (ДГ4) мг Mg²⁺/кг (M±m, n=5)

Тканина	Група тварин				
	КГ	ДГ1	ДГ2	ДГ3	ДГ4
Гідропероксили ліпідів, ΔD ₄₈₀ /г тканини					
Печінка	0,06±	0,08±	0,07±	0,084±	0,15±
	0,01	0,01*	0,03	0,01**	0,02**
Скелетні м'язи	0,04±	0,065±	0,06±	0,04±	0,06±
	0,002	0,003***	0,005**	0,004###	0,005**
Підшлункова залоза	0,13±	0,17±	0,14±	0,13±	0,21±
	0,01	0,01	0,01	0,01 [#]	0,01***
ТБК-активні продукти, нмоль/мл					
Печінка	1,77±	2,51±	1,8±	2,4±	2,77±
	0,08	0,12***	0,23 [#]	0,38	0,29**
Скелетні м'язи	0,56±	1,28±	0,69±	0,84±	0,81±
	0,05	0,15**	0,02###	0,03***	0,01***
Підшлункова залоза	0,77±	0,95±	0,86±	0,81±	0,89±
	0,11	0,02	0,05	0,07	0,11

Порівняно із тваринами ДГ1, вживання щурам розчину цитрату магнію зумовлювало зниження вмісту гідропероксидів ліпідів на 12,5% і ТБК-активних продуктів на 28,3% у печінці тварин ДГ2. Разом з тим, у тварин ДГ3 спостерігали зниження вмісту ТБК-активних продуктів, тоді як вміст

гідропероксидів ліпідів суттєво не змінювався стосовно ДГ1. Проте у тварин ДГ4 ми спостерігали зростання досліджуваних показників стосовно ДГ1, що може бути зумовлено занадто високою дозою цитрату магнію (табл. 3.8).

Аналізуючи вміст як гідропероксидів ліпідів, так і ТБК-активних продуктів у м'язовій тканині щурів ДГ1, спостерігали підвищення їх вмісту на 54,8% у порівнянні із тваринами КГ. Вірогідно достатній вміст гідропероксидів ліпідів встановлено у скелетних м'язах ДГ2 та ДГ4 на 50,0% порівняно з контрольними тваринами. Вміст ТБК-активних продуктів вищий у тварин ДГ2, ДГ3 і ДГ4, відповідно на 23,2, 50,0 і 44,6%, у порівнянні з КГ.

Однак порівняно з тваринами ДГ1, вміст гідропероксидів ліпідів у тварин ДГ2 і ДГ4 достовірно не змінювався, лише дещо знижувався на 7,7%, а у тварин ДГ3 достовірно знижувався на 35,4% (табл.3.8). У тварин ДГ2, ДГ3 та ДГ4 вміст ТБК-активних продуктів знижувався на 46,1, 34,4 та 36,7% відповідно, порівняно із тваринами ДГ1. Отримані результати дозволяють нам стверджувати, що цитрат магнію виявляє позитивний нормалізуючий ефект на вміст гідропероксидів ліпідів та ТБК-активних продуктів у скелетних м'язах тварин із ЦДА.

Встановлено деяке збільшення вмісту гідропероксидів ліпідів та ТБК-активних продуктів у підшлунковій залозі ДГ1 на 30,8 та 23,4% порівняно з тваринами контрольної групи. Не було встановлено різниць у вмісті гідропероксидів ліпідів у підшлунковій залозі ДГ2 та ДГ3, однак виявлено вірогідно більший їх вміст у тварин ДГ4 на 61,5% порівняно з контролем. Спостерігається певне збільшення вмісту ТБК-активних продуктів у підшлунковій залозі ДГ2, ДГ3 та ДГ4 на 11,7, 5,2 та 15,6% у порівнянні з контрольними тваринами. Однак, порівняно з тваринами ДГ1 цитрат магнію проявляв позитивний стабілізуючий вплив, знижуючи вміст гідропероксидів ліпідів у підшлунковій залозі тварин ДГ2 та ДГ3 на 17,65 та 23,53% відповідно, а у тварин ДГ4 їх вміст дещо зростав порівняно з ДГ1, що свідчить про посилення процесів ПОЛ за високої дози Mg у підшлунковій залозі тварин з ЦДА. У підшлунковій залозі ДГ2-ДГ4 спостерігали зменшення вмісту ТБК-

активних продуктів на 9,5, 14,7 та 6,3% відповідно, порівняно із тваринами з ЦД_A (табл.3.8).

Активация процесів ПОЛ визначається не лише процесами руйнування ліпідів, в результаті яких утворюються сполуки різного ступеня насиченості Оксигеном, а й активністю ензимів антиоксидантного захисту, що дозволяє більш об'єктивно оцінити швидкість руйнування та відновлення клітинних мембран, основним матеріалом яких і є ліпіди.

У печінці тварин ДГ1, спостерігалась напруженість до зниження активності СОД на 2,7% порівняно з тваринами контрольної групи. За впливу цитрату магнію на тлі ЦД_A у тварин ДГ2 і ДГ3 спостерігали незначне підвищення активності цього ензиму на 4,9 і 1,5% відповідно, а у тварин ДГ4 – достовірне підвищення на 18,6 % відносно тварин ДГ1, що свідчить про зростання адаптивно-захисної здатності печінки до елімінації активних форм Оксигену за впливу цитрату магнію (табл.3.9).

Результати досліджень свідчать про достовірне підвищення активності каталази у печінці тварин ДГ1 на 6,3%, а також у ДГ2 і ДГ3 у порівнянні з тваринами КГ. Порівняно з тваринами ДГ1 спостерігали достовірне зниження активності каталази у тварин ДГ2 (на 2,9%), ДГ3 (на 2,9%) та ДГ4 (на 5,9%) (табл.3.9).

Супероксиддисмутазна активність у м'язовій тканині щурів ДГ1 достовірно знижувалась на 36,2% та спостерігалась напруженість до зниження в інших дослідних групах порівняно із тваринами контрольної групи. Проте, відносно тварин ДГ1, при додаванні до раціону тварин цитрату магнію виявлено тенденцію до підвищення активності цього ензиму у ДГ2 на (13,7%) та достовірне зростання у ДГ3 (на 33,5%) (табл.3.9).

Результати досліджень свідчать про достовірне підвищення активності каталази у печінці тварин ДГ1 на 6,3%, а також у ДГ2 і ДГ3 у порівнянні з тваринами КГ. Порівняно з тваринами ДГ1 спостерігали достовірне зниження активності каталази у тварин ДГ2 (на 2,9%), ДГ3 (на 2,9%) та ДГ4 (на 5,9%) (табл.3.9).

**Супероксиддисмутазна і каталазна активність тканин щурів із ЦДА (ДГ1)
та за впливу цитрату магнію у дозах 100 (ДГ2), 250 (ДГ3) та
500 (ДГ4) мг Mg²⁺/кг (M±m, n=5)**

Тканина	Група тварин				
	КГ	ДГ1	ДГ2	ДГ3	ДГ4
Супероксиддисмутазна активність, ум. од./мг протеїну					
Печінка	54,70±1,54	53,21±1,56	55,80±1,37	54,01±1,76	63,12± 2,23 ^{##}
Скелетні м'язи	53,26±1,20	33,99± 2,05 ^{***}	38,64±3,28	45,38± 2,30 ^{##}	33,4± 3,24
Підшлункова залоза	29,40±1,17	17,48± 0,98 ^{***}	28,64± 1,46 ^{##}	27,67± 1,13 ^{##}	25,86± 0,16 ^{****}
Каталазна активність, мкмоль/хв•мг протеїну					
Печінка	0,32±0,002	0,34± 0,002 ^{***}	0,33± 0,003 ^{###}	0,33± 0,002 ^{***}	0,32± 0,005 ^{##}
Скелетні м'язи	0,17±0,01	0,18±0,01	0,17±0,02	0,20±0,01	0,27± 0,01 ^{###}
Підшлункова залоза	0,04±0,002	0,018± 0,001 ^{***}	0,04± 0,004 ^{##}	0,05± 0,005 ^{###}	0,014± 0,001 ^{****}

Результати досліджень свідчать про достовірне підвищення активності каталази у печінці тварин ДГ1 на 6,3%, а також у ДГ2 і ДГ3 у порівнянні з тваринами КГ. Порівняно з тваринами ДГ1 спостерігали достовірне зниження активності каталази у тварин ДГ2 (на 2,9%), ДГ3 (на 2,9%) та ДГ4 (на 5,9%) (табл.3.9).

Супероксиддисмутазна активність у м'язовій тканині щурів ДГ1 достовірно знижувалась на 36,2% та спостерігалась напрувленість до зниження в інших дослідних групах порівняно із тваринами контрольної групи. Проте, відносно тварин ДГ1, при додаванні до раціону тварин цитрату магнію

виявлено тенденцію до підвищення активності цього ензиму у ДГ2 на (13,7%) та достовірне зростання у ДГ3 (на 33,5%) (табл.3.9).

Спостерігали незначне підвищення активності каталази на 9,1% у м'язовій тканині тварин ДГ1 порівняно із тваринами контролю. Додавання цитрату магнію сприяло незначному зниженню активності каталази у м'язовій тканині тварин ДГ2 на 6,1%, однак підвищенню у тварин ДГ3 на 11,1% та ДГ4 на 54,4% порівняно із тваринами ДГ1 (табл.3.9).

У підшлунковій залозі тварин ДГ1 з ЦДА спостерігалось достовірне зниження активності СОД на 14,3% та каталази на 55% відносно тварин контрольної групи. При додаванні цитрату магнію до раціону тварин активність СОД підвищувалась у тварин ДГ2, ДГ3 та ДГ4 на 63,8%, 58,3% та 1,74%, та каталази у ДГ2 і ДГ3 у 2,22 рази, однак знижувалась у ДГ4 (табл.3.9).

Зменшення активності СОД та збільшення активності каталази у тварин ДГ1, що виражено більшою мірою в печінці та скелетних м'язах, може бути пов'язане з оксидативним стресом, зумовленим цукровим діабетом. У процесі знешкодження активних форм Оксигену першим спрацьовує супероксиддисмутаза, яка є більш залежною від вмісту макро- та мікроелементів у клітині, ніж каталаза. При цукровому діабеті відбувається інтенсивне використання ензимів антиоксидантного захисту, що супроводжується їх «відпрацюванням», в результаті чого велика кількість макроелементів, які входять до складу тих чи інших ензимів, виводиться з організму. Внаслідок цього хворий на ЦД організм не здатен синтезувати достатню кількість макроелементозалежних ензимів, або синтезує ензими з неповноцінним рівнем активності.

Активність глутатіонової ланки системи антиоксидантного захисту печінки щурів ДГ1 з характеризується достовірним зниженням активності глутатіонпероксидази на 21,5%. Це може бути зумовлене зменшенням як інтенсивності синтезу, так і підвищенням рівня деградації молекул ензиму за оксидативного стресу, викликаного ЕЦД. Активність глутатіонредуктази у печінці тварин ДГ1 достовірно не змінювалася стосовно контрольної групи

тварин. Вміст відновленого глутатіону у печінці тварин ДГ1 з експериментальним цукровим діабетом достовірно підвищувався на 33,8 % порівняно з тваринами контрольної групи. Наймовірніше, це може бути зумовлене зниженням активності глутатіонпероксидази або посиленням його синтезу *de novo*.

Цитрат магнію зумовлював підвищення активності глутатіонпероксидази у печінці тварин ДГ2, ДГ3 та ДГ4, відповідно на 12,3, 13,7 та 19,2% та глутатіонредуктази – у тварин ДГ3 та ДГ4, відповідно на 18,4 і 25,0% стосовно тварин ДГ1. У печінці тварин ДГ3 і ДГ4 вміст відновленого глутатіону, порівняно з тваринами ДГ1, знижувався на 9,2% і 18,4%, а у тварин ДГ2 не спостерігалось достовірних змін (табл.3.10).

Досліджуючи активність глутатіонової ланки АОС у м'язовій тканині (табл.3.10) тварин ДГ1 спостерігалось підвищення активності ГР та ГП, проте це супроводжувалось зниженням вмісту відновленого глутатіону (на 78,7%) у порівнянні з тваринами контрольної групи. У скелетних м'язах тварин ДГ2 та ДГ4 достовірно знижувалась активність ГР на 33,3 і 23,3%, а у тварин ДГ3 спостерігалась направленість до зниження активності ензиму порівняно із тваринами ДГ1. Вміст відновленого глутатіону зростав у м'язовій тканині тварин ДГ2, ДГ3 та ДГ4 порівняно із ДГ1.

Глутатіонпероксидазна активність у м'язах тварин ДГ2-ДГ4 знижувалась на 46,0%, 60,3% та 3,4%, порівняно із тваринами першої дослідної групи. Додавання до раціону тварин цитрату магнію сприяло деякій нормалізації показників глутатіонової ланки захисту.

У підшлунковій залозі тварин ДГ1 спостерігалось зниження активності ГП на 45,5%. Разом з тим, цитрат магнію зумовлював підвищення активності ГП – на 57,8% у тварин ДГ2, на 120,6% у тварин ДГ3 і на 35,6% у тварин ДГ4 стосовно активності ензиму у тварин ДГ1 (табл.3.10).

**Активність ензимів глутатіонової ланки та вміст відновленого глутатіону
в тканинах щурів із ЦДА (ДГ1) та за впливу цитрату магнію у дозах
100 (ДГ2), 250 (ДГ3) та 500 (ДГ4) мг Mg²⁺/кг (M±m, n=5)**

Тканина	Група тварин				
	КГ	ДГ1	ДГ2	ДГ3	ДГ4
Глутатіонпероксидазна активність, мкмоль/хв•мг протеїну					
Печінка	0,93± 0,01	0,73± 0,02***	0,82± 0,02**##	0,83± 0,07	0,87± 0,01**###
Скелетні м'язи	0,38± 0,13	2,37± 1,02	1,28± 0,25**	0,94± 0,01**	2,29± 0,17***
Підшлун- кова залоза	3,30± 0,31	1,8± 0,10**	2,84± 0,22##	3,97± 0,24###	2,44± 0,2*#
Глутатіонредуктазна активність, мкмоль/хв•мг протеїну					
Печінка	0,039± 0,001	0,038± 0,002	0,020± 0,002***	0,045± 0,001**###	0,050± 0,002**###
Скелетні м'язи	0,026± 0,001	0,03± 0,002	0,020± 0,002*##	0,024± 0,002	0,023± 0,002#
Підшлун- кова залоза	0,027± 0,001	0,023± 0,001*	0,025± 0,001	0,026± 0,003	0,024± 0,003
Вміст відновленого глутатіону, мМ/л					
Печінка	0,65± 0,003	0,87± 0,01***	0,86± 0,004***	0,79± 0,01***###	0,71± 0,002***###
Скелетні м'язи	0,75± 0,02	0,16± 0,01***	0,69± 0,05###	0,67± 0,04###	0,68± 0,06###
Підшлун- кова залоза	0,031± 0,004	0,015± 0,003*	0,024± 0,002#	0,028± 0,002##	0,023± 0,002

Встановлено меншу активність ГР у підшлунковій залозі тварин ДГ1 на 14,8% порівняно з тваринами контролю. У щурів ДГ2, ДГ3 та ДГ4 в підшлунковій залозі спостерігається направленість до зменшення активності ГР

відповідно на 7,4, 3,7 та 11,1% стосовно КГ. Не було встановлено суттєвих різниць в активності ГР підшлункової залози між щурами ДГ2-ДГ4 та ДГ1, хоча варто зауважити про незначну тенденцію до збільшення активності досліджуваного ензиму.

При дослідженні вмісту відновленого глутатіону встановили вірогідно менший його вміст у підшлунковій залозі тварин ДГ1 на 51,6% порівняно з контрольною групою щурів, що зумовлено частковим руйнуванням підшлункової залози внаслідок дії діабетогенного розчину алоксан моногідрату. Спостерігали деяке зменшення вмісту відновленого глутатіону в підшлунковій залозі тварин ДГ2, ДГ3 та ДГ4 на 22,6, 9,7 та 25,8% відповідно, порівняно до контролю. У тварин ДГ2 та ДГ3 встановлено вірогідно більший вміст відновленого глутатіону в підшлунковій залозі на 60,0 та 86,7%, а в ДГ4 спостерігалася тенденція до його збільшення на 53,3% порівняно до тварин ДГ1.

Збільшення вмісту відновленого глутатіону у тварин, які отримували різні дози Магнію, можна пояснити активацією клітинних рецепторів інсуліну. Це, у свою чергу, посилює анаболічний ефект гормону з відповідним посиленням окисно-відновних реакцій, в результаті яких, вивільнюється більша кількість атомів Гідрогену, які і кумулює на собі глутатіон. Дану реакцію кумулювання атомів Гідрогену каталізує ензим глутатіонредуктаза.

Висновки:

1. За умов ЦДА в організмі дослідних тварин, на фоні посилення утворення АФО і процесів ПОЛ, підвищувався вміст гідропероксидів ліпідів та ТБК-активних продуктів у крові та тканинах дослідних тварин.

2. Активність супероксиддисмутази за умов ЦДА знижувалась у крові та тканинах внутрішніх органів щурів, активність каталази у крові тварин ДГ1 знижувалась, натомість у тканинах печінки, скелетних м'язів та підшлункової залози – підвищувалась.

3. У крові та м'язовій тканині щурів за умов цукрового діабету спостерігалось підвищення активностей ензимів глутатіонової ланки захисту; у той час як у печінці та підшлунковій залозі – зниження.

4. Застосування цитрату магнію у різних дозах дозволило стабілізувати деякі ланки системи АОЗ із наступною деякою нормалізацією показників. Найбільш виражений оптимальний вплив цитрату магнію на активність системи АОЗ встановлено у третій дослідній групі тварин (250 мг Mg^{2+} /кг м.т.).

Результати досліджень опубліковані у працях [71, 79, 81, 84]

3.3. Вплив цитрату магнію у дозах 100, 250 та 500 мг Mg^{2+} /кг на ліпідний обмін в організмі щурів з ЦДА

Ліпіди відіграють важливу роль в обміні речовин, а також у формуванні структури клітин організму. Основним будівельним матеріалом клітинних мембран є саме ліпіди, які забезпечують відмежування клітини та міжклітинної рідини, органели та цитоплазми, цим самим виступаючи як бар'єр щодо проникнення речовин у клітину чи з неї назовні. Кількість ліпідів та їх відсоткове співвідношення свідчить про ступінь руйнації клітинних мембран. За умов різноманітних патологічних процесів в організмі, спричинених захворюваннями, збільшуються відсоткові співвідношення фракцій ліпідів, які легше піддаються окисненню [28, 59].

У результаті проведених експериментальних досліджень було встановлено несуттєве зростання вмісту загальних ліпідів у тварин ДГ1 з ЦДА на 8,7% відносно тварин контрольної групи. Разом з тим, за умови додавання до раціону цитрату магнію, у тварин ДГ2 та ДГ4 виявлено зниження вмісту загальних ліпідів на 2,2% та 8,2% порівняно із тваринами ДГ1. Це може бути зумовлено тим, що надходження Магнію в організм забезпечує підтримання активності ензимів ліпідного обміну. Натомість у плазмі крові тварин ДГ3 виявлено зростання вмісту загальних ліпідів на 6,9 % відносно тварин ДГ1 (рис.3.2). Це свідчить про інтенсифікацію ліпідного обміну. Організм в умовах ЦД під

впливом Магнію намагається синтезувати ліпіди з наступним їх використанням як пластичного матеріалу в клітинних мембранах з порушеною їх цілісністю.

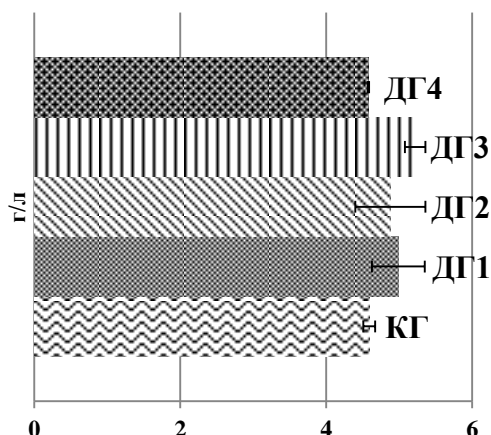


Рис.3.2 Вміст загальних ліпідів у плазмі крові щурів (n=5) із ЦДА (ДГ1) та за впливу цитрату магнію у дозах 100 (ДГ2), 250 (ДГ3) та 500 (ДГ4) мг $Mg^{2+}/кг$

У ході проведених досліджень, у плазмі крові щурів було виявлено зміни вмісту класів ліпідів, зокрема: фосфоліпідів, холестеролу, діацилгліцеролів, триацилгліцеролів, вільних (неестерифікованих) жирних кислот та естерифікованого холестеролу (табл.3.11).

Так, у плазмі крові щурів ДГ1 з експериментальним цукровим діабетом було виявлено збільшення вмісту холестеролу у 2,2 рази, триацилгліцеролів – на 4,9%, фосфоліпідів – на 5,7%, ефірів холестеролу – на 11,9% і вільних жирних кислот – на 3,6% та зниження вмісту діацилгліцеролів на 52,4% порівняно з їх вмістом в плазмі крові тварин КГ.

Також дослідженнями було виявлено достовірне зростання вмісту фосфоліпідів і холестеролу та зниження вмісту діацилгліцеролів і ефірів холестеролу у плазмі крові тварин ДГ3 порівняно до контрольної групи тварин. У тварин ДГ2 і ДГ4, у порівнянні з тваринами КГ, достовірних змін вмісту досліджуваних класів ліпідів не спостерігалось (табл.3.11).

Відносний вміст ліпідів у плазмі крові щурів ЦДА (ДГ1) та за впливу цитрату магнію у дозах 100 (ДГ2), 250 (ДГ3) та 500 (ДГ4) мг Mg²⁺/кг (M±m, n=5)

Клас ліпідів (%)	Група тварин				
	КГ	ДГ1	ДГ2	ДГ3	ДГ4
Фосфоліпіди	20,26±	21,41±	20,14±	29,24±	26,43±
	0,97	1,84	0,54	0,72 ^{****}	2,68 ^{###}
Холестерол	6,09±	13,51±	7,09±	11,2±	5,7±
	0,69	2,04 [*]	1,47	0,68 ^{***}	1,15
Ефіри холестеролу	25,42±	28,44±	25,58±	18,92±	23,85±
	1,96	3,90	3,58	0,51 ^{**}	0,11
Діацил-гліцероли	11,88±	5,65±	11,69±	8,49±	16,66±
	0,66	0,22 ^{***}	1,22 ^{##}	0,15 ^{****}	5,07
Триацил-гліцероли	16,98±	17,81±	16,15±	14,68±	14,41±
	1,72	1,27	2,17	1,15	0,55
Вільні жирні кислоти	12,54±	12,99±	11,85±	12,75±	12,97±
	0,45	0,66	0,59	0,52	0,59

Жирні кислоти є фізіологічно важливими, оскільки вони забезпечують організм енергією, є структурними компонентами гліколіпідів та фосфоліпідів. Однак відхилення у метаболізмі жирних кислот може бути причиною розвитку патогенезу ожиріння, а також цукрового діабету [192].

У плазмі крові щурів ДГ2 порівняно до їх вмісту в плазмі крові тварин ДГ1 з ЦДА виявлено збільшення вмісту діацилгліцеролів (у 2,07 рази) та зменшення вмісту фосфоліпідів на 5,9%, холестеролу – на 48,1 %, триацилгліцеролів – на 9,3%, вільних жирних кислот – на 8,8% та ефірів холестеролу – на 10,1%.

При дослідженні ліпідів плазми крові щурів ДГ3 порівняно з тваринами ДГ1 з ЦДА виявлено деяке зниження вмісту холестеролу на 17,0%, вільних жирних кислот – на 1,9%, триацилгліцеролів – на 17,8% та ефірів холестеролу –

на 33,5%, однак підвищення вмісту фосфоліпідів на 36,6% і діацилгліцеролів на 50,3%.

У плазмі крові щурів ДГ4 виявлено зростання вмісту фосфоліпідів на 23,5% і суттєве зростання вмісту діацилгліцеролів, а також зменшення вмісту холестеролу на 57,8%, триацилгліцеролів – на 19,1% та ефірів холестеролу – на 16,1% порівняно до їх вмісту в плазмі крові тварин ДГ1 з ЦДА.

Відомо, що основу клітин і субклітинних структур становлять фосфоліпіди (сфінго-, гліколіпіди), а також стероїди (холестерол). Роль фосфоліпідів у метаболізмі зумовлена наявністю в них лабільних метильних радикалів – CH_3 , які є надзвичайно необхідними для багатьох біосинтетичних процесів в організмі [23, 55]. Фосфоліпіди беруть участь у побудові клітинних мембран, транспорті жирів, жирних кислот і холестеролу.

Фосфоліпіди забезпечують пластичні властивості та плинність мембран, тоді як холестерол – жорсткість і стабільність. Зростання співвідношення холестерол/фосфоліпіди переважно й визначає плинність або жорсткість клітинної мембрани, а також ступінь розчинності холестеролу і його атерогенні властивості [29].

Отримані дані свідчать про те, що у крові тварин з цукровим діабетом суттєво зростає співвідношення холестерол/фосфоліпіди порівняно із тваринами контрольної групи (рис. 3.3).

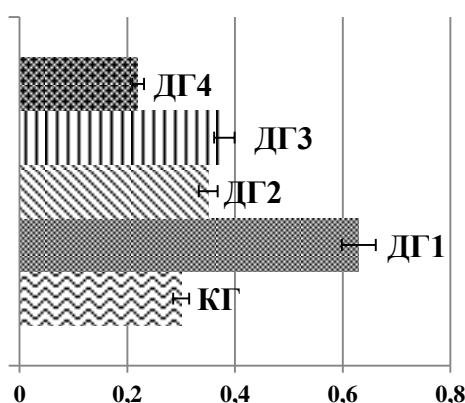


Рис. 3.3 Співвідношення холестерол/фосфоліпіди ($n=5$) у плазмі крові щурів із ЦДА (ДГ1) та за впливу цитрату магнію у дозах 100 (ДГ2), 250 (ДГ3) та 500 (ДГ4) мг Mg^{2+} /кг м.т.

Збільшення кількості холестеролу за умов ЦД зумовлене тим, що під час оксидативного стресу, спричиненого панкреатитом, проходить інтенсивне окиснення ліпідів, зокрема таких як моноацилгліцероли та диацилгліцероли. Це зумовлено тим, що дані класи ліпідів складаючи основу біліпідного шару клітинних мембран, легше піддаються окисненню у порівнянні із триацилгліцеролами, які є більш насичені ЖК. Таким чином, організм намагається відновити ті ділянки клітинних мембран, які є пошкодженні внаслідок окиснення ліпідів, за рахунок молекул холестеролу, збільшуючи його відсоткове співвідношення.

Було встановлено, що за додавання до раціону тварин цитрату магнію спостерігалось зменшення співвідношення холестерол/фосфоліпідів на 44,44% у тварини ДГ2, 39,68% – ДГ3 і 65,08% – ДГ4 (рис.3.3). Такі зміни у співвідношенні холестерол/фосфоліпідів можуть свідчити про зниження жорсткості мембран.

Висновки:

1. За умов ЦД_A вміст загальних ліпідів і окремих класів ліпідів, зокрема фосфоліпідів, холестеролу та його ефірів, триацилгліцеролів та вільних ЖК у плазмі крові тварин ДГ1 підвищувався.

2. Деяка нормалізація рівня окремих ланок ліпідного обміну у крові щурів із діабетом до рівня тварин контрольної групи досягається за умови додавання цитрату магнію у дозах 100 (ДГ2) та 250 (ДГ3) мг Mg²⁺/кг маси тіла.

Результати досліджень опубліковані у праці [83].

3.4. Вплив цитрату магнію на вміст Магнію у тканинах нирок і печінки щурів з експериментальним цукровим діабетом

Згідно результатів досліджень вміст Магнію у тварин ДГ1 з ЦД_A у тканині печінки знижувався на 25,21% (p<0,05), а у нирках підвищувався на 80,7% (p<0,001) у порівнянні із тваринами контрольної групи (рис.3.4). Такі зміни вмісту Магнію можливо пов'язані із посиленням осмотичного діурезу, що в свою чергу веде до посиленої екскреції макроелементу з організму.

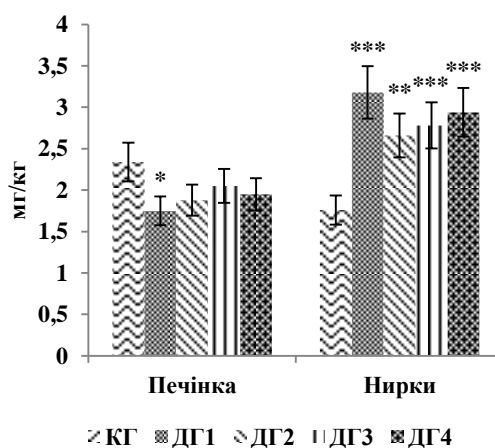


Рис. 3.4. Вміст Магнію в тканинах нирок і печінки щурів із ЦДА (ДГ1) та за впливу цитрату магнію у дозах 100 (ДГ2), 250 (ДГ3) та 500 (ДГ4) мг Mg^{2+} /кг, (n=5)

За додавання до раціону тварин водного розчину цитрату магнію вміст Магнію підвищувався у печінці тварин ДГ2 на 17,1%, у тварин ДГ3 – на 7,4%, а у тварин ДГ4 – на 11,4%. Натомість у нирках вміст Магнію знижувався на 16,4% у тварин ДГ2, на 12,6% у тварин ДГ3 та на 7,5% у тварин ДГ4 порівняно із тваринами ДГ1. Однак у тварин ДГ2, ДГ3 та ДГ4 вміст Магнію у нирках підвищувався на 43,2, 58,0 та 67,1% порівняно із контрольною групою тварин. Це може бути пов'язано із нормалізацією рівня інсуліну в крові дослідних тварин, біохімічна дія якого, в свою чергу, залежить від достатнього надходження Магнію в організм.

Таким чином, результати наших досліджень демонструють, що добавка досліджуваної сполуки Магнію у перспективі може стати основою розробки засобів корекції виникнення і розвитку ускладнень за цукрового діабету, що зумовлюють патологічні зміни різних ланок метаболізму.

Висновки:

1. Спостерігали зниження вмісту Магнію (на 25,2%) у печінці тварин з ЦДА, натомість зростання (на 80,7%) – у нирках.

2. Цитрат магнію, у досліджуваних дозах, сприяв частковій нормалізації вмісту досліджуваного макроелементу в печінці та нирках дослідних тварин на тлі ЦД_A.

Встановлення оптимальної дози цитрату магнію (250 мг Mg²⁺/кг м.т.), у результаті проведення першого етапу досліджень, та цитрату хрому в таких дозах, що проявляють позитивний ефект на метаболічні процеси в організмі щурів, встановлених у попередніх дослідженнях, спонукало нас до проведення наступного етапу досліджень. Метою цього етапу було оцінити сумісний вплив досліджуваних сполук на окремі ланки вуглеводного, ліпідного обмінів та стан про/антиоксидантної системи в організмі щурів з ЦД_A.

3.5. Сумісний вплив цитратів магнію та хрому на концентрацію інсуліну, С-пептиду та глюкози в плазмі крові щурів за умов ЦД_A

Цукровий діабет, як ендокринно-обмінне захворювання, характеризується гіперглікемією та глибокими порушеннями всіх обмінних процесів, основною причиною яких є відносна або абсолютна недостатність інсуліну [212].

У результаті проведених досліджень (табл. 3.14) було встановлено, що у тварин ДГ1 з ЦД_A концентрація інсуліну знижується на 34,5% порівняно із тваринами контрольної групи, що свідчить про значне зменшення синтезувальної функції підшлункової залози внаслідок пошкодження її алоксаном.

Проте, за сумісного впливу цитратів магнію і хрому (у дозах 250 мг Mg²⁺/кг і 25 мкг Cr³⁺/кг м.т.) у тварин ДГ2 спостерігалось підвищення концентрації інсуліну на 49,4%, порівняно із показниками тварин ДГ1. У плазмі крові тварин третьої дослідної групи, які разом із питною водою отримували цитрати в кількості 250 мг Mg²⁺/кг м.т. і 10 мкг Cr³⁺/кг м.т., концентрація інсуліну підвищувалася на 32,2%, порівняно із тваринами першої дослідної групи з ЦД_A, однак були нижчими стосовно КГ на 13,37%.

Концентрація інсуліну і С-пептиду у плазмі крові щурів із ЦД_A (ДГ1) та за сумісного впливу цитратів магнію і хрому у дозах 250 мг Mg²⁺ та 25 мкг Cr³⁺/кг (ДГ2) та 250 мг Mg²⁺ та 10 мкг Cr³⁺/кг (ДГ3) (M±m, n=5)

Показник	Група тварин			
	КГ	ДГ1	ДГ2	ДГ3
Інсулін, мкО/мл	3,74±	2,45±	3,66±	3,24±
	0,01	0,01 ^{***}	0,01 ^{###}	0,02 ^{#####}
С-пептид, нг/мл	3,81±	1,35±	3,00±	4,56±
	0,02	0,01 ^{***}	0,09 ^{#####}	0,01 ^{#####}

Відомо, що С-пептид є протеїновою частиною молекули проінсуліну, що утворюється в процесі синтезу інсуліну. У відповідь на фізіологічне збільшення вмісту глюкози проінсулін розщеплюється на інсулін і С-пептид, які секретуються у кров. Як видно з таблиці 3.12 у тварин ДГ1 концентрація С-пептиду знижувалась на 64,6%, порівняно із показником тварин контрольної групи. У тварин ДГ2 і ДГ3 концентрація С-пептиду достовірно зростала порівняно із тваринами ДГ1 з ЦД_A, однак була нижчою стосовно КГ1 на 2,1% у ДГ2 та вищою на 2,1% у ДГ3.

На фоні зниження концентрації інсуліну, у плазмі крові тварин ДГ1 з ЦД_A спостерігалось достовірне підвищення концентрації глюкози (у 3,9 раз), порівняно із тваринами контрольної групи (рис.3.5).

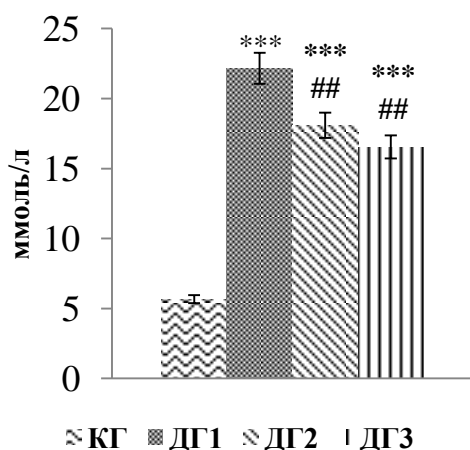


Рис. 3.5. Концентрація глюкози в плазмі крові щурів (n=5) із ЦД_A (ДГ1) та за сумісного впливу цитратів магнію і хрому у дозах 250 мг Mg²⁺ і 25 мкг Cr³⁺/кг (ДГ2) та 250 мг Mg²⁺ і 10 мкг Cr³⁺/кг (ДГ3).

Як видно з рисунку 3.4, концентрація глюкози у ДГ2 і ДГ3, за сумісного додавання цитратів магнію і хрому, достовірно знижувалася на 18,4% і 25,3% відповідно, порівняно із тваринами ДГ1, однак була вищою порівняно до КГ, відповідно у 3,2 та 2,9 рази.

Висновки:

1. Було виявлено, що за підвищення рівня глюкози у крові відбув зниження рівня С-пептиду та інсуліну за умов цукрового діабету.

2. Сумісне додавання цитратів магнію та хрому зумовлювало зниження концентрації глюкози та підвищення інсуліну та С-пептиду в плазмі крові щурів з ЦДА, причому цитрат магнію у дозі 250 мг/кг м.т. та цитрату хрому у дозі 25 мкг/кг м.т. проявляли більш істотний ефект.

Результати досліджень опубліковані у працях [74, 76, 205]

3.6. Сумісний вплив цитратів магнію та хрому на вуглеводний обмін в організмі щурів за умов ЦДА

Важливим джерелом енергії для усього організму виступають вуглеводи, основним з яких є глюкоза. Після надходження у клітини організму вона фосфорилується, а потім або перетворюється у глікоген, або окиснюється до вуглекислого газу і води. Таким чином, гліколіз є одним з основних енергогенеруючих шляхів вуглеводного обміну. Проте у клітинах крові чи тканин організму інтенсивність шляхів перетворення вуглеводів неоднакова, оскільки визначається певними особливостями обміну [130].

3.6.1. Активність деяких ензимів вуглеводного обміну в крові щурів із ЦДА та за сумісної дії цитратів магнію і хрому. Проведенні нами дослідження активності основних ензимів вуглеводного обміну в еритроцитах крові щурів ДГ1 свідчать про зниження активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази на 14,0% і підвищення активності лактатдегідрогенази на 1,6%, порівняно із тваринами контрольної групи (табл.3.13).

В свою чергу, сумісна дія цитратів магнію і хрому проявляла стабілізуючий вплив на біохімічні процеси перетворення глюкози, і як наслідок, у тварин ДГ2 і ДГ3 спостерігалась напрувленість до збільшення активності Г-6-ФДГ на 11,9 і 5,3% відповідно, а при дослідженні активності ЛДГ – спостерігалась напрувленість до її зниження на 2,8 і 8,6% порівняно із тваринами ДГ1.

Таблиця 3.13.

Активність деяких ензимів вуглеводного обміну в еритроцитах крові щурів із ЦДА (ДГ1) та за сумісного впливу цитратів магнію і хрому у дозах 250 мг Mg²⁺ і 25 мкг Cr³⁺/кг (ДГ2) та 250 мг Mg²⁺ і 10 мкг Cr³⁺/кг (ДГ3), мкмоль/хв•мг протеїну (M±m, n=5)

Ензим	Група тварин			
	КГ	ДГ1	ДГ2	ДГ3
Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа	11,07±0,90	9,52±0,45	10,65±0,51	10,02±0,22
Лактатдегідрогеназа	103,09±5,88	104,70±3,61	101,74±10,60	95,74±3,07

Збільшення активності Г-6-ФДГ та ЛДГ у тварин, які отримували сполуки Магнію та Хрому, на тлі ЦД, можна пояснити тим, що досліджувані макро- та мікроелементи можуть бути активаторами, або входити до складу інших активаторів клітинних мембранних рецепторів інсуліну, з відповідним посиленням та пролонгацією його дії, що в першу чергу проявляється на інтенсифікації вуглеводного обміну.

3.6.2. Сумісний вплив цитратів магнію і хрому на показники вуглеводного обміну в тканинах щурів із ЦДА. Досліджуючи глюкозо-6-фосфатдегідрогеназну активність у тканинах (табл.3.14), ми виявили достовірне її зниження на 30,7% у печінці, 53,3% в м'язах та 15,0% у підшлунковій залозі щурів ДГ1 порівняно з тваринами КГ. Дані зміни, можливо, зумовлені порушенням здатності β-клітин підшлункової залози в достатній кількості

синтезувати інсулін. За цукрового діабету інсулін, в свою чергу, не здатен повноцінно діяти, що і призводить до зменшення інтенсивності вуглеводного обміну, як наслідок це супроводжується зменшенням активності досліджуваного ензиму.

Порівняно з тваринами КГ у тварин ДГ2 та ДГ3 спостерігалось достовірне зниження активності Г-6-ФДГ у скелетних м'язах (на 18,94% та 17,15%), направленість до зниження активності ензиму у підшлунковій залозі та зростання у печінці дослідних тварин.

Таблиця 3.14.

Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназна активність в тканинах щурів із ЦДА (ДГ1) та за сумісного впливу цитратів магнію і хрому у дозах 250 мг Mg²⁺ і 25 мкг Cr³⁺/кг (ДГ2) та 250 мг Mg²⁺ і 10 мкг Cr³⁺/кг (ДГ3); нмоль/хв•мг протеїну (M±m, n=5)

Тканина	Група тварин			
	КГ	ДГ1	ДГ2	ДГ3
Печінка	217,0±24,6	150,4±10,9 [*]	243,4±24,9 ^{##}	230,8±11,0 ^{###}
Скелетні м'язи	42,46±2,22	19,82±1,44 ^{***}	34,42±0,92 ^{**###}	35,18±0,85 ^{**###}
Підшлункова залоза	35,32±7,16	30,01±3,97	33,97±2,50	31,61±1,40

За сумісної дії цитратів магнію і хрому спостерігались зміни в активності Г-6-ФДГ з наближенням показників до норми.

Так, порівняно із тваринами ДГ1, у тварин ДГ2 та ДГ3 спостерігалось зростання активності Г-6-ФДГ у печінці на 61,8% та 53,5%, у скелетних м'язах – на 73,7% і 77,5%, у підшлунковій залозі спостерігалась направленість до зростання на 13,20% та 5,33%.

Лактатдегідрогеназна активність у печінці та підшлунковій залозі тварин ДГ1 достовірно знижувалась (на 69,9% та 46,9%), а у м'язах підвищувалась (у 2,27 раз) порівняно з тваринами контрольної групи (табл.3.15). Такі зміни активності досліджуваного ензиму можуть бути зумовлені надмірною

гіперглікемією, недостатністю дії інсуліну та особливостями досліджуваних тканини організму.

Сумісне застосування цитратів дозволило частково нормалізувати рівень лактатдегідрогеназної активності: у печінці тварин ДГ2 та ДГ3 вона зростала у 3,8 та 4,5 рази; у підшлунковій залозі – на 71,1% та 84,6%, а у м'язовій тканині – знижувалась на 37,8% та 27,8% порівняно із тваринами ДГ1 (табл. 3.15).

Таблиця 3.15.

Лактатдегідрогеназна активність в тканинах щурів із ЦДА (ДГ1) та за сумісного впливу цитратів магнію і хрому у дозах 250 мг Mg²⁺ і 25 мкг Cr³⁺/кг (ДГ2) та 250 мг Mg²⁺ і 10 мкг Cr³⁺/кг (ДГ3) (M±m, n=5); мкмоль/хв•мг протеїну

Тканина	Група тварин			
	КГ	ДГ1	ДГ2	ДГ3
Печінка	3,59±0,43	1,08±0,16 ^{**}	4,13±0,27 ^{###}	4,90±0,36 ^{####}
Скелетні м'язи	1,06±0,04	2,41±0,1 ^{***}	1,5±0,1 ^{**####}	1,74±0,08 ^{**####}
Підшлункова залоза	0,98±0,1	0,52±0,1 ^{**}	0,89±0,01 ^{##}	0,96±0,01 ^{##}

Згідно даних таблиці 3.16, підтвердженню змін лактатдегідрогеназної активності слугує зміна вмісту L-лактату і пірувату у тканинах щурів. Так, у печінці тварин ДГ1 вміст лактату зростав на 31,2%, а вміст пірувату знижувався на 65%, у м'язовій тканині вміст L-лактату підвищувався на 13,2% та знижувався вміст пірувату на 70,5%, у підшлунковій залозі вміст лактату достовірно зростав на 62,5%, тоді як вміст L-лактату достовірно знижувався на 48,0% порівняно із показниками тварин КГ.

Проте, при сумісному застосуванні цитрату магнію в дозі 250 мг Mg²⁺/кг маси тіла і цитрату хрому в дозі 25 мкг Cr³⁺/кг маси тіла, у печінці тварин ДГ2 на фоні підвищення активності лактатдегідрогенази, вміст лактату і пірувату знижувалися на 3,6 і 14,8% відповідно, порівняно із показниками тварин ДГ1. У печінці тварин ДГ3 також спостерігалось зниження вмісту лактату (на 14,1%)

та незначне підвищення вмісту пірувату (на 14,8%) порівняно із тваринами ДГ1, що може бути зумовлено частковою нормалізацією аеробного шляху окиснення глюкози за впливу Магнію і Хрому (табл.3.16.).

Таблиця 3.16.

Вміст L-лактату і пірувату в тканинах щурів із ЦД_A (ДГ1) та за сумісного впливу цитратів магнію і хрому у дозах 250 мг Mg²⁺ і 25 мкг Cr³⁺/кг (ДГ2) та 250 мг Mg²⁺ і 10 мкг Cr³⁺/кг (ДГ3) (M±m, n=5)

Тканина	Група тварин			
	КГ	ДГ1	ДГ2	ДГ3
L-лактат, мМ				
Печінка	0,19±0,08	0,25±0,09	0,24±0,07	0,21±0,05
Скелетні м'язи	0,91±0,08	1,03±0,08	0,99±0,06	0,91±0,09
Підшлункова залоза	0,16±0,03	0,26±0,02 ^{**}	0,23±0,02	0,21±0,03
Піруват, мМ				
Печінка	0,08±0,01	0,03±0,01 ^{**}	0,02±0,01 ^{**}	0,03±0,02
Скелетні м'язи	0,078±0,007	0,023±0,001 ^{***}	0,031±0,003 ^{***#}	0,03±0,003 ^{***}
Підшлункова залоза	0,25±0,03	0,13±0,03 ^{**}	0,23±0,04	0,17±0,01 [*]

Зниження лактатдегідрогеназної активності у м'язовій тканині тварин ДГ2 та ДГ3 супроводжувалось незначним зниження вмісту L-лактату на 3,9 і 11,7% та підвищенням вмісту пірувату на 34,8 та 30,4% порівняно із тваринами ДГ1 (табл.3.16.).

Згідно з даними таблиці 3.16, у підшлунковій залозі тварин ДГ2 і ДГ3 вміст L-лактату знижувався на 11,5% і 80,8%, а вміст пірувату зростав на 76,9% та 30,8% у порівнянні із тваринами ДГ1.

Висновки:

1. За цукрового діабету встановлено порушення функціонування досліджуваних ензимів вуглеводного обміну: зниження Г-6-ФДГ-ної активності

у крові, печінці, скелетних м'язах та підшлунковій залозі; зниження активності ЛДГ у печінці та підшлунковій залозі, проте підвищення – у крові та скелетних м'язах.

2. Зміни активностей ензимів вуглеводного обміну, що відбувалися на тлі цукрового діабету, є причиною підвищення вмісту L-лактату та зниження вмісту пірувату у печінці, скелетних м'язах та підшлунковій залозі.

3. Застосування цитрату магнію сумісно із цитратом хрому, дозволило нормалізувати активність досліджуваних ензимів вуглеводної ланки метаболізму: підвищити активність Г-6-ФДГ у всіх досліджуваних тканинах організму та ЛДГ у печінці і підшлунковій залозі, проте знизити активність ЛДГ – у крові та скелетних м'язах.

4. За умов сумісного додавання до раціону тварин цитратів магнію та хрому вміст L-лактату знижувався, а вміст пірувату зростав у досліджуваних тканинах.

Результати досліджень опубліковані у працях [56, 69, 77, 80, 205]

3.7. Сумісний вплив цитратів магнію та хрому на інтенсивність процесів перикисного окиснення ліпідів та стан антиоксидантної системи в організмі щурів з ЦДА.

3.7.1. Інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів та активність ключових ензимів антиоксидантної системи захисту в крові щурів із ЦДА та за сумісного впливу цитратів магнію і хрому. Встановлено зростання вмісту гідропероксидів ліпідів у 3,67 раз і ТБК-активних продуктів у 2,59 раз у плазмі крові щурів ДГ1 порівняно із тваринами КГ. Сумісне застосування цитратів зумовлювало достовірне зниження вмісту гідропероксидів ліпідів у плазмі крові тварин ДГ3 на 42,7%, тоді як у тварин ДГ2 спостерігалась направленість до зниження їх вмісту (на 6,3%) порівняно із тваринами ДГ1, однак стосовно КГ вони були вірогідно вищі. Вміст ТБК-активних продуктів був достовірно нижчим у плазмі крові тварин ДГ2 та ДГ3,

відповідно на 73,6% та 32,2% порівняно із тваринами ДГ1 (табл.3.17.), в той час як стосовно КГ у тварин ДГ2 – нижчим, а в тварин ДГ3 - вищим.

Таблиця 3.17.

Вміст продуктів ПОЛ в плазмі крові щурів із ЦД_A (ДГ1) та за сумісного впливу цитратів магнію і хрому у дозах 250 мг Mg²⁺ і 25 мкг Cr³⁺/кг (ДГ2) та 250 мг Mg²⁺ і 10 мкг Cr³⁺/кг (ДГ3) (M±m, n=5)

Показники	Група тварин			
	КГ	ДГ1	ДГ2	ДГ3
Гідропероксиди ліпідів, ΔD ₄₈₀ /мл	0,99± 0,47	3,63± 0,22**	3,40± 0,26**	2,08± 0,02***
ТБК-активні продукти, нмоль/мл	1,39± 0,07	3,60± 0,15***	0,95± 0,11****	2,44± 0,31***

Зменшення вмісту ТБК-активних продуктів, кінцевих продуктів ПОЛ, у плазмі крові тварин ДГ2 при майже однаковому рівні ГПЛ є безперечно позитивним ефектом, що свідчить про спроможність організму ефективно знижувати ступінь пероксидного окиснення ліпідів. Отже, за умов експериментально індукованого цукрового діабету під впливом Магнію та Хрому, організм може ефективно відновлювати частково пошкоджені Оксигеном ліпіди.

Інтенсивність процесів руйнування клітинних мембран, а також утворення гідропероксидів ліпідів лімітується ензиматичною ланкою антиоксидантного захисту. При слабкій опірності організму до пероксидації ліпідів проходить повне їх руйнування з утворенням кінцевих сполук – ТБК-активних продуктів. Ензими системи антиоксидантного захисту, зв'язуючи Оксиген в окиснених ліпідах, забезпечують відновлення пошкоджених ділянок клітинних мембран. Таким чином за активністю антиоксидантних ензимів у деякій мірі можна охарактеризувати інтенсивність загибелі клітин, що має важливе діагностичне

значення для визначення ступеня важкості того чи іншого патологічного стану організму.

Спостерігалось достовірне зниження активності супероксиддисмутази у еритроцитах крові щурів ДГ1 за умов ЦДА на 44,8% та на 41,5% у тварин ДГ3, а також зменшення активності ензиму у тварин ДГ2 на 11,8% порівняно із контрольною групою тварин (табл.3.18).

Таблиця 3.18.

Активність супероксиддисмутази та каталази в еритроцитах крові щурів із ЦДА (ДГ1) та за сумісного впливу цитратів магнію і хрому у дозах 250 мг Mg^{2+} і 25 мкг Cr^{3+} /кг (ДГ2) та 250 мг Mg^{2+} і 10 мкг Cr^{3+} /кг (ДГ3) ($M \pm m$, $n=5$)

Показник	Група тварин			
	КГ	ДГ1	ДГ2	ДГ3
Супероксид-дисмутаза, ум. од./мг протеїну	28,21± 1,56	15,52± 0,95 ^{***}	24,87± 1,05 ^{###}	16,50± 1,29 ^{***}
Каталаза, мкмоль/хв•мг протеїну	19,09± 0,63	15,15± 0,94	17,16± 0,52 [#]	16,31± 0,74 ^{##}

За умов застосування цитратів у тварин ДГ2 і ДГ3 активність цього ензиму підвищувалась на 60,3% ($p < 0,001$) і 6,3% відповідно, у порівнянні до тварин ДГ1 (табл.3.18.), що свідчить про позитивний ефект від застосування досліджуваних сполук, зумовлений, очевидно, покращенням функції β -клітин підшлункової залози.

При дослідженні активності каталази було встановлено направленість до її зниження в еритроцитах крові щурів ДГ1, ДГ2 та ДГ3 на 20,6, 10,1 та 14,6% відповідно, порівняно із контрольною групою тварин. Проте, за сумісного додавання цитратів магнію і хрому, у тварин ДГ2 активність цього ензиму підвищувалась на 11,9%, а у тварин ДГ3 – на 7,7% у порівнянні до тварин ДГ1.

(табл.3.18.). Збільшення активності КАТ під дією сполук Магнію та Хрому можна пояснити покращенням зв'язування інсуліну, який виступає антагоністом кортизолу, що пригнічує активність антиоксидантних ензимів.

Важливу роль відіграє глутатіонова система у знешкодженні активних форм Оксигену, що здатні пошкоджувати структурні клітинні компоненти. Оцінка активності ензимів глутатіонової ланки антиоксидантного захисту необхідна для більш повного аналізу стану системи антиоксидантного захисту організму.

Виявлено, що в еритроцитах крові тварин ДГ1 з ЦДА зростала активність ГП на 50,0% ($p < 0,01$), ГР на 21,2% і вміст відновленого глутатіону на 30,8% порівняно із КГ тварин (табл.3.19.), що свідчить про активацію глутатіонової ланки антиоксидантного захисту при оксидативному стресі за умов ЦД.

Таблиця 3.19.

Активність ензимів глутатіонової ланки та вміст відновленого глутатіону в еритроцитах крові щурів із ЦДА (ДГ1) та за сумісного впливу цитратів магнію і хрому у лозах 250 мг Mg^{2+} і 25 мкг Cr^{3+} /кг (ДГ2) та 250 мг Mg^{2+} і 10 мкг Cr^{3+} /кг (ДГ3) ($M \pm m$, $n=5$)

Показник	Група тварин			
	КГ	ДГ1	ДГ2	ДГ3
Глутатіонпероксидаза, мкмоль/хв•мг протеїну	17,58±0,91	26,37±2,72**	23,85±0,77***	17,80±0,95##
Глутатіонредуктаза, мкмоль/хв•мг протеїну	3,40±0,31	4,12±0,96	2,75±0,26	3,10±0,34
Відновлений глутатіон, мМ/л	0,026±0,002	0,034±0,003	0,029±0,001	0,027±0,002

Крім цього, було встановлено високу активність ГП у крові тварин ДГ2, яка була збільшена на 35,7% порівняно з контролем. Не було встановлено суттєвих міжгрупових різниць у досліджуваних показниках між тваринами дослідних груп та контрольною.

Проте, комплекс цитратів магнію і хрому у тварин ДГ2 та ДГ3 сприяв зниженню вмісту відновленого глутатіону на 14,7 та 20,6%, активності глутатіонредуктази на 33,3 та 24,8% та глутатіонпероксидази на 9,4 та 32,5% ($p < 0,01$) порівняно із тваринами ДГ1 (табл.3.19.).

3.7.2. Вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів та активність ключових ензимів антиоксидантної системи в тканинах щурів із ЦДА та за сумісного впливу цитратів магнію і хрому. Збільшене утворення вільних радикалів в організмі та їхня роль в патогенезі цукрового діабету та розвитку його ускладнень наразі не викликає сумнівів. З огляду на це, одним із обов'язкових компонентів лікування діабету є застосування антиоксидантної терапії та забезпечення збереження балансу між швидкістю ПОЛ та активністю антиоксидантної системи [167].

Печінка – орган, що одним з перших реагує на будь-які патологічні стани в організмі, вона відіграє фільтраційну роль щодо крові, знешкоджуючи різноманітні продукти розпаду та токсини. Тому за станом процесів у печінці можна судити про стан важкості того чи іншого захворювання.

У печінці тварин ДГ1 з ЦДА підвищувався вміст продуктів ПОЛ, зокрема гідропероксидів ліпідів на 3,6% та ТБК-активних продуктів на 104,8% порівняно із тваринами контрольної групи (табл.3.20).

Проте, комплекс цитратів магнію і хрому сприяв зниженню вмісту продуктів ПОЛ у печінці тварин з ЦДА. Так, у тварин ДГ2 і ДГ3 спостерігалось зниження вмісту гідропероксидів ліпідів на 7,0 та 12,3% та достовірне зниження вмісту ТБК-позитивних продуктів на 33,3 та 52,7%, порівняно із тваринами ДГ1 з ЦДА.

Це свідчить про позитивний ефект від застосування сполук Магнію та Хрому, які мають опосередковану антиоксидативну дію, що зумовлена покращенням зв'язування інсуліну з інсуліновими клітинними мембранними рецепторами.

Вміст продуктів ПОЛ в тканинах щурів із ЦДА (ДГ1) та за сумісного впливу цитратів магнію і хрому у дозах 250 мг Mg²⁺ і 25 мкг Cr³⁺/кг (ДГ2) та 250 мг Mg²⁺ і 10 мкг Cr³⁺/кг (ДГ3) (M±m, n=5)

Тканина	Група тварин			
	КГ	ДГ1	ДГ2	ДГ3
Гідропероксиди ліпідів, ΔD ₄₈₀ /мл				
Печінка	0,55±0,02	0,57±0,01	0,53±0,05	0,50±0,04
Скелетні м'язи	0,047±0,004	0,05±0,009	0,045±0,004	0,044±0,007
Підшлункова залоза	0,09±0,008	0,15±0,007***	0,06±0,004***##	0,03±0,004***##
ТБК-активні продукти, нмоль/мл				
Печінка	2,52±0,30	5,16±0,51**	3,44±0,42 [#]	2,44±0,64 ^{##}
Скелетні м'язи	0,51±0,12	0,79±0,04	0,63±0,05 [#]	0,52±0,02 ^{##}
Підшлункова залоза	0,60±0,03	0,98±0,02***	0,38±0,01***##	0,58±0,03 ^{##}

Скелетні м'язи активно використовують Оксиген для отримання енергії з наступним її застосуванням для скорочення. При використанні Оксигену для спалювання енергоємних речовин, він також може діяти згубно на клітинні мембрани, руйнуючи їх. Тому процеси ПОЛ у м'язах мають важливе діагностичне значення.

У тканині скелетних м'язів тварин ДГ1 спостерігалась напруість до підвищення вмісту гідропероксидів ліпідів на 6,4% і ТБК-активних продуктів на 54,9% порівняно із тваринами КГ.

Додавання до раціону комплексу цитратів у тварин ДГ2 та ДГ3 зумовлювало зниження вмісту гідропероксидів ліпідів, відповідно на 10,0 та 12,0% та достовірне зниження вмісту ТБК-активних продуктів на 20,3 та 34,2% (табл.3.20). Це свідчить про послаблення дії кортизолу, який сприяє посиленню процесів ПОЛ за ЦД.

Аналізуючи вміст гідропероксидів ліпідів і ТБК-активних продуктів у підшлунковій залозі щурів ДГ1, ми спостерігали достовірне підвищення вмісту гідропероксидів ліпідів на 66,7% та ТБК-активних продуктів на 63,3% у порівнянні із показниками тварин КГ. Аналізуючи вміст продуктів ПОЛ у підшлунковій залозі тварин ДГ2 і ДГ3 порівняно з тваринами контролю, було зауважено достовірне зниження вмісту ГПЛ на 33,3 і 33,7% та ТБК-активних продуктів на 12,2 і 3,3% відповідно. Разом з тим, отримані результати дозволяють нам стверджувати, що цитрати магнію і хрому призводять до нормалізуючих ефектів щодо вмісту продуктів ПОЛ. Так, у тварин ДГ2 вміст гідропероксидів ліпідів та ТБК-активних продуктів знижувався на 60,0 та 61,2%, а в тварин ДГ3 – на 80,0 та 40,8%, порівняно із тваринами ДГ1 (табл.3.20). Посилення процесів пероксидації ліпідів у підшлунковій залозі тварин ДГ1 зумовлено перебігом експериментально індукованого цукрового діабету, що зумовлювало розвиток панкреатиту. Проте, застосування цитратів магнію та хрому, дещо нівелює розвиток запальних процесів, та сприяє нормалізації процесів окиснення ліпідів.

Було виявлено направленість до зниження супероксиддисмутази на 1,7% та підвищення каталази на 5,9% активності у печінці тварин ДГ1 порівняно із тваринами КГ. Проте, за сумісної дії цитратів магнію і хрому у тварин ДГ2 і ДГ3 ми спостерігали підвищення СОД-ної на 2,3 і 5,2% та зниження КАТ-ної активності на 8,3 і 2,8% порівняно із тваринами ДГ1 (табл.3.21). Такі зміни активності СОД та КАТ зумовлені зменшенням пошкоджуючої дії кортизолу через покращення дії інсуліну – антагоніста кортизолу.

Супероксиддисмутазна активність у м'язовій тканині щурів ДГ1 достовірно знижувалася на 21,1% порівняно із тваринами контрольної групи. У тварин ДГ2 і ДГ3 активність цього ензиму підвищувалась на 10,0 і 13,3% відповідно, порівняно із тваринами ДГ1. Каталазна активність у м'язовій тканині тварин ДГ1 підвищувалась (на 12,0%), порівняно із тваринами КГ, проте у тварин ДГ2 та ДГ3 –знижувалась на 7,1% порівняно із тваринами ДГ1 (табл.3.21).

Активність супероксиддисмутази та каталази в тканинах щурів із ЦДА (ДГ1) та за сумісного впливу цитратів магнію і хрому у дозах 250 мг Mg²⁺ і 25 мкг Cr³⁺/кг (ДГ2) та 250 мг Mg²⁺ і 10 мкг Cr³⁺/кг (ДГ3) (M±m, n=5)

Тканина	Група тварин			
	КГ	ДГ1	ДГ2	ДГ3
Активність супероксиддисмутази, ум. од./мг протеїну				
Печінка	1,75±0,05	1,72±0,07	1,76±0,04	1,81±0,02
Скелетні м'язи	0,38±0,03	0,30±0,01*	0,33±0,004 [#]	0,34±0,008 ^{##}
Підшлункова залоза	2,63±0,28	1,74±0,11**	2,13±0,31	1,82±0,23
Активність каталази, мкмоль/хв•мг протеїну				
Печінка	0,34±0,01	0,36±0,01	0,33±0,01	0,35±0,01
Скелетні м'язи	0,25±0,01	0,28±0,01	0,26±0,01	0,26±0,02
Підшлункова залоза	0,27±0,04	0,16±0,01*	0,19±0,01	0,18±0,03

Супероксиддисмутазна та каталазна активність у підшлунковій залозі тварин ДГ1 знижувалась, відповідно на 33,8% та 40,7%, порівняно із тваринами контрольної групи. Проте за додавання до раціону тварин ДГ2 і ДГ3 цитратів, ми спостерігали підвищення супероксиддисмутазної активності, відповідно на 22,4 і 4,6% та каталазної на 18,6 і 12,5%, відносно тварин ДГ1 (табл.3.21).

Зміни активності супероксиддисмутази та каталази під дією Магнію та Хрому можуть бути пов'язані з інтенсифікацією процесів їх синтезу та, як наслідок, посиленням антиоксидантних активностей. Не виключено, що це може бути зумовлено покращенням зв'язування інсуліну з відповідними інсуліновими рецепторами, оскільки даний гормон посилює активність антиоксидантних ензимів.

Активність глутатіонпероксидази у печінці тварин ДГ1 з ЦДА знижувалась на 14,8% порівняно з тваринами контрольної групи. У тварин ДГ2 та ДГ3

активність глутатіонпероксидази підвищувалась на 28,3 та 56,5% порівняно з тваринами ДГ1 (табл.3.22), причому в ДГ3 вона була достовірно вища порівняно до КГ.

Таблиця 3.22.

Активність ензимів глутатіонової ланки та вміст відновленого глутатіону в тканинах щурів із ЦДА (ДГ1) та за сумісного впливу цитратів магнію і хрому у дозах 250 мг Mg²⁺ і 25 мкг Cr³⁺/кг (ДГ2) та 250 мг Mg²⁺ і 10 мкг Cr³⁺/кг (ДГ3) (M±m, n=5)

Тканина	Група тварин			
	КГ	ДГ1	ДГ2	ДГ3
Глутатіонпероксидазна активність, мкмоль/хв•мг протеїну				
Печінка	0,54±0,04	0,46±0,03	0,59±0,01 ^{##}	0,72±0,06 ^{*##}
Скелетні м'язи	1,01±0,06	0,83±0,06	0,86±0,02 [*]	0,95±0,04
Підшлункова залоза	1,29±0,11	1,15±0,13	1,20±0,10	1,34±0,08
Глутатіонредуктазна активність, нмоль/хв•мг протеїну				
Печінка	114,3±17,1	40,5±2,3 ^{**}	57,8±7,3 ^{**}	55,2±6,3 ^{**}
Скелетні м'язи	21,91±1,86	27,49±2,01	23,15±1,77	44,09±2,79 ^{**}
Підшлункова залоза	69,37±6,34	51,23±2,59 [*]	65,12±6,87	62,23±1,71 ^{##}
Вміст відновленого глутатіону, мМ/л				
Печінка	0,23±0,02	0,10±0,01 ^{**}	0,15±0,004 ^{**##}	0,41±0,01 ^{**###}
Скелетні м'язи	0,026±0,001	0,021±0,003	0,024±0,002	0,024±0,003
Підшлункова залоза	0,032±0,004	0,012±0,001 ^{**}	0,021±0,003 [#]	0,026±0,002 ^{###}

У печінці тварин ДГ1 спостерігалось зниження активності глутатіонредуктази на 64,6% порівняно з тваринами контрольної групи. За сумісного застосування цитратів магнію і хрому активність досліджуваного ензиму у тварин ДГ2 і ДГ3 порівняно з тваринами ДГ1 зростала на 30,4 і 36,3%, однак була достовірно нижча у порівнянні до показника тварин КГ.

Згідно з результатами досліджень у печінці тварин ДГ1 спостерігалось зниження вмісту відновленого глутатіону на 56,5%, у тварин ДГ2 – зниження на 34,8%, а у тварин ДГ3 підвищення на 78,3%, порівняно до тварин контрольної групи. У цей же час у цій тканині тварин ДГ2 і ДГ3 виявлено підвищення вмісту відновленого глутатіону у 1,5 і 4,1 раз порівняно з тваринами ДГ1.

Досліджуючи активність глутатіонової ланки у м'язовій тканині тварин ДГ1 виявлено направленість до зниження активності ГП на 17,8%, вмісту відновленого глутатіону на 16,7%, і зростання активності ГР на 25,5% порівняно із тваринами контрольної групи. Проте спостерігалось зростання вмісту відновленого глутатіону (на 14,3%), підвищення глутатіонпероксидазної (на 3,6%) та зниження глутатіонредуктазної (на 15,8%) активності у м'язовій тканині тварин ДГ2 порівняно із тваринами ДГ1 з ЦДА. У свою чергу у тварин ДГ3 спостерігалась направленість до зростання вмісту відновленого глутатіону (на 14,3%), підвищення активності глутатіонпероксидази (на 14,5%) та глутатіонредуктази (на 60,4%) порівняно із тваринами ДГ1 (табл.3.22).

У підшлунковій залозі тварин ДГ1 спостерігалось зниження вмісту відновленого глутатіону на 62,5%, направленість до зниження активності ГП на 10,9% та зниження активності ГР на 26,1% порівняно із тваринами контрольної групи. Додавання комплексу цитратів магнію і хрому до раціону тварин ДГ2 та ДГ3 призвело до зростання вмісту відновленого глутатіону на 75,0 та 116,7%, підвищення активності глутатіонпероксидази на 4,3 та 16,5%, а також глутатіонредуктази на 27,1% та 21,5% ($p < 0,01$) порівняно із тваринами ДГ1 (табл.3.22). Не було встановлено міжгрупових різниць в активності ГП, ГР та вмісті відновленого глутатіону в підшлунковій залозі між тваринами ДГ2, ДГ3 та КГ.

Висновки:

1. Експериментальний цукровий діабет супроводжувався підвищенням вмісту гідропероксидів ліпідів та ТБК-активних продуктів у крові та тканинах внутрішніх органів дослідних тварин.

2. Оксидативний стрес, який виникає на фоні розвитку цукрового діабету зумовлював зниження активності СОД, каталази в крові та тканинах, посилення активності глутатіонової ланки захисту в крові та зниження – у тканинах.

3. Сумісне застосування сполук цитратів магнію та хрому призводило до послаблення процесів пероксидації ліпідів та часткової нормалізації системи антиоксидантного захисту.

Результати досліджень опубліковані у працях [15, 72, 74]

3.8. Сумісний вплив цитратів магнію та хрому на ліпідний обмін у плазмі крові щурів з ЦД_A

Аналіз основного будівельного матеріалу клітинних мембран – ліпідів, дозволяє з'ясувати ступінь їх сприйнятливості до руйнування. Про ступінь руйнації клітинних мембран свідчить кількість ліпідів та відсоткове співвідношення їх класів.

При дослідженні ліпідів плазми крові щурів ДГ1 з ЦД_A виявлено підвищення вмісту загальних ліпідів (на 1,5%) (рис. 3.6), фосфоліпідів (на 8,8%), холестеролу (на 6,4%), діацилгліцеролів (на 18,5%) та достовірне зростання вмісту вільних жирних кислот (на 33,4%), а також напруженість до зниження вмісту триацилгліцеролів (на 0,9%) та достовірне зниження вмісту етерифікованого холестеролу (на 15,2%) порівняно із тваринами контрольної групи (табл. 3.23).

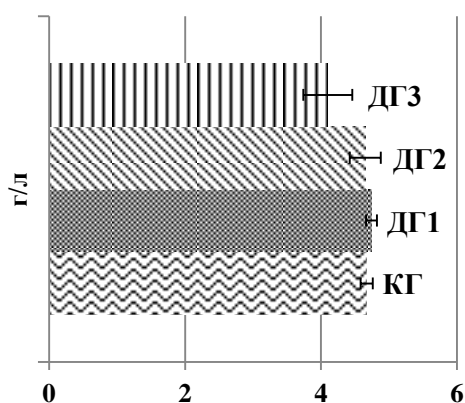


Рис. 3.6. Вміст загальних ліпідів у плазмі крові щурів із ЦД_A (ДГ1) та за сумісного впливу цитратів магнію і хрому у дозах 250 мг Mg²⁺ і 25 мкг Cr³⁺/кг (ДГ2) та 250 мг Mg²⁺ і 10 мкг Cr³⁺/кг (ДГ3)

Проте сумісне застосування цитратів магнію і хрому призвело до часткової нормалізації показників вмісту ліпідів. Так, у тварин ДГ2 ми спостерігали напруженість до зниження вмісту загальних ліпідів (на 1,9%), фосфоліпідів (на 14,3%), достовірне зниження вмісту холестеролу (на 52,8%), діацилгліцеролів (на 37,1%) і вільних жирних кислот (на 19,9%), а також підвищення вмісту етерифікованого холестеролу (на 16,2%) порівняно до їх рівня у ДГ1 з ЦДА (табл. 3.23).

При дослідженні вмісту ліпідів плазми крові тварин ДГ3 виявлено зниження вмісту загальних ліпідів (на 13,5%), фосфоліпідів (на 3,9%), триацилгліцеролів (на 32,9%), холестеролу (на 26,5%), діацилгліцеролів (на 33,9%) і вільних жирних кислот (на 28,4%), а також підвищення вмісту етерифікованого холестеролу (на 14,3%) порівняно з ДГ1 (табл. 3.23).

Таблиця 3.23.

Відносний вміст класів ліпідів у плазмі крові щурів із ЦДА (ДГ1) та за сумісного впливу цитратів магнію і хрому у дозах 250 мг Mg²⁺ і 25 мкг Cr³⁺/кг (ДГ2) та 250 мг Mg²⁺ та 10 мкг Cr³⁺/кг (ДГ3) (M±m, n=5)

Клас ліпідів (%)	Група тварин			
	КГ	ДГ1	ДГ2	ДГ3
Фосфоліпіди	24,25±	26,39±	22,62±	25,37±
	0,59	0,83	2,54	0,28
Холестерол	9,59±	10,20±	4,81±	7,50±
	0,79	0,26	0,57 ^{**##}	0,21 ^{**##}
Ефіри холестеролу	19,45±	16,50±	19,17±	18,86±
	0,52	0,39 [*]	0,98	1,19
Діацил-гліцероли	12,52±	14,84±	9,33±	9,80±
	1,13	0,03	0,52 ^{##}	0,28 ^{##}
Триацил-гліцероли	18,08±	17,91±	17,95±	12,01±
	1,32	1,48	0,15	0,58 ^{**}
Вільні жирні кислоти	15,12±	20,17±	16,14±	14,45±
	0,06	0,04 ^{***}	0,65 [#]	0,39 ^{##}

Зміни відсоткового вмісту різних класів ліпідів у плазмі крові тварин ДГ2 і ДГ3 в порівнянні з тваринами ДГ1 можна пояснити тим, що глюкоза крові за сумісної дії цитратів магнію і хрому, завдяки інсуліну включається в анаболічні процеси в печінці, в результаті чого посилюється утворення з глюкози пластичного матеріалу, зокрема діацилгліцеролів та моноацилгліцеролів. Новоутворені сполуки далі транспортуються кров'ю до різних органів та тканин організму.

Висновки:

1. За умов експериментального цукрового діабету вміст загальних ліпідів, фосфоліпідів, холестеролу, діацилгліцеролу і вільних жирних кислот у плазмі крові дослідних тварин підвищувався.

2. Профілактичне сумісне застосування цитратів магнію і хрому сприяло зниженню вмісту загальних ліпідів, а також відсоткового вмісту фосфоліпідів, холестеролу, діацилгліцеролу та вільних жирних кислот у плазмі крові щурів за умов гіперглікемії зумовленої цукровим діабетом.

Результати досліджень опублікована у праці [73]

3.9. Сумісний вплив цитрату магнію та цитрату хрому на вміст Хрому у тканинах нирок і печінки щурів з ЦДА

Результати проведених досліджень свідчать, що у тварин ДГ1 з ЦДА вміст Хрому у печінці знижувався на 29,2% ($p < 0,01$), а у нирках підвищувався на 4,39% (рис. 3.7). Отримані результати узгоджуються із даними інших авторів, стосовно посиленої екскреції Хрому з сечею, що спостерігається у хворих на діабет [164].

Додаткове введення до раціону тварин комплексу цитратів магнію та хрому зумовило підвищення вмісту Хрому у печінці у тварин ДГ2 та ДГ3 на 13,2% та 11,1% відповідно, порівняно із тваринами ДГ1. Однак, порівняно з тваринами контрольної групи, у печінці тварин ДГ3 вміст хрому достовірно знижувався на 21,4%.

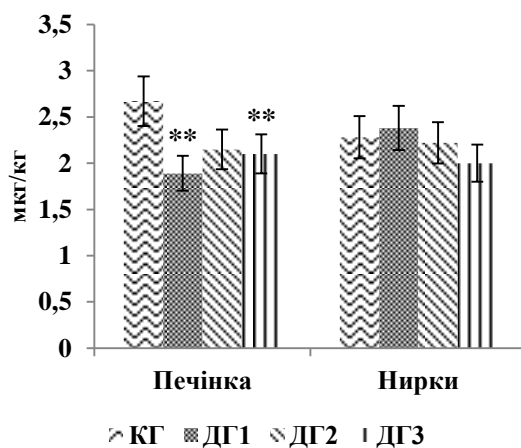


Рис. 3.7. Вміст Хрому в тканинах нирок і печінки щурів із ЦДА (ДГ1) та за сумісного впливу цитратів магнію і хрому у дозах 250 мг Mg^{2+} та 25 мкг $Cr^{3+}/кг$ м.т (ДГ2) та 250 мг Mg^{2+} та 10 мкг $Cr^{3+}/кг$ м.т (ДГ3), (n=5)

У нирках спостерігалось зниження вмісту Хрому у тварин ДГ2 і ДГ3, стосовно тварин ДГ1, що можливо зумовлено зменшенням надмірної екскреції цього мікроелементу внаслідок послаблення гіперглікемії.

Висновок:

1. Цитрат магнію сумісно з цитратом хрому, зумовлювали зростання вмісту мікроелементу Хрому у печінці, а також зниження його вмісту у нирках. Найкраще цей ефект проявлявся при застосування цитрату магнію у дозі 250 мг $Mg^{2+}/кг$ м.т. у поєднанні з цитратом хрому у дозі 25 мкг $Cr^{3+}/кг$ м.т.

3.10. Вплив лимонної кислоти на деякі ланки вуглеводного обміну та антиоксидантну систему крові та печінки щурів з ЦДА

Як було продемонстровано попередніми дослідженнями, цитратні сполуки Магнію та Хрому проявляли позитивний профілактичний ефект в організмі щурів з ЦДА. Цей ефект супроводжувався частковою нормалізацією різних ланок метаболізму. Метою даного етапу дисертаційної роботи було довести, що така нормалізація показників зумовлювалась впливом сполук макро- (Магній) та мікроелементів (Хром) на організм, а не самої лимонної кислоти. Натомість,

використання органічної сполуки елементів обумовлено кращою біозасвоюваністю останніх, порівняно із різними неорганічними сполуками цих же елементів.

У результаті профілактичного вполювання щурам ДГ2 розчину лимонної кислоти на тлі ЦДА було встановлено достовірне зростання рівня глюкози (у 3,9 рази) в плазмі крові порівняно до показника тварин КГ.

В той же час як стосовно тварин ДГ1 з ЦДА достовірних змін не спостерігалось (рис. 3.8), що свідчить про відсутність суттєвого впливу лимонної кислоти на зниження рівня глюкози за ЦД.

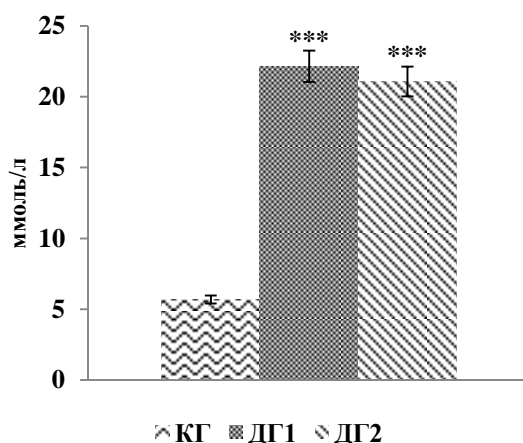


Рис. 3.8. Вміст глюкози у плазмі крові щурів із ЦДА (ДГ1) та за впливу водного розчину лимонної кислоти (ДГ2)

Було встановлено, що в еритроцитах крові тварин ДГ2 глюкозо-6-фосфатдегідрогеназна активність знижувалась на 20,8% (рис. 3.9 а), натомість лактатдегідрогеназна активність незначно підвищувалась на 1,5% (рис. 3.9 б) порівняно із тваринами контрольної групи.

Стосовно тварин ДГ1 з ЦДА, у тварин ДГ2, достовірних змін не спостерігалось, хоча Г-6-ФДГ-на активність на 7,9% була нижчою.

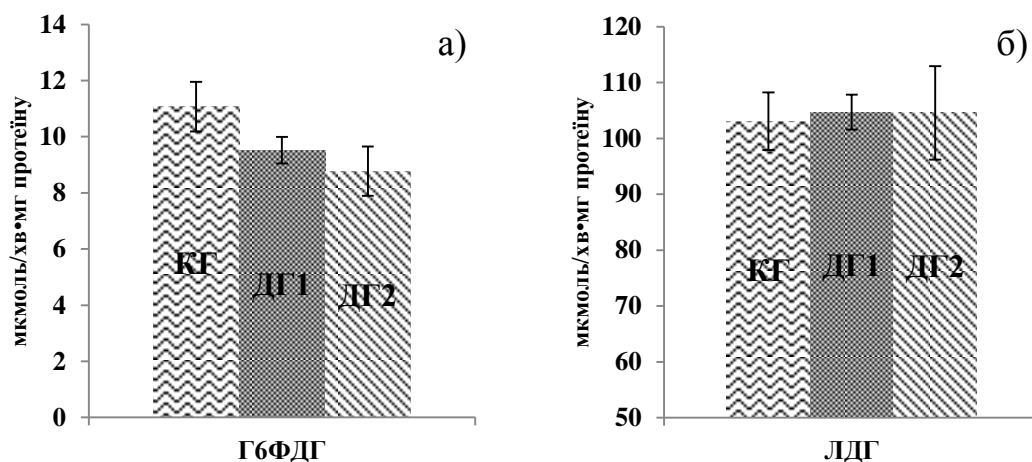


Рис. 3.9. Активність деяких ензимів вуглеводного обміну в еритроцитах крові (а; б) щурів із ЦД_A (ДГ1) та за впливу водного розчину лимонної кислоти (ДГ2)

У печінці тварин ДГ2 спостерігалась направленість до зниження активності Г-6-ФДГ на 36,36% (рис. 3.10 а), а також активності ЛДГ на 69,64% (рис. 3.10 б) порівняно із тваринами контрольної групи. Проте вірогідних змін динаміки показників у тварин ДГ2 відносно ДГ1 з ЦД_A не спостерігалось.

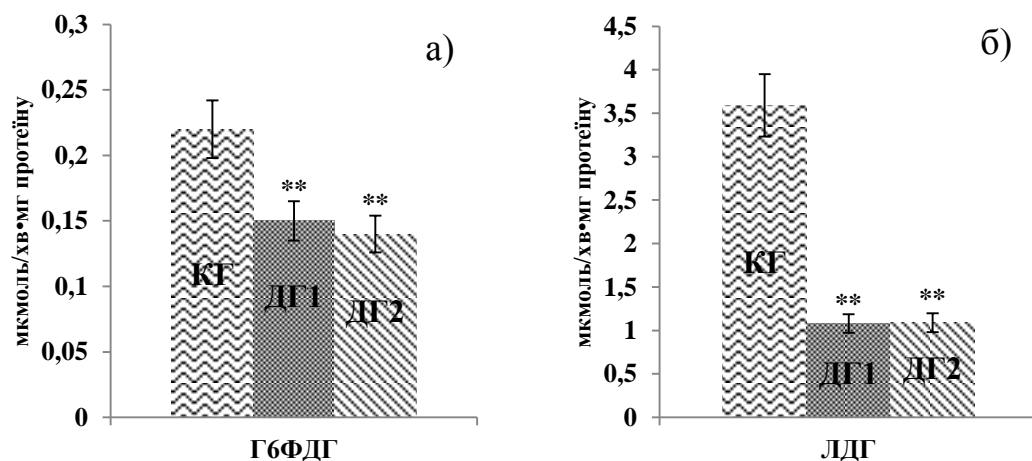


Рис. 3.10. Активність досліджуваних ензимів вуглеводного обміну в тканині печінки (а; б) щурів із ЦД_A (ДГ1) та за впливу водного розчину лимонної кислоти (ДГ2).

Оскільки важливим показником при оцінці складності перебігу будь якого захворювання є процеси ПОЛ, наступним етапом нашої бороти було дослідити вміст їх продуктів у еритроцитах крові та печінці дослідних тварин.

Встановлено зростання вмісту гідропероксидів ліпідів (у 3,7 рази) і ТБК-активних продуктів (у 2,5 рази) у плазмі крові щурів ДГ2, яким випоювали розчин лимонної кислоти, порівняно із контрольною групою тварин, однак порівняно з тваринами ДГ1 показники практично не відрізнялись (рис. 3.11).

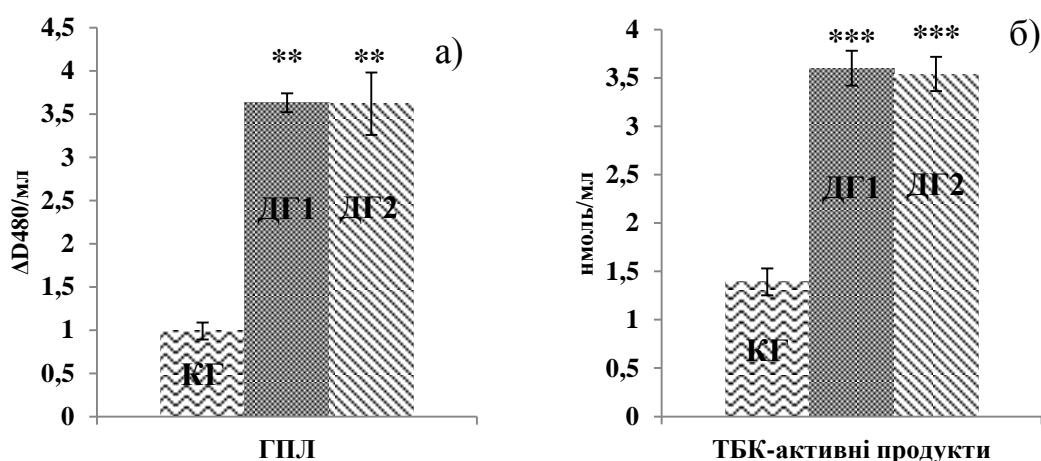


Рис. 3.11. Вміст гідропероксидів ліпідів (а) та ТБК-активних продуктів (б) в плазмі крові щурів з ЦДА (ДГ1) та за впливу водного розчину лимонної кислоти (ДГ2)

Крім цього, слід зазначити, що випоювання щурам ДГ2 водного розчину лимонної кислоти у порівнянні з тваринами контрольної групи, супроводжувалося зростанням вмісту гідропероксидів ліпідів (на 5,5%) і ТБК-активних продуктів (на 76,6%) у печінці (рис 3.12). Показники вмісту продуктів ПОЛ у печінці тварин ДГ2 достовірно не відрізнялися від показників тварин ДГ1 з ЦДА, проте вміст ТБК-активних продуктів був на 13,76% нижчим порівняно із ДГ1.

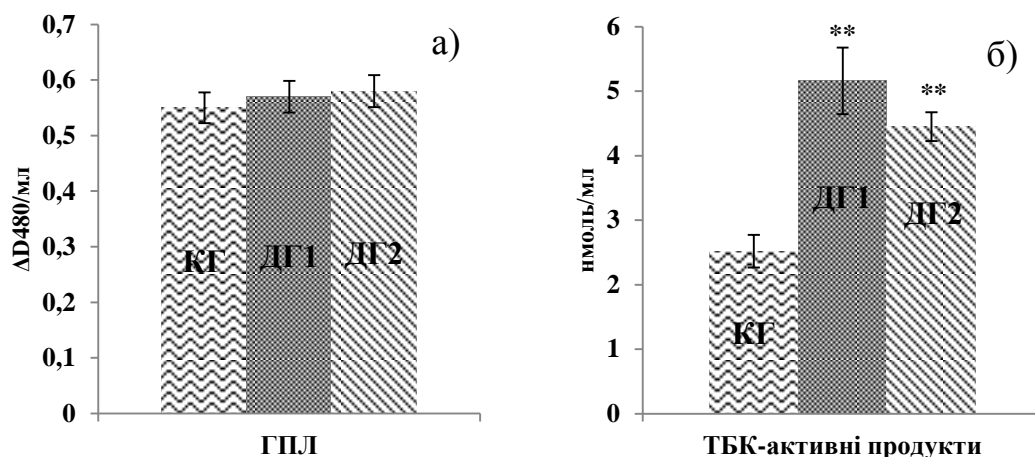


Рис. 3.12. Вміст гідропероксидів ліпідів (а) та ТБК-активних продуктів (б) в печінці щурів з ЦД_А (ДГ1) та за впливу водного розчину лимонної кислоти (ДГ2)

Опірність організму до пошкоджуючих чинників при будь якому захворюванні залежить від ефективної роботи системи антиоксидантного захисту, яка впливає на формування адаптаційних реакцій організму. Важливою компонентою АОЗ виступає глутатіонова ланка, вагомими ензимами якої є глутатіонпероксидаза та глутатіонредуктаза.

Встановлено, що в еритроцитах крові тварин ДГ2, які споживали водний розчин лимонної кислоти, на тлі ЦД_А активність ГП зростала на 49,20%, а також спостерігалась направленість до підвищення активності ГР на 18,53% та вмісту відновленого глутатіону на 23,08% порівняно із тваринами контрольної групи.

Характерно, що активність досліджуваних ензимів та вміст відновленого глутатіону у тварин Д21 суттєво не відрізнявся від показників тварин ДГ1 (рис.3.13).

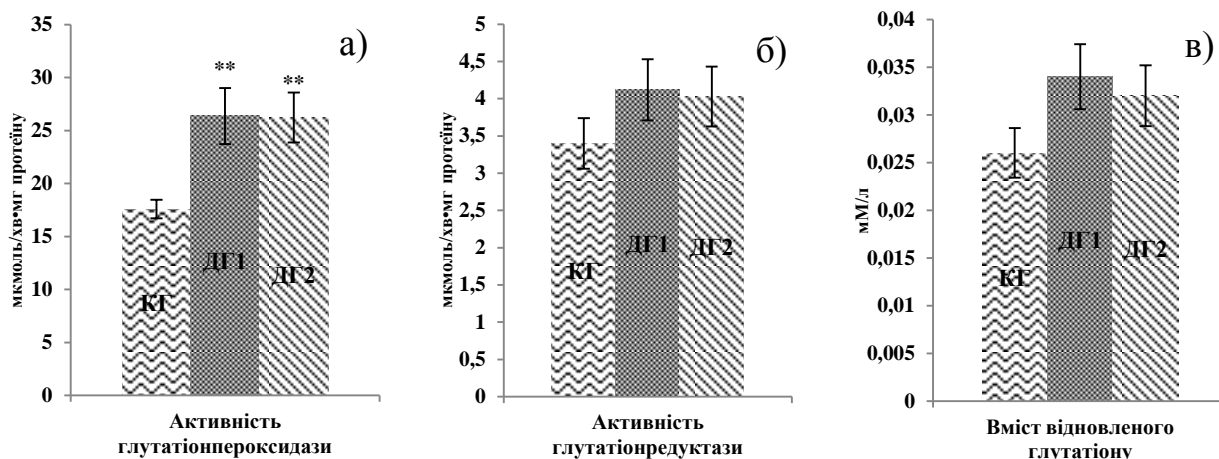


Рис. 3.13. Активність глутатіонпероксидази (а), глутатіонредуктази (б) та вміст відновленого глутатіону (в) в плазмі крові щурів з ЦДА (ДГ1) та за впливу водного розчину лимонної кислоти (ДГ2)

Подібна динаміка досліджуваних показників була виявлена і в печінці щурів (рис. 3.14). Встановлено, що активність ГП знижувалась на 16,7%, активність ГР – на 58,3% і вміст відновленого глутатіону – на 47,8% порівняно із контрольною групою тварин. Слід вказати й на те, що вірогідних різниць між досліджуваними показниками тварин ДГ1 та ДГ2 не спостерігалось.

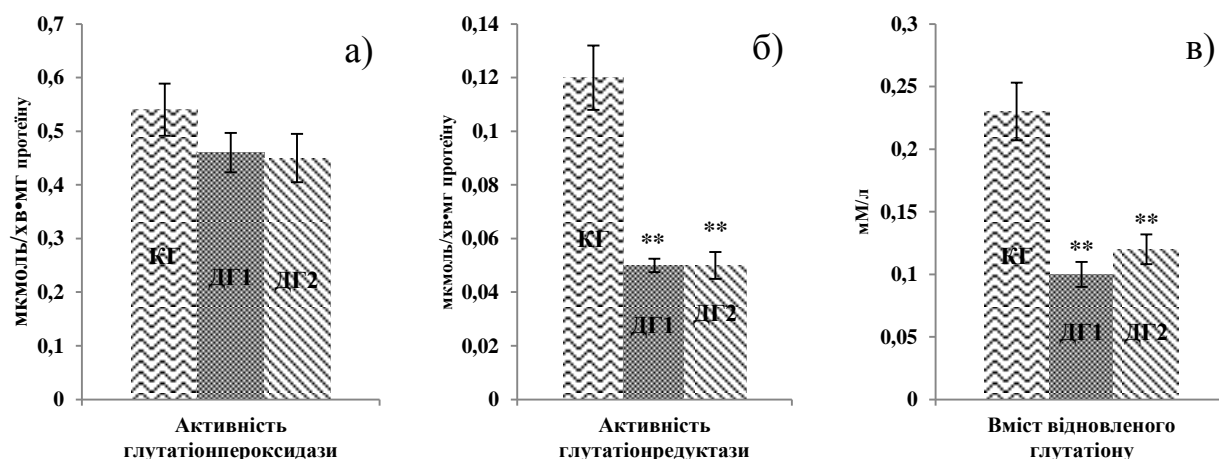


Рис. 3.14. Активність глутатіонпероксидази (а), глутатіонредуктази (б) та вміст відновленого глутатіону (в) в печінці щурів з ЦДА (ДГ1) та за впливу водного розчину лимонної кислоти (ДГ2)

Таким чином, ми не спостерігали достовірних змін у показниках вуглеводного обміну і антиоксидантної системи, що демонструє відсутність суттєвого впливу лимонної кислоти на метаболічні процеси в організмі тварин за цукрового діабету.

Висновки:

1. Споживання водного розчину лимонної кислоти не впливало на метаболічні процеси в організмі тварин з ЦДА. У тварин ДГ2 які споживали розчин лимонної кислоти, порівняно із тваринами ДГ1 з цукровим діабетом показники вуглеводного обміну та системи АОЗ достовірно не відрізнялися.

2. У тварин ДГ2, як і у тварин ДГ1, порівняно із показниками тварин КГ вміст глюкози у плазмі крові збільшувався, що супроводжувалося зниженням активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, зростанням вмісту продуктів ПОЛ та зниженням ензимів глутатіонової ланки захисту, вмісту відновленого глутатіону у еритроцитах крові та печінці дослідних тварин.

Результати досліджень опубліковані у праці [74]

3.11. Кореляційні взаємозв'язки досліджуваних показників вуглеводного обміну, пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи в організмі щурів з ЦДА та за впливу цитратів магнію та хрому залежно від рівня глікемії

Кореляційні зв'язки між показниками вуглеводного обміну, ПОЛ та антиоксидантної системи в організмі щурів та рівнем глікемії 5,68 ммоль/л. Виявлено ряд кореляційних зв'язків між рівнем глікемії у щурів контрольної групи та досліджуваними показниками (рис. 3.15): сильний негативний зв'язок з рівнем ТБК ($r = -0,89$); слабкий негативний зв'язок з рівнем Г-6-ФДГ ($r = -0,24$), ГПЛ ($-0,29$); сильний позитивний зв'язок з рівнем інсуліну ($r = 0,89$), ГП ($r = 0,99$; $p < 0,05$); середньої сили позитивний зв'язок з рівнем ГР ($r = 0,51$), СОД ($r = 0,59$), С-пептиду ($r = 0,45$); слабкий позитивний зв'язок з рівнем ЛДГ ($r = 0,16$).

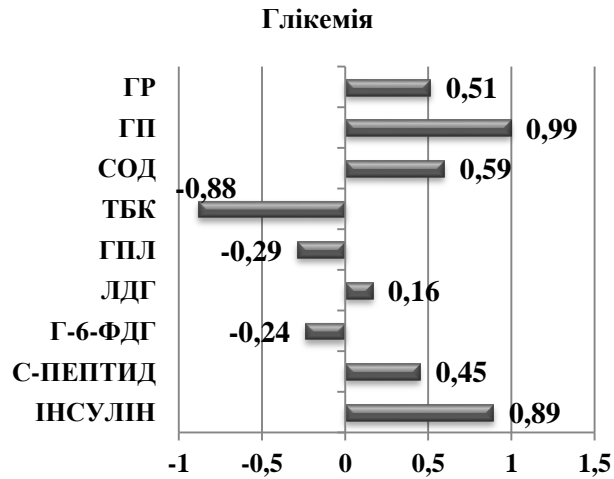


Рис. 3.15. Кореляційні зв'язки між рівнем глікемії в організмі щурів та досліджуваними показниками у тварин КГ.

Кореляційні зв'язки між показниками вуглеводного обміну, ПОЛ та антиоксидантної системи в організмі щурів з експериментальним цукровим діабетом та рівнем глікемії 22,15 ммоль/л. Зафіксовано ряд кореляційних зв'язків між рівнем глікемії у щурів першої дослідної групи з експериментальним ЦД та досліджуваними показниками (рис. 3.16): сильний негативний зв'язок з рівнем СОД ($r = -0,95$; $p < 0,05$), інсуліну ($r = -0,94$, $p < 0,05$), С-пептиду ($-0,9$), Г-6-ФДГ (-1 , $p < 0,05$); сильний позитивний зв'язок з рівнем ГПЛ ($r = 1,0$), ТБК ($0,99$, $p < 0,05$), ГР ($r = 0,91$), ЛДГ ($0,91$); середньої сили позитивний зв'язок з рівнем ГП ($r = 0,45$).

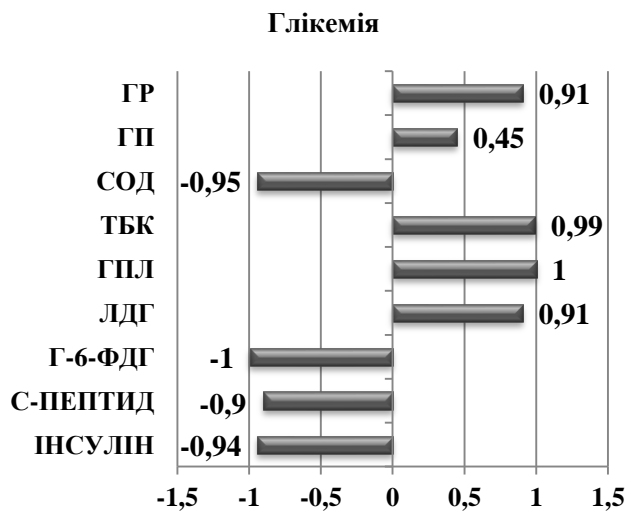


Рис. 3.16. Кореляційні зв'язки між рівнем глікемії в організмі щурів з ЦДА та досліджуваними показниками.

Кореляційні зв'язки між показниками вуглеводного обміну, ПОЛ та антиоксидантної системи в організмі щурів за впливу цитрату магнію у кількості 250 мг Mg²⁺/кг та рівнем глікемії 14,65 ммоль/л. Зафіксовано ряд кореляційних зв'язків між рівнем глікемії у щурів, які споживали цитрат магнію (250 мг/кг) та досліджуваними показниками (рис. 3.17): сильний негативний зв'язок з рівнем ГПЛ ($r = -0,1$), ЛДГ ($r = -0,74$); слабкий негативний зв'язок з рівнем ГП ($r = -0,02$); сильний позитивний зв'язок з рівнем ТБК ($r = 1,0$), СОД ($r = 0,97$; $p < 0,05$), Г-6-ФДГ ($r = 0,8$); середньої сили позитивний зв'язок з рівнем ГР ($r = 0,37$).

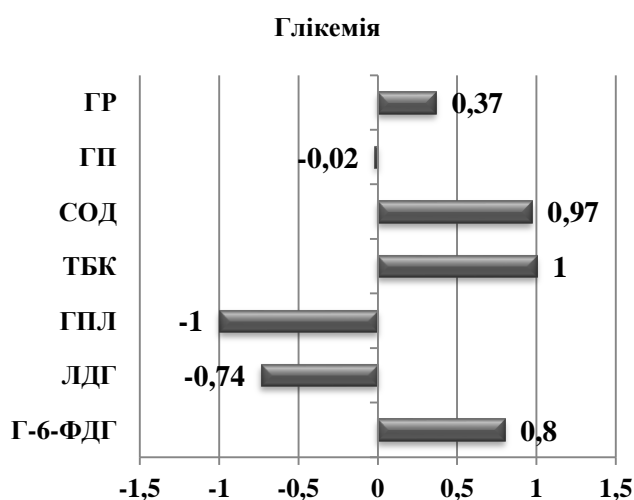


Рис. 3.17. Кореляційні зв'язки між рівнем глікемії в організмі щурів за впливу цитрату магнію у дозі 250 мг/кг та досліджуваними показниками.

Кореляційні зв'язки між показниками вуглеводного обміну, ПОЛ та антиоксидантної системи в організмі щурів за впливу цитратів магнію та хрому у кількостях 250 мг Mg²⁺ та 25 мкг Cr³⁺/кг та рівнем глікемії 18,08 ммоль/л. Виявлено ряд кореляційних зв'язків між рівнем глікемії у щурів які споживали комплекс цитратів магнію та хрому (250 мг Mg²⁺ та 25 мкг Cr³⁺/кг) та досліджуваними показниками (рис. 3.18): середньої сили негативний зв'язок з рівнем ГР ($r = -0,48$), СОД ($r = -0,5$), С-пептиду ($r = -0,32$), ТБК ($r = -0,30$); слабкий негативний зв'язок з рівнем ГП ($r = -0,20$), ГПЛ ($r = -0,04$); середньої

сили позитивний зв'язок з рівнем Г-6-ФДГ ($r = 0,53$), інсуліну ($r = 0,51$); слабкий позитивний зв'язок з рівнем ЛДГ ($r = 0,16$).

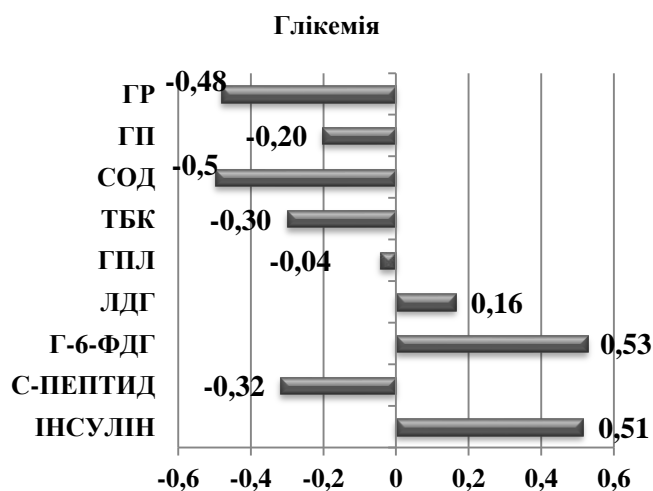


Рис. 3.18. Кореляційні зв'язки між рівнем глікемії в організмі щурів за впливу цитрату магнію у дозі 250 мг/кг і цитрату хрому у дозі 25 мкг/кг та досліджуваними показниками.

У відповідь на певні патологічні зміни організму, які з'являються внаслідок розвитку цукрового діабету, виникають певні кореляційні зв'язки міжпоказниками, що дають змогу краще зрозуміти та проаналізувати перебіг метаболічних процесів за цього захворювання. Саме за допомогою встановлених кореляційних зв'язків можна визначити ступінь взаємопов'язаності процесів в організмі. Чим спряженість процесів слабша, тим організм активніше та гнучкіше може реагувати на зміну зовнішніх та внутрішніх умов.

Вивчаючи взаємозв'язки між показниками рівня глікемії, вуглеводного обміну та системи антиоксидантного захисту у тварин з експериментальним ЦД, встановили низку кореляційних зв'язків. Зафіксовано більшість вірогідно сильних кореляційних зв'язків між досліджуваними показниками і рівнем глікемії. Зокрема, за цукрового діабету знижується опірність організму, що супроводжується зниженням активності системи антиоксидантного захисту, а

також рівня цукрознижувального гормону інсуліну. Оскільки порушення поглинання глюкози периферичними тканинами вказують як на зниження чутливості до інсуліну, так і на виникнення резистентності до цього гормону, то негативне значення коефіцієнта кореляції означає, що функціональна активність досліджуваних метаболічних ланок організму знаходиться в оберненій залежності від рівня глікемії. Поряд із цим, був зафіксований ряд сильних позитивних кореляційних зв'язків при застосуванні цитратних сполук магнію та хрому між рівнем глікемії та активністю ензимів вуглеводного обміну та антиоксидантної системи організму. Це свідчить на користь припущення про здатність даних сполук підтримувати достатньо високий функціональний рівень організму за розвитку цукрового діабету.

Висновки:

1. При ЦДА зафіксовано більшість сильних кореляційних зв'язків (позитивних та негативних) між досліджуваними показниками та високим рівнем глікемії (понад 22,0 ммоль/л) (50 %). Отримані результати можуть свідчити про те, що за розвитку цукрового діабету відбувається поступова втрата динамічності й гнучкості як метаболічної, так і антиоксидантної систем організму.

2. Виявлено більшість сильних кореляційних зв'язків при застосуванні цитрату магнію (66,67%), як самого, так і у комплексі з цитратом хрому (71,43%), між досліджуваними показниками та рівнем глікемії (понад 13,0 ммоль/л). Це може свідчити про здатність досліджуваних аквананоцитратних сполук нівелювати негативні наслідки розвитку цукрового діабету, шляхом посилення метаболізму глюкози та активності системи антиоксидантного захисту.

РОЗДІЛ 4

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Цукровий діабет – захворювання ендокринної системи, що характеризуються порушенням усіх видів обміну речовин і, в першу чергу, вуглеводного, в результаті дефектів у секреції інсуліну або/та його дії [4, 214]. Розуміння причин цих порушень є важливим при виборі сучасного лікування і для створення ефективніших профілактичних та терапевтичних засобів [131].

Дана патологія, незважаючи на значні досягнення в профілактиці, діагностиці та лікуванні ЦД, наразі залишається однією з основних причин смертності населення. Найсучасніші технології діагностики та лікування не в спроможності кардинально вирішити проблеми ускладнень, які можуть виникати на тлі розвитку цукрового діабету. Ефективнішою стратегією зниження ризику розвитку ЦД є первинна і вторинна профілактика. Первинна профілактика являє собою комплекс заходів, які спрямовані на недопущення розвитку патології, особливо у людей з генетичною схильністю. Натомість, вторинна профілактика це не що інше як скринінг, який забезпечує раннє виявлення ЦД з подальшим плануванням стратегії лікування, зокрема медикаментозне чи не медикаментозне лікування [91, 92, 111]. Багаточисельні клінічні дослідження показали ефективність зниження рівня глікемії при терапевтичному лікуванні, зокрема без впливу на порушення механізмів метаболізму [112, 209].

Найбільш поширеними методами в попередженні виникнення, терапії та лікуванні ЦД є застосування інсулінотерапії (при гострому розвитку захворювання), а також метформіну [41, 45]. Крім цього, досить поширена є терапія різноманітними полівітамінними комплексами, фітотерапевтичними засобами та застосування у попередженні захворювання біологічно активних добавок (БАД) [22, 68]. Власне профілактика можливого виникнення та ускладнень, які виникають за ЦД за допомогою БАД є необхідним

компонентом у підтриманні оптимальних для пацієнта цільових значень глікемії, а також показників різних ланок метаболізму.

Провідна роль у механізмах розвитку ускладнень ЦД належить хронічній гіперглікемії, яка може бути результатом порушення внутрішньоклітинного метаболізму глюкози, зменшення її утилізації, зниження синтезу глікогену та підвищення його розпаду в печінці [46, 64]. У зв'язку з цим важливого значення набувають питання функціонування ензимів вуглеводного обміну за умов ЦД, оскільки є всі підстави вважати, що недоліки у внутрішньоклітинному метаболізмі глюкози є однією з причин виникнення гіперглікемічного стану [4].

Враховуючи вищевикладене, важливим етапом нашої роботи було дослідження активності ензимів і вмісту метаболітів вуглеводного обміну в крові та тканинах організму тварин із алоксановим цукровим діабетом.

Лактатдегідрогеназа – цинквмісний ензим, який локалізується, в основному, в цитозолі [106, 179]. Згідно з нашими дослідженнями, лактатдегідрогеназна активність у м'язовій тканині та еритроцитах крові тварин з експериментальним цукровим діабетом підвищувалась, що супроводжувалось підвищенням вмісту лактату і зниженням вмісту пірувату у крові тварин. Такі зміни можуть бути зумовлені гіперглікемічним станом організму, в результаті чого глюкоза інтенсивніше використовується як джерело енергії. Пояснити це можна тим, що важлива функція лактатдегідрогенази – це регуляція співвідношення кількості NAD^+ і NADH , оскільки саме воно впливає на швидкість багатьох каталітичних реакцій. Варто, також звернути увагу на тканинну специфіку скелетних м'язів, які використовують як джерело енергії в більшій мірі вуглеводи. Вивільнення енергії з вуглеводів проходить значно простіше, ніж з ліпідів та протеїнів. Тому міоцити, у порівнянні з еритроцитами, інтенсивніше використовують енергію вуглеводів. Також клітини м'язової тканини потребують значно більшу кількість енергії для виконання власних функцій. Звідси і збільшення активності ензимів вуглеводного обміну в скелетних м'язах, та як наслідок, збільшення продуктів розпаду вуглеводів. Зростання активності лактатдегідрогенази у м'язах також,

можливо, зумовлено підвищенням утворенням NADH, який разом із надмірною продукцією ацетил-КоА, може інгібувати активність піруватдегідрогеназного комплексу [153]. За відсутності кисню, у скелетних м'язах, лактатдегідрогеназа робить можливим окиснення NADH до NAD^+ внаслідок перетворення пірувату у лактат [63]. Таким чином, саме анаеробний гліколіз і є основним джерелом енергії для еритроцитів і скелетних м'язів, які є основним місцем утилізації глюкози [129].

Проведені нами дослідження показали, що активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази в еритроцитах крові, печінці, м'язовій тканині тварин з ЦДА знижувалася, що супроводжувалося підвищенням вмісту глюкози у плазмі крові та пригніченням пентозо-фосфатного шляху. Як регуляторний ензим, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа перебуває під гормональним контролем, зокрема, інсуліну [35]. Зниження активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази в організмі тварин з ЦДА може бути зумовлено порушеннями гормональної регуляції вуглеводного обміну. За недостатності інсуліну порушується перенесення глюкози через цитоплазматичні мембрани тканин, а також зменшується її внутрішньоклітинна утилізація. Таким чином, в умовах недостатнього засвоєння глюкози настає енергетичний голод, що в свою чергу, призводить до посилення глюконеогенезу, і як наслідок, посилення гіперглікемії [19].

Відомо, що пентозофосфатний шлях перетворює 10%-20% глюкози в організмі за фізіологічних умов, що сприяє збільшенню вмісту в цих клітинах відновлених форм глутатіону і NADP^+ , які і приймають участь у знешкодженні окиснювачів [239]. Разом з тим, в умовах надлишкової концентрації глюкози всередині клітини (гіперглікоцитозу) цей шунт не спрацьовує [14]. Крім того, суттєвим фактором регуляції активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази є співвідношення NADP/NADPH у клітині, оскільки NADPH – сильний конкурентний інгібітор даного ензиму [50].

Такі зміни активності ензимів вуглеводного обміну та вмісту проміжних метаболітів глюкози можуть бути зумовлені недостатністю дії інсуліну, який

здатен посилювати необоротне перетворення пірувату в ацетил Ко-А шляхом активації внутрішньо-мітохондріального ензиматичного комплексу піруватдегідрогенази. Ацетил-КоА може бути безпосередньо окиснений через цикл Кребса або використаний для синтезу жирних кислот [125].

Не будучи ендокринною залозою, печінка відіграє надзвичайно важливу роль у взаємоперетворенні вуглеводів, протеїнів, ліпідів і нуклеотидів, а також у регуляції водно-мінерального й вітамінного балансів організму, забезпечуючи нормальний перебіг метаболічних процесів [9, 46]. Крім цього, печінка забезпечує регуляцію рівня глюкози та толерантність до неї, або поглинаючи глюкозу самостійно, або забезпечуючи її засвоєння тканинами організму, запасуючи у вигляді глікогену і триацилгліцеролів [130]. Крім того, печінка відіграє провідну роль у розвитку метаболічних порушень у хворих на цукровий діабет, адже через неї реалізується гормональний ефект інсуліну і опосередковується порушення жирового, вуглеводного та протеїнового обмінів [27]. Таким чином, недостатність інсуліну, що спостерігається у результаті патологічних змін, які відбуваються за цукрового діабету, може виступати інгібуючим фактором поглинання і перетворення глюкози як печінкою, так і іншими тканинами [11]. Результатами наших експериментальних досліджень було продемонстровано зниження активності ензимів вуглеводного обміну (Г-6-ФДГ та ЛДГ) у печінці щурів з ЦД_A на фоні зниження вмісту інсуліну у плазмі крові.

Оскільки інсулін – це пептидний гормон, що секретується β -клітинами панкреатичних острівців Лангерганса, і підтримує нормальний рівень глюкози в крові, полегшуючи її поглинання клітинами, регулюючи обмін речовин вуглеводів, ліпідів та протеїнів, тому важливим етапом нашої роботи було дослідження його вмісту у плазмі крові. Одночасно проводився аналіз вмісту С-пептиду, що дозволяє за його кількістю свідчити про здатність β -клітин продукувати інсулін. В останні роки отримані дані про наявність у С-пептиду певної біологічної активності, який, зокрема стимулювати засвоєння глюкози у

м'язях та посилювати ефекти інсуліну, зменшувати інсулінорезистентність [197].

Експериментально було встановлено, що за цукрового діабету вміст інсуліну і С-пептиду знижувався, що узгоджується із багаточисельними даними інших авторів [93, 122, 171, 235].

Метаболізм глюкози має важливе значення для регуляції секреції інсуліну в β -клітинах підшлункової залози. Глюкоза зв'язується глюкозними транспортерами і фосфорилується під дією глюкокінази з генеруванням АТФ, що є основним рушієм глюкозо-індукованої секреції інсуліну [129]. Проте, стійка гіперглікемія індукує виникнення інсулінорезистентності шляхом порушення інсулінового сигналювання і пригнічення транслокації переносників глюкози [220]. Це і може бути причиною зниження активності лактатдегідрогенази і глюкозо-6-фосфатдегідрогенази у підшлунковій залозі тварин з експериментальним цукровим діабетом. Крім того, недостатня секреція інсуліну і надлишкова гіперглікемія, ймовірно, знижують метаболізм глюкози через гліколіз та подальше окиснення пірувату мітохондріями [193].

Гіперглікемія, яка виникає при цукровому діабеті, призводить до збільшення продукції NADH. Надмірне виробництво NADH або відсутність NAD⁺ може призводити до дисбалансу між NADH/NAD⁺ і створюється стан, за якого Оксиген не може ефективно споживатися. Надлишок NADH може привести до надмірного виробництва мітохондріального супероксиду (O₂⁻) та інших активних форм Оксигену. Ці активні форми Оксигену можуть знижувати активність гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогенази (GAPDH) [239].

В свою чергу, пригнічення активності GAPDH поряд із високим вмістом глюкози у клітині призводить до накопичення проміжних продуктів катаболізму глюкози в гліколітичному ланцюзі, її розщеплення до стадії утворення гліцеральдегід-3-фосфату, з відповідним пригніченням наступної стадії, що і призводить до активації поліолового, гексозамінного шляхів, накопичення продуктів та попередників неензиматичного глікозилування й активації протеїнкінази С (PKC) [11].

Включення гексозамінового шляху, в якому ензим глутамін-фруктозо-6-фосфат аміотрансфераза переадресовує глюкозу з гліколітичного шляху на рівні фруктозо-6-фосфату, в результаті чого утворюється глюкозамін-6-фосфат [220]. Приєднуючись до залишків серину та треоніну, ця сполука здатна спричиняти різноманітні внутрішньоклітинні пошкодження, в тому числі й на генетичному рівні [42]. Крім того, гексозаміновий шлях призводить до виснаження запасів клітинного глутатіону [54].

Таким чином, всі проміжні продукти перетворення глюкози, включаючи гліцеральдегід-3-фосфат утилізуються альтернативними шляхами, які пов'язані з виробництвом АФО і оксидативним стресом [239].

Додатковим фактором зниження активності досліджуваних ензимів може бути відсутність достатньої кількості субстрату (глюкози) всередині клітини, оскільки розвиток ЦД супроводжується зниженим споживанням тканинами глюкози з кровотоку [4, 11].

Стан хронічної гіперглікемії є причиною підвищеної продукції вільних радикалів, особливо активних форм Оксигену (зокрема: $\bullet\text{O}^{2-}$, $\bullet\text{OH}$) в усіх тканинах організму шляхом аутоокиснення глюкози, глікозилювання протеїнів та активації поліольного шляху окиснення глюкози. Генерування активних форм Оксигену, у багатьох клітинах, переважно здійснюється через систему NADPH-оксидази. Ці реакційно активні молекули діють на β -клітини підшлункової залози і можуть зумовлювати їхню апоптичну загибель [145]. У свою чергу, інтенсифікація оксидативного стресу за діабету спричинює модифікацію протеїнів, активацію сигнальних шляхів та запальних процесів, що сприяє розвитку загибелі клітин у багатьох тканинах живих організмів. Тобто, пошкодження різних типів клітин та їхня загибель значною мірою залежить від надмірного утворення активних форм Оксигену, що призводить до розвитку оксидативного стресу в клітинах [174].

Оксидативний стрес, по суті є результатом дисбалансу між радикал-генеруючими і радикал-знищувальними системами і виступає механізмом, який лежить в основі виникнення діабету і його ускладнень [175]. Надмірно високі

рівні вільних радикалів і одночасне зниження активності системи антиоксидантного захисту, можуть призвести як до пошкодження біологічних мембран, так і до підвищення пероксидації клітинних органел і ензимів [37, 182], що супроводжується підвищенням концентрації оксигенних і гідроксильних радикалів, які є активаторами пероксидного окиснення ліпідів. Показниками інтенсивності цього процесу є вміст первинних і вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів у плазмі крові тварин [149].

Важливу роль у розвитку оксидативного стресу посідає забезпечення рівноваги про/антиоксидантного статусу, зсув цієї рівноваги в бік прооксидантів викликає компенсаторну активацію антиоксидантної системи [37].

Отримані нами результати свідчать, що за алоксанового цукрового діабету в крові та усіх досліджуваних тканинах тварин підвищувався вміст гідропероксидів ліпідів і ТБК-позитивних продуктів, що асоційовано зі змінами активності ензимів антиоксидантного захисту і вказує на посилення процесів вільнорадикального неензиматичного пероксидного окиснення ліпідів та служить маркером ступеня ендогенної інтоксикації та оксидативного стресу. Активні форми Оксигену і продукти пероксидного окиснення ліпідів негативно впливають на структуру, функцію і метаболізм на клітинному рівні [61].

Відомо, що за цукрового діабету саме ліпіди є основним джерелом енергії для організму, тому закономірною є підвищена мобілізація ліпідів з їхнього депо, і як наслідок зростання їх вмісту у крові (гіперліпопротеїнемія) [169].

Гіперглікемія, а також резистентність до інсуліну можуть призводити до кількісних і якісних порушень у ліпідному складі крові. Ці зміни, супроводжуються підвищенням вмісту триацилгліцеролів і холестеролу [146]. Процеси, які лежать в основі росту і розвитку тварин, тісно пов'язується, з однієї сторони, з синтезом в органах і тканинах структурних ліпідів (фосфоліпідів і холестеролу), а з другої – використанням жирних кислот у тканинній енергетиці. Встановлено, що фосфоліпіди разом з протеїнами займають центральне положення в організації і функціонуванні клітинних

мембран і структур [28]. Вміст фосфоліпідів і холестеролу в клітинних мембранах органів і тканин тварин суттєво впливає на їх фізико-хімічні властивості та знаходиться в тісній взаємодії з функціональною і метаболічною активністю тканин організму.

Виявлена нами висока концентрація ліпідів в плазмі крові тварин з експериментальним цукровим діабетом, особливо холестеролу, може бути результатом збільшення мобілізації жирних кислот з периферичних тканин і посилення ліполізу на фоні нестачі інсуліну, що узгоджується з даними літератури [200].

Разом з тим, показана деяка нормалізація обмінних процесів за впливу цитратів магнію і хрому може бути пов'язано із достатнім надходженням цих елементів в організм. У ході проведених досліджень, було встановлено що цитрати магнію і хрому, синтезовані методом нанотехнології, зумовлювали збільшився вмісту Магнію та Хрому у печінці тварин із супутнім зниженням їх вмісту у нирках. Відомо, що в основному Магній та Хром виводяться нирками, які є основним регулятором їхнього вмісту в організмі. За цукрового діабету глікемія перевищує «нирковий поріг», глюкоза починає виділятися із сечею і за законами осмосу виводить з організму велику кількість рідин (поліурія). Осмотичний діурез приводить до втрат води, паралельно відбуваються втрати макро- та мікроелементів, зокрема Магнію та Хрому [163].

Саме тому, надходження в організм Магнію і Хрому у складі цитратних сполук, можливо сприяє потенціюванню секреції інсуліну, що в свою чергу призводить до посилення утилізації глюкози печінкою, м'язами та жировою тканиною, і як наслідок зменшується поліурія, посилюється каналцева реабсорбція і знижується екскреція Магнію та Хрому з організму [102, 164].

Більше того, Магній залучений в процеси регуляції передачі сигналів від інсуліну (шляхом впливу на зв'язування інсуліну з його рецепторами), фосфорилуванні тирозинової кінази інсулінового рецептора, інсулін-опосередкованому поглинанні глюкози клітинами [101, 128].

Щодо хрому, його дія пов'язана із регуляцією вуглеводного обміну, оскільки він проявляє свою біологічну активність як складова олігопептиду хроммодуліну, що, в свою чергу, активує дію інсуліну шляхом сприяння зв'язування гормону з рецепторами на поверхні клітини [18, 118]. Хром стимулює формування дисульфідних зв'язків між дисульфідними мітками інсуліну і сульфідними групами мітохондріальної мембрани, завдяки цьому інсулін збільшує потік глюкози, що проходить через мембрани [18, 19, 58].

Не виключено, що позитивний ефект сумісного застосування цитратів магнію і хрому на активність ензимів вуглеводного обміну може бути зумовлено також безпосереднім залученням досліджуваних елементів у вуглеводному обміні. Так, відомо, що значна більшість ензимів, які представляють собою ядро енергетичного метаболізму і використовуються в гліколізі, дихальному ланцюзі та циклі Кребса, є Mg-залежними, оскільки Магній може виступати в якості алостеричного модулятора, або в якості кофактора у вигляді Mg-ATP²⁻ [237]. Перебуваючи в комплексах з АТФ, Mg забезпечує вивільнення енергії через активність Mg-залежних АТФаз. Як кофактор піруватдегідрогеназного комплексу Mg²⁺ регулює надходження продуктів гліколізу в цикл Кребса і цим перешкоджає їх накопиченню [90].

Виявлене зниження вмісту загальних ліпідів порівняно із тваринами з алоксановим цукровим діабетом може бути зумовлено тим, що достатній вміст Магнію в організмі забезпечує підтримання активності деяких ензимів ліпідного обміну [175]. Крім цього, нормалізація показників ліпідного спектру плазми крові може бути зумовлена впливом цитратних сполук на ліпідний обмін також через дію інсуліну. Як уже було зазначено, нестача даного гормону спричиняє надмірну екскрецію із організму макро- і мікроелементів, що можливо негативно впливає на утилізацію жирів, сприяючи розвитку діабетичної дисліпідемії [85]. Крім того, дефіцит Хрому в організмі призводить до посилення синтезу жиру в жировій тканині та ожиріння [165]. Саме це і пояснює підвищення в плазмі крові діабетичних тварин вмісту холестеролу, ліпопротеїнів низької щільності і триацилгліцеролів [221].

Зниження концентрацій холестеролу у плазмі крові за сумісної дії цитратів магнію і хрому може бути викликане включенням цих елементів у процес відновлення біологічних мембран, що в умовах оксидативного стресу і посилення пероксидного окиснення ліпідів за діабету піддаються значним ушкодженням [8].

Згідно літературних даних активація поліолового шляху окиснення глюкози призводить до продукції сорбітолу, а під час реакції використовується значна кількість відновленої форми NADP, який є необхідним для нормального функціонування глутатіонової системи заисту. Крім цього, накопичення в клітинах сорбітолу призводить до руйнування клітинних мембран. Відомо, що в'язкість біологічних мембран залежить від багатьох факторів, але перш за все від фракційного складу фосфоліпідів і вмісту холестеролу. Отримані дані свідчать про те, що у крові тварин з алоксановим цукровим діабетом суттєво зростає співвідношення холестерол/фосфоліпідів. Проте за додавання до раціону тварин магній цитрату спостерігалось зменшення співвідношення холестерол/фосфоліпідів, що свідчить про зниження жорсткості мембран. Такі зміни нормалізують активність мембранозв'язаних ензимів і роботу транспортних систем [67].

Неконтрольована гіперглікемія робить клітини більш чутливими до оксидативного стресу і також, може викликати значні зміни в статусі поживних речовин. Проте, деякі з цих поживних речовин, особливо певні макро- і мікроелементи, можуть бути безпосередньо залучені у модуляцію глюкозного гомеостазу, що призводить до нормалізації показників як пероксидного окиснення ліпідів, так і антиоксидантного статусу організму [102].

Цим обумовлена актуальність досліджень, скерованих на з'ясування біологічної дії цитратів магнію і хрому на стан про/антиоксидантної системи в організмі тварин.

У ході проведених досліджень показано, що інтенсивність процесів ПОЛ в організмі тварин тісно пов'язана з антиоксидантним статусом клітин, який значною мірою залежить від активності антиоксидантних ензимів.

Антиоксидантна система організму контролює і гальмує всі етапи вільнорадикальних реакцій, починаючи від їх ініціації і закінчуючи утворенням гідропероксидів ліпідів та ТБК-позитивних продуктів. Основний механізм контролю цих реакцій пов'язаний з ланцюгом оборотних окисно-відновних реакцій іонів металів, глутатіону, аскорбату, токоферолу та інших речовин [2].

Діабет зазвичай супроводжується послабленням антиоксидантних захисних механізмів, що може призвести до пошкодження клітинних протеїнів і ензимів, нуклеїнових кислот, а також розвитку резистентності до інсуліну [175].

Провідне місце в антиоксидантній системі захисту в організмі тварин займає супероксиддисмутаза, яка здатна перетворювати супероксидний радикал в менш активну форму – гідроген пероксид (H_2O_2). В подальшому він розщеплюється іншими антиоксидантними ензимами, такими як глутатіонпероксидаза і каталаза [107]. Проведені нами дослідження показали, що у крові і досліджуваних тканинах щурів за умов алоксанового діабету на фоні посилення процесів пероксидного окиснення ліпідів спостерігалось зниження активності супероксиддисмутази, що може бути зумовлено пригніченням синтезу її молекул за оксидативного стресу, виснаженням пулу ензиму через його посилене використання у реакції дисмутації, а також надлишковим утворенням гідропероксидів жирних кислот, які інгібують активність цього ензиму.

Натомість, додавання тваринам до питної води цитрату магнію як самостійної сполуки, так і сумісно із цитратом хрому у досліджуваних дозах супроводжувалось підвищенням активності супероксиддисмутази як у крові, так і в тканинах тварин, що свідчить про зростання адаптивно-захисної здатності досліджуваних тканин до елімінації активних форм Оксигену за впливу цитратних сполук макро- і мікроелементів.

У формуванні антиоксидантного ефекту важливе значення належить глутатіоновій системі антиоксидантного захисту організму, яку утворюють глутатіон, глутатіонпероксидаза, глутатіонредуктаза [43].

Оскільки основною мішенню для активних форм Оксигену є протеїни, важливу роль у їх захисті відіграє глутатіон відновлений (GSH), який виступає основним антиоксидантом глутатіонової ланки в організмі. Відомо, що саме печінка – головний орган синтезу відновленого глутатіону у ссавців, який забезпечує близько 90% всього циркулюючого глутатіону при фізіологічних умовах [17]. Він ензиматичним шляхом інактивує гідропероксиди ліпідів, а також неензиматичним шляхом інактивує H_2O_2 та інгібує активні форми Оксигену [2]. SH-групи цієї речовини окиснюються набагато легше, ніж SH-групи протеїнових молекул, захищаючи тим самим протеїни від ушкоджуючої окисної модифікації. В організмі глутатіон бере участь у метаболізмі ксенобіотиків, регулює проліферацію клітин, впливає на синтез нуклеїнових кислот та протеїнів, а також на активність ензимів [2, 43].

У ході наших досліджень було встановлено, що вміст відновленого глутатіону у крові тварин з експериментальним цукровим діабетом достовірно зростав у порівнянні з контрольною групою тварин. Це може бути пов'язано з інтенсифікацією ліпідного обміну, за якого жири використовуються як джерело енергії з наступним вивільненням великої кількості атомів Гідрогену. Глутатіон виступає в ролі кумулятора атомів Гідрогену з різних ланок обміну речовин, як з вуглеводного, так і з ліпідного та протеїнового. В подальшому ці атоми можуть використовуватись для різних ланок обміну речовин, зокрема і для знешкодження активних форм Оксигену. В даному випадку, з огляду на результати досліджень, можна зробити припущення, що глутатіон кумулює Гідроген вивільнений в результаті використання ліпідів як джерела енергії.

Проте, у м'язовій тканині і підшлунковій залозі тварин з алоксановим цукровим діабетом вміст відновленого глутатіону знижувався, що, найімовірніше, може бути зумовлено надмірним його використанням для знешкодження гідроген пероксиду. Крім того, за гіперглікемічного стану надмірно споживається NADPH, який необхідний для відновлення глутатіону [42, 182]. Недостатність NADPH суттєво ослаблює систему антиоксидантного захисту і таким чином підвищує можливість пошкодження клітини внаслідок

активації оксидативного стресу [171]. Крім цього, при зниженні концентрації GSH у клітині, збільшується вміст гідроген пероксиду і зростає концентрація цитотоксичних вільних радикалів, що є додатковим фактором подальшого зниження вмісту відновленого глутатіону [2].

Разом з тим, наші дослідження вказують на підвищення вмісту відновленого глутатіону у м'язовій тканині та підшлунковій залозі тварин за додавання комплексу цитратів магнію і хрому (у дозах 250 мг Mg/кг маси тіла і 10 мкг Cr/кг маси тіла), що може бути зумовлено інтенсифікацією його синтезу за дії цих сполук. Крім цього, підвищення вмісту відновленого глутатіону за дії цитратних сполук у комплексі, чи окремо може бути зумовлене активацією синтезу вітаміну C з L-гулонолактону, який у свою чергу захищає відновлений глутатіон від руйнування його H_2O_2 [198].

Скоріш за все вміст відновленого глутатіону залежить від збалансованості швидкості таких протилежно спрямованих процесів, як синтез *de novo* і регенерація за рахунок відновлення GSSG та використання у нейтралізації H_2O_2 і вторинних продуктів пер оксидзації, підтвердженням чого є дані літератури [31]. Для оцінки цих процесів досліджували активність глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази – основних ензимів глутатіонової системи захисту.

Підтримання фізіологічного рівня відновленого глутатіону в клітинах забезпечується ензиматичним процесом, який здійснюється глутатіонредуктазою [119].

У тварин з алоксановим цукровим діабетом спостерігалось достовірне зниження активності глутатіонредуктази у печінці і підшлунковій залозі, що можливо зумовлено накопиченням окисненої форми NADP і зниженням вмісту NADPH у клітинах організму. Проте, як за сумісного застосування цитратів магнію і хрому, так і самого цитрату магнію у дозах 250- і 500 мг Mg^{2+} /кг маси тіла спостерігали зростання активності досліджуваного ензиму у печінці та підшлунковій залозі тварин порівняно з тваринами з ЦДА.

Проведені дослідження також показують, що у скелетних м'язах та еритроцитах крові тварин з алоксановим цукровим діабетом зростала глутатіонредуктазна активність. Не виключено, що це може бути пов'язано із обмеженням використання NADPH у біосинтезі жирних кислот та зниженням співвідношення NADP/NADPH за умов діабету [51].

Глутатіонпероксидаза – важливий селенумісний ензим, оскільки він використовує трипептид глутатіон як донор Гідрогену, каталізує перетворення органічних гідропероксидів (R-OOH) і гідроген пероксиду (H_2O_2) та інактивує їх [37]. При цьому відновлений глутатіон перетворюється у окиснену форму [2, 43].

Активність глутатіонпероксидази у печінці та підшлунковій залозі щурів з алоксановим цукровим діабетом знижувалась, що може бути зумовлено зменшенням як інтенсивності синтезу, так і підвищенням рівня деградації молекул ензиму за оксидативного стресу, викликаного діабетом. Крім цього, згідно даних літератури, синтез даного ензиму також знижується при зниженні вмісту відновленого NADP у клітинах, а оскільки його недостатність суттєво ослаблює систему антиоксидантного захисту, це може пояснити низький рівень активності глутатіонпероксидази в тканинах тварин із діабетом [173].

У свою чергу сумісна дія цитратів магнію ($250 \text{ мг } Mg^{2+}/\text{кг м.т.}$) і хрому ($25 \text{ мкг } Cr^{3+}/\text{кг м.т.}$) забезпечувала підвищення активності цього ензиму у печінці та підшлунковій залозі, що може бути зумовлено частковою нормалізацією вмісту відновленого глутатіону, який виконує роль чинника, необхідного для постійного відновлення розміщених у каталітичному центрі ензиму селенольних груп, що окиснюються у процесі глутатіонпероксидазної реакції [31].

Загалом, нормалізація показників глутатіонової ланки захисту може бути зумовлена особливостями сумісного впливу цитрату Mg^{2+} із цитратом Cr^{3+} на підтримання нормального метаболізму глюкози, опосередковано через гормон інсулін. Як відомо, Хром діє шляхом посилення або потенціювання дії інсуліну, через збільшення числа рецепторів інсуліну, посилення зв'язування гормону з

його рецептором і посилення активації самого рецептора [187]. Магній, в свою чергу, бере участь у регуляції передачі інсулінового сигналу всередину клітини, зокрема у фосфорилуванні тирозинкінази інсулінових рецепторів та, як наслідок, в інсулін-опосередкованому поглинанні глюкози клітинами [102, 199]. Також, є припущення, що недостатність інсуліну може бути причиною змін антиоксидантного статусу організму [191].

Загалом, отримані нами результати свідчать про необхідність поглиблення досліджень з метою ефективнішого науково-практичного вирішення проблеми попередження виникнення змін у метаболізмі, а також системі антиоксидантного захисту за цукрового діабету. Сумісне застосування цитратів магнію і хрому у перспективі може лягти в основу розробки засобів профілактики та корекції обмінних порушень за цукрового діабету. Таким чином, можна зробити висновок, що проведені дослідження демонструють їх важливе та актуальне значення як для попередження виникнення, так і для лікування цукрового діабету.

ВИСНОВКИ

У дисертації представлено теоретичне узагальнення та експериментальне обґрунтування доцільності застосування цитратів магнію і хрому, синтезованих методом нанотехнології, з метою корекції метаболічних порушень, які виникають за цукрового діабету. Обрані дози досліджуваних сполук виявилися ефективними у корекції окремих ланок вуглеводного та ліпідного обміну, стану про/антиоксидантної системи в організмі тварин за умов алоксанового діабету. Отримані результати можуть сприяти розв'язанню актуальної медико-соціальної проблеми профілактики і лікування цукрового діабету та його численних ускладнень.

1. У крові та тканинах щурів за умов ЦД_A встановлено зміни активності досліджуваних ензимів вуглеводного обміну. Зокрема, у крові виявлено розвиток стійкої гіперглікемії, що супроводжувалася зниженням глюкозо-6-фосфатдегідрогеназної активності та підвищенням лактатдегідрогеназної активності, а також зростанням вмісту L-лактату та зниженням пірувату, що може свідчити про активацію анаеробного гліколізу. У тканинах печінки, скелетних м'язів і підшлункової залози щурів за ЦД_A встановлено зниження глюкозо-6-фосфатдегідрогеназної активності. У той же час лактатдегідрогеназна активність у тканинах скелетних м'язів тварин із ЦД_A підвищувалась, а в печінці та підшлунковій залозі – знижувалась.

2. Введення щурам розчину цитратів магнію (100, 250, 500 мг Mg²⁺/кг маси тіла) та хрому (10, 25 мкг Cr³⁺/кг маси тіла) сприяло запобіганню розвитку гострої гіперглікемії за ЦД_A, з частковою нормалізацією активності досліджуваних ензимів вуглеводного обміну: зростанням глюкозо-6-фосфатдегідрогеназної активності у крові і досліджуваних тканинах; лактатдегідрогеназної – у печінці і підшлунковій залозі, однак зниженням у скелетних м'язах і крові.

3. Встановлено, що за гіперглікемії зумовленої розвитком ЦД_A рівень С-пептиду та інсуліну знижувався. За сумісної дії цитратів магнію (250 мг Mg²⁺/кг м.т.) та хрому (25 мкг Cr³⁺/кг м. т.) встановлено зниження вмісту глюкози (у 3 рази), підвищення рівня інсуліну (у 1,5 разу) та С-пептиду (у 2,8 разу) в плазмі крові.

4. Розвиток гіперглікемії за умов ЦД_A призводив до інтенсифікації оксидативного стресу, про що свідчить зростання вмісту гідропероксидів ліпідів та ТБК-активних продуктів в організмі. Застосування цитрату магнію, як окремо, так і сумісно з цитратом хрому, у досліджуваних дозах за умов ЦД_A зумовлювало зниження вмісту продуктів пероксидного окиснення ліпідів, як у крові, так і в тканинах.

5. За умов ЦД_A виявлено порушення функціонування системи антиоксидантного захисту організму, про що свідчить зниження активності основного ензиму – супероксиддисмутази, а також зміни активності ензимів глутатіонової ланки захисту в крові, печінці, підшлунковій залозі та тканині скелетних м'язів дослідних тварин.

6. Застосування цитрату магнію окремо, а також сумісно з цитратом хрому, дало змогу частково нормалізувати систему антиоксидантного захисту. Зокрема, спостерігалось підвищення супероксиддисмутазної активності в крові та досліджуваних тканинах, підвищення активності ензимів глутатіонової ланки захисту в печінці і підшлунковій залозі та її зниження у крові.

7. За умов ЦД_A спостерігали підвищення вмісту загальних ліпідів, холестеролу та вільних жирних кислот у плазмі крові щурів. Однак сумісне застосування цитратів магнію і хрому сприяло частковій нормалізації вмісту загальних ліпідів та окремих класів ліпідів за умов гіперглікемії, спричиненої ЦД_A.

8. За умов ЦД_A встановлено зниження вмісту Магнію та Хрому в печінці, однак зростання у нирках тварин. Сумісне введення цитрату магнію та хрому, зумовлювало зростання вмісту досліджуваних макро- і мікроелементів у печінці та зниження їх у нирках.

9. Введення до раціону щурів цитратів магнію та хрому у досліджуваних дозах виявилось ефективним у корекції окремих ланок вуглеводного та ліпідного обміну, стану про/антиоксидантної системи в організмі тварин за умов алоксанового діабету. Найкращий позитивний ефект спостерігали при сумісному застосуванні цитрату магнію у дозі 250 мг Mg²⁺/кг маси тіла та цитрату хрому у дозі 25 мкг Cr³⁺/кг маси тіла.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Батлер, О., Дюбра О. Методика определения уровня восстановленного глутатиона (GSH) в эритроцитах крови (по принципу Батлер, О. Дюбон, Б. Келли, 1963) : методические рекомендации по дифференциальной диагностике различных форм ишемической болезни сердца с использованием определения компонентов глутатионовой противоперекисной каталитической системы в эритроцитах крови. Одеса, 1982. С. 16-20.
2. Бєленічев І. Ф., Левицький Є. Л., Губський Ю. І. Антиоксидантна система захисту організму (огляд). Совр. пробл. токсикол. 2002. №3, С. 24-29.
3. Боднар П. М., Кононенко Л.О , Кирієнко Д. В., Кобиляк Н. М. Цукровий діабет із моногенним типом успадкування: клініка, діагностика та лікування (частина 2). Ендокринологія. 2015. Т. 20, № 2. С. 533-544.
4. Галєнова Т. І., Ракша Н. Г., Савчук О. М. та ін. Функціонування деяких ключових ензимів вуглеводного обміну у щурів за умов експериментального цукрового діабету 2-го типу. Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. 2011. Т. 54, № 2, С. 13-21.
5. Галушко О. А. Порушення обміну калію, магнію, фосфору у хворих на діабетичний кетоацидоз. Медицина неотложных состояний. 2013. № 6. С. 152-154.
6. Гонський Я. І., Максимчук Т. П., Калинський М. І. Біохімія людини: Підручник. Тернопіль: Укрмедкнига. 2002: 744 с.
7. Гончар М. В., Смуток О. В., Осьмак Г. С. Спосіб кількісного визначення вмісту L-лактату у продуктах харчування та біологічних рідинах. Патент України 45283: 10/11/2009, Бюл. № 21.
8. Данилова А. О. Вплив високовуглеводних препаратів з пробіотичними мікроорганізмами на стан щурів з алоксановим діабетом. Досягнення біології та медицини. 2012. Т. 20, № 2. С. 6-10.
9. Дербак М. А., Архій Е. Й., Пічкарь Й. І. та ін. “Розповсюдженість гастроентерологічної патології у хворих на цукровий діабет 2 типу. Науковий вісник Ужгородського університету, серія “Медицина”. 2013. Вип. 2, № 47. С. 131-134.

10. Довгань Н. Я. Методики досліджень з фізіології і біохімії сільськогосподарських тварин/Під ред. Н. Я. Довганя. Львів: ВКП "ВМС". 1998. 131с.
11. Дрель В. Р. Основні механізми виникнення та розвитку діабетичних ускладнень: роль нітративного стресу. Біологічні студії. 2010. Т. 4, №2. С. 141-158.
12. Журавльова Л. В., Боброннікова Л. Р., Цівенко О. І., Моїсеєнко Т. А. та інші. Цукровий діабет, етіологія, патогенез, клініка, діагностика. Класифікація: методичні вказівки для студентів. Харків, 2012. 31 с.
13. Зенков М. К., Ланкін М. К., Менщикова Є. Б. Окислювальний стрес. М.: Наука. 2001. 342 с.
14. Зуєв К. О. Бенфотіамін і теорія ускладнень цукрового діабету Майкла Браунлі. Сімейна медицина. 2011, №4. С. 37-40.
15. Іскра Р. Я., Слівінська О. М., Шатинська О. А. та ін. Метаболічні процеси у печінці щурів за експериментального діабету та вплив цитрату хрому. Науковий вісник Східноєвропейського національного університету імені Лесі Українки. 2015. № 12. С. 161-166.
16. Іскра Р. Я., Слівінська О. М., Шатинська О. А. та ін. Живлення тварин та фізіологі-біохімічні процеси в організмі за дії цитратів мікроелементів: методичні рекомендації. Львів. 2016. 27 с.
17. Іскра Р. Я., Максимович І. Я., Бучко О. М. та ін. Процеси перикисного окиснення ліпідів і систем антиоксидантного захисту в тканинах щурів за впливу різних рівнів дієтичного хрому (Ш). Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія. 2013. Т. 1, № 61. С. 30-35
18. Іскра, Р. Я., Янович В. Г. Біохімічні механізми дії хрому в організмі людини і тварин. Український біохімічний журнал. 2011. Т. 83, № 5. С. 5-12.
19. Іскра Р. Я., Влізло В. В., Федорук Р. С., Антоняк Г. Л. Хром у живленні тварин : Монографія. Київ: Аграрна наука. 2014. 312 с.
20. Ковалишин Н. В., Алмашина Х. В., Кузишин О. В., Мідак Л. Я. Біохемія цукрового діабету: 2. Експериментальна частина – 1. Вісник Прикарпатського

національного університету імені Василя Стефаника. Серія “Хімія”. 2010. № 10. С. 141-157.

21. Ковальова В. А., Моргаєнко О. О., Степанов Ю. В. Вміст ліпідів та продуктів їх пероксидації в плазмі крові щурів за умов стрес-індукованих виразкових уражень шлунка. Фізика живого. 2010, Т.18, № 2. С. 160-109.

22. Конечна Р. Т., Новіков В. П. Фітозасоби лікуванні в цукрового діабету. Вісн. Нац. ун-ту “Львів. політехніка”. 2008, № 622. С.64-69.

23. Корженевский Д. А., Селищева А. А., Савельев С. В. Подход к идентификации молекулярных фракций фосфолипидов эритроцитов человека методом взжх с масс-спектрометрическим детектированием. Биомедицинская химия. 2010. Т. 56, № 6. С. 747-757.

24. Коркина Л. Г., Величковский Б. Т. Кислородные радикалы в химии, биологии и медицине. Рига, 1988. 115 с.

25. Коробейникова Э. Н. Модификация определения продуктов перекисного окисления липидов в реакции с тиобарбитуровой кислотой. Лаб. Дело. 1989. №7. С. 8-9.

26. Королюк М. А., Иванова Л. К., Майорова И. Г., Токарева В. А. Метод определения активности каталазы. Клиническая лабораторная диагностика. 1988. № 4. С. 44-47.

27. Костіцька І. О. Методи корекції метаболічних порушень у хворих на цукровий діабет типу 2 з ознаками стеатогепатозу. Буковинський медичний вісник. 2007. Т. 11, № 3. С. 46-48.

28. Крепс Е. М. Липиды клеточных мембран. Л. : Наука. Ленингр. отд-ние, 1981. 339 с.

29. Кресюн Н. В., Сон Г. О., Годован В. В., Годлевський Л. С. Обмін ліпідів при експериментальному цукровому діабеті та його корекція ніацин-оксіетилідендифосфонатогерманатом. Запорізький медичний журнал. 2017. Т. 19, № 4. С. 497–503.

30. Кузишин О. В., Ковалишин Н. В., Алмашина Х. В. Біохемія цукрового діабету: 1. Теоретична частина (огляд). Вісник Прикарпатського національного університету імені Василя Стефаника. Серія "Хімія". 2010. № 9. С. 74-115.
31. Кулинский В. И., Колесниченко Л. С. Система глутатиона. I. Синтез, транспорт, глутатионтрансферазы, глутатионпероксидазы. Биомедицинская химия. 2009. Т. 55, № 3. С. 255-277.
32. Лавришин Ю. Ю., Вархоляк І. С., Мартишук Т. В. та ін. Біологічне значення системи антиоксидантного захисту організму тварин. Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького. 2016. Т. 18, № 2. С. 100-110.
33. Левітін Є. Я., Ведерникова І. О., Коваль А. О., Криськів О. С. Біоактивність неорганічних сполук: навч. посіб. для аудит. та самост. роботи студентів. Х. : НФаУ, 2017. 83 с.
34. Левченко В. І., Влізло В. В., Кондрахін І. П. та ін. Ветеринарна клінічна біохімія. Підручник. Біла Церква, БГАУ, 2002. 400 с.
35. Макух Є., Головацький І. Особливості впливу інсуліну, ацетату і цитрату натрію на окремі реакції пентозофосфатного шляху й обміну глутатіону в крові корів. Вісник Львів. ун-ту. Серія біол. 2002. № 31. С. 34-38.
36. Маркевич В. Е., Глущенко Н. В. Особливості мікроелементного та енергетичного забезпечення дітей, хворих на цукровий діабет I типу. Вісник СумДУ. Серія Медицина. 2010. № 1. С. 112-122.
37. Мелех Б. Я., Регеда М. С., Качмарська М. О. Стан антиоксидантної глутатіонової системи та процесів перекисного окиснення ліпідів у крові морських свинок з експериментальним алергічним альвеолітом у різні періоди його формування. Буковинський медичний вісник. 2013. Т. 17, № 4. С. 98-100.
38. Меньшиков В. В. Лабораторные методы исследования в клинике (Справочник). Медицина Москва, 1987. 368 с.
39. Мирончик В. В. Способ определения содержания гидроперекисей липидов в биологических тканях. Авторское свидетельство №1084681 СССР, МКИ G № 33/48. (СССР). №3468369/2813; заявл. 08.07.82; опубл. 07.04.84. Бюл. No13.

40. Моин В. М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах. Лаб. Дело. 1986. № 12. С. 724-727.
41. Муравльова О. В. Терапія цукрового діабету 2-го типу: ефективність, яка доведена часом. Семейная медицина. 2016. Т. 68, № 5. С. 13-14.
42. Науменко В. Г. Патогенетична терапія ускладнень цукрового діабету. Міжнар. ендокринол. журн. 2006. Т. 1, № 3. С. 55.
43. Особа І. А. Особливості функціонування системи антиоксидантного захисту організму. Рибогосподарська наука України. 2009. №1. С. 133-139.
44. Паньків В. І. Американська діабетична асоціація: стандарти медичної допомоги хворим на цукровий діабет (опубліковані в журналі «Diabetes Care», 2008р., т. 31, додаток 1). Міжнародний ендокринологічний журнал. 2008. Т. 2, №14. С. 14.
45. Паньків В. І. Можливості медикаментозної профілактики цукрового діабету 2 го типу. Міжнародний ендокринологічний журнал. 2013. Т. 5, № 53. С. 107-112.
46. Паньків В. І. Сучасні можливості корекції функціонального стану печінки у хворих на цукровий діабет із використанням препарату ГепаМерц (L-орнітин L-аспартат). Міжнародний ендокринологічний журнал. 2012. Т. 5, № 45. С. 36-42.
47. Паньків В. І. Цукровий діабет: визначення, класифікація, епідеміологія, фактори ризику. Міжнародний ендокринологічний журнал. 2013. Т. 7, № 55. С. 95-104.
48. Передерій В. Г., Ткач С. М. Основи внутрішньої медицини. Том 1. Підручник для студентів вищих медичних навчальних закладів. Вінниця: Нова Книга. 2009. 640 с.
49. Приступок О. Сучасне медикаментозне лікування хворих на цукровий діабет 2 типу. Міжнародний ендокринологічний журнал. 2005. Т. 2, № 2. С. 29-33.
50. Северин Е. С. Биохимия: учеб. для вузов/Под ред. Е.С. Северина. 2 изд - е., испр. - М: ГЭОТАР-МЕД, 2004. 784 с.
51. Сибірна Н., Вовк О., Бурда В., Федорович А. Вплив L-аргініну та інгібіторів NO-синтази на стан антиоксидантної системи тромбоцитів за умов цукрового діабету першого типу. Лабораторна діагностика. 2004. № 4. С. 45-51.

52. Скальный А. В. Микроэлементы для вашего здоровья. М.: Издательский дом «ОНИКС21 век». 2004. 320 с.
53. Скибчик В. А. Инсулинорезистентність: клінічне значення, методи визначення, підходи до лікування. Український медичний часопис. 2006. № 6. С. 56.
54. Скрипник И. Н. Эссенциальные фосфолипиды в лечении и профилактике медикаментозных поражений печени. Сучасна гастроентерологія. 2009. № 4. С. 48.
55. Скрипник Н. В. Особливості патогенезу та лікування діабетичної нейропатії (огляд літератури). Ендокринологія. 2013. Т. 18, № 1. С 64-68.
56. Слівінська О. М., Шатинська О. А., Іскра Р. Я. Оксидативно-нітративний стрес у щурів з експериментально-індукованим діабетом та його корекція цитратом хрому. Матеріали конференції-конкурсу молодих учених “Актуальні проблеми біохімії та біотехнології 2015” Київ, 23-24 квітня (2015)
57. Слівінська О. М., Р. Я. Іскра, О. А. Шатинська Спосіб профілактики цукрового діабету при комплексному використанні цитратів хрому та цинку: пат. 121254 Україна, МПК А61К 33/00, А61Р 3/10 (2006.01); заявл. 26.06.2017, опубл. 27.11.2017, Бюл. № 22. 5с.
58. Смоляр В. І., Петрашенко Г. І. Аліментарні гіпо- та гіпермікроелементози. Проблеми харчування. 2005. № 4. С. 40-42.
59. Сологуб Л. І., Антоняк Г. Л., Бабич Н. О. Хром в організмі людини і тварин. Біохімічні, імунологічні та екологічні аспекти. Львів: Євросвіт. 2007. 128 с.
60. Суслик А. І. Особливості вмісту мікроелементів у крові хворих на цукровий діабет 2-го типу з ожирінням. Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія. 2012. № 3. С. 54-59.
61. Тимочко М. Ф. Метаболічні аспекти формування перехідних адаптаційно-компенсаторних процесів при екстремальній дії гіпоксії: Автореф. дис. докт. біол. наук. Львів, 1992. 32 с.
62. Тяжка О. В., Загородня Я. М. Стан перекисного окислення ліпідів та антиоксидантної системи у дітей різного віку. Перинатология и педиатрия. 2016. № 2. С. 101-105.

63. Унжаков А. Р., Илюха В. А., Мацук Н. В., Белкин В. В. Роль изоферментов лактатдегидрогеназы в адаптациях млекопитающих Карелии. Труды Карельского научного центра РАН. 2007. Вып. 11. С. 118-126.
64. Федів О. І., Марчук Ю. Ф., Волошина Л. О. Особливості ураження гепатобіліарної системи у хворих на цукровий діабет II типу. Бук. мед. вісник. 2008. Т. 12, № 4. С. 126-131.
65. Хворостінка В. М., Лавриненко О. В., Журавльова Л. В. Патогенетичні аспекти жирової дистрофії печінки при цукровому діабеті 2 типу. Сучасна гастроентерологія. 2009. № 3. С. 91-97.
66. Чевари С., Андял Т., Штрэнгер Я. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте. Лабораторное дело. 1991. №10. С. 9-13.
67. Чекман И. С., Горчакова Н. А., Галенко-Ярошевский П. А. и др. Фармакология. Рецепттура. Практические занятия. /Под ред. И.С. Чекмана. Учебник для иностранных студентов. Киев: Рада, 2003. 820 с.
68. Червоненко Н. М., Мозуль В. І., Цикало Т. О. Аналіз лікарських рослин, які застосовуються в комплексній терапії цукрового діабету з основними діючими речовинами. Zbiór artykułów naukowych. 2016. С. 66-70.
69. Шатинська О. Зміни активності ензимів вуглеводного обміну у печінці щурів з експериментально-індукованим діабетом за дії цитратів магнію і хрому. Вісник Львівського університету. Серія біологічна. 2016. Вып. 73. С. 235-239.
70. Шатинська О. А. Активність ензимів вуглеводного обміну в тканинах щурів з алоксан-індукованим цукровим діабетом за додавання магній цитрату. Вісник Запорізького національного університету. Біологічні науки. 2016. №2. С. 96-101.
71. Шатинська О. А. Вплив магнію цитрату на вуглеводний обмін та антиоксидантну систему захисту в підшлунковій залозі щурів з алоксаніндукованим цукровим діабетом: матеріали конференції молодих учених “Актуальні проблеми біохімії та біотехнології – 2016” (26-27 травня, 2016, м. Київ). Ukr. Biochem. J. 2016. Т. 88, № 4. С. 85.

72. Шатинська О. А. Комплексний вплив цитратів магнію і хрому на функціонування глутатіонової системи захисту у печінці щурів із алоксановим цукровим діабетом. Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія «Біологія». 2017. Вип. 28. С. 5-11.

73. Шатинська О. А., Пилипець А. З. Вплив цитратів магнію та хрому на вміст ліпідів у плазмі крові щурів за умов гіперглікемії: матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Актуальні проблеми сучасної біології, тваринництва та ветеринарної медицини» (29–30 вересня, 2016, м. Львів). Львів. 2016. С. 203.

74. Шатинська О. А., Іскра Р. Я., Сварчевська О. З. Сполуки цитратів магнію і хрому як засоби для профілактики цукрового діабету: матеріали XVI Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених «Молоді вчені у вирішенні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини» присвяченого доктору біологічних наук, професору Головачу Василю Миколайовичу (8–9 грудня, 2017 р., м. Львів). Біологія тварин. 2017. Т. 19, № 4. С. 161.

75. Шатинська О.А., Іскра Р.Я. Вплив цитрату магнію на вміст магнію у тканинах нирок і печінки щурів з експериментальним цукровим діабетом: матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича «Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій» (12-13 квітня, 2018, м. Харків). Харків: НФаУ, 2018. С. 130

76. Шатинська О. А., Р. Я. Іскра, О. М. Слівінська 2018. Спосіб профілактики та лікування цукрового діабету за використання цитратів магнію та хрому: пат. 122791 Україна: МПК (2017.01) А61К 35/00, А61К 33/30 (2006.01), А61К 47/00, А61Р 3/10 (2006.01); заявл. 31.07.2017, опубл. 25.01.2018, Бюл. № 2. 5с.

77. Шатинська О. А., Іскра Р. Я., Сварчевська О. З. Активність ензимів вуглеводного обміну у м'язовій тканині щурів з експериментальним цукровим діабетом за комплексної дії цитратів магнію і хрому. Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи). 2017. Т. 9, Вип. 1. С. 23-27.

78. Шатинська О. А., Іскра Р. Я., Слівінська О. М. Вплив цитрату магнію на прооксидантно-антиоксидантну систему крові щурів з експериментальним діабетом:

матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Актуальні проблеми сучасної біології, тваринництва та ветеринарної медицини», присвяченої 55-річчю Інституту біології тварин НААН (2–3 жовтня, 2015, м. Львів). Біологія тварин. 2015. Т.17, № 3. С. 219.

79. Шатинська О. А., Іскра Р. Я. Дія цитрату магнію на про/антиоксидантний статус печінки за експериментального цукрового діабету у щурів. Біологічні студії. 2016. Т. 10, № 2. С. 45-52.

80. Шатинська О. А., Іскра Р. Я. Корекція порушень вуглеводного обміну у м'язовій тканині щурів з експериментальним цукровим діабетом за комплексної дії цитратів магнію і хрому: матеріали XV Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених «Молоді вчені у вирішенні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини» (8–9 грудня 2016 р., м. Львів). Біологія тварин 2016. Т. 18, № 4. С. 203.

81. Шатинська О. А., Іскра Р. Я. Дія цитрату магнію на метаболічні процеси в клітинах м'язової тканини щурів з експериментальним діабетом: матеріали XIV Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених “Молоді вчені у вирішенні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини”, присвяченої 100-річчю від дня народження доктора біологічних наук, професора Скородинського Зеновія Павловича (3–4 грудня, 2015, м. Львів). Біологія тварин. 2015, Т. 17, № 4. С. 212.

82. Шатинська О., Іскра Р. Профілактика ускладнень цукрового діабету при використанні цитрату магнію отриманого за аквананотехнологією: матеріали II Всеукраїнської науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю «Нанотехнології у фармації та медицині» (19-20 квітня, 2018, м. Харків). Харків , 2018. С. 94-95.

83. Шатинська О., Іскра Р., Пилипець А., Сварчевська О. Вплив магній цитрату на вміст ліпідів у плазмі крові щурів за умов експериментального цукрового діабету. Науковий вісник Східноєвропейського національного університету імені Лесі Українки. Біологічні науки. 2016. №12. С. 115-120.

84. Шатинська О., Іскра Р. Корекція цитратом магнію оксидативного стресу в крові щурів з експериментальним діабетом. Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Серія Біологія. 2016. Вип. 71, № 1. С. 81-84.
85. Шилов А. М. Мельник М. В. Осия А. О. та інші “Роль дефіцита магнія в серцево-сосудистом континууме.” Лечебное дело 4 (2013):73-81.
86. Шталь Э. Хроматография в тонких слоях: Пер. с нем. Мир, 1965. 508 с.
87. Ahmad H., Ahmed Z., Khan R.. Effect of Chromium Picolinate Supplementation on Diabetic Profile and Nutritional Status of the Type-2 Diabetic Adult Population—A Randomized Controlled Trial. Journal of Food and Nutrition Research. 2016. V. 4, № 8. P. 535-542.
88. Aliciguzel Y., Ozen I., Aslan M., Karayalcin U. Activities of xanthine oxidoreductase and antioxidant enzymes in different tissues of diabetic rats. The Journal of laboratory and clinical medicine. 2003. V.142, № 3. P. 172-177.
89. Althuis M.D., Jordan NE, Ludington EA, Wittes JT. Glucose and insulin responses to dietary chromium supplements: a meta-analysis. The American journal of clinical nutrition. 2002. V. 76, № 1. P. 148-155.
90. Altura B.M. Basic biochemistry and physiology of magnesium: a brief review. Magnesium and trace elements. 1991. V. 10, № 2-4. P. 167-171.
91. Ambady R., Snehalatha C., Samith Shetty A., Nanditha A. Primary prevention of Type 2 diabetes in South Asians – challenges and the way forward. Diabetic Medicine. 2013. V. 30, № 1. P. 26-34.
92. American Diabetes Association. The prevention or delay of type 2 diabetes. Diabetes care. 2002. V. 25, № 4. P. 742-749.
93. American Diabetes Association. 2. Classification and diagnosis of diabetes. Diabetes care. 2015. V. 38, № Supplement 1. P. S8-S16.
94. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes – 2014. Diabetes care. 2014. V. 37, № Supplement 1. P. S14-S80.
95. Anderson R.A., Roussel A.M., Zouari N., Mahjoub S., Matheau J.M., Kerkeni A. Potential antioxidant effects of zinc and chromium supplementation in people with type 2

diabetes mellitus. *Journal of the American College of Nutrition*. 2001. V. 20, № 3. P. 212-218.

96. Anderson R.A., Polansky M.M., Bryden N.A. Stability and absorption of chromium and absorption of chromium histidinate complexes by humans. *Biological trace element research*. 2004. V. 101, № 3. P. 211-218.

97. Apelblat A. Properties of citric acid and its solutions. In *Citric acid*. Springer, Cham., 2014. 13-141 pp.

98. Atkinson M.A., Eisenbarth G.S., Michels A.W. Type 1 diabetes. *The Lancet*. 2014. V. 383, № 9911. P. 69-82

99. Balk E.M., Tatsioni A., Lichtenstein A.H., Lau J., Pittas A.G. Effect of chromium supplementation on glucose metabolism and lipids: a systematic review of randomized controlled trials. *Diabetes care*. 2007. V. 30, № 8. P. 2154-2163.

100. Bandeira S.D., Guedes G.D., Fonseca L.J., Pires A.S., Gelain D.P., Moreira J.C., Rabelo L.A., Vasconcelos S.M., Goulart M.O. Characterization of blood oxidative stress in type 2 diabetes mellitus patients: increase in lipid peroxidation and SOD activity. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2012. P. 1-13.

101. Barbagallo M., Dominguez L.J. Magnesium and type 2 diabetes. *World journal of diabetes*. 2015. V. 6, № 10. P. 1152.

102. Barbagallo M., Dominguez J., Galioto A., Ferlisi A., Cani C., Malfa L., Pineo A., Paolisso G. Role of magnesium in insulin action, diabetes and cardio-metabolic syndrome X. *Molecular aspects of medicine*. 2003. V. 24, № 1-3. P. 39-52.

103. Barbagallo M., Dominguez L.J., Tagliamonte M.R., Resnick L.M., Paolisso G. Effects of glutathione on red blood cell intracellular magnesium. *Hypertension*. 1999. V. 34, № 1. P. 76-82.

104. Barragán-Rodríguez L., Rodríguez-Morán M., Guerrero-Romero F. Efficacy and safety of oral magnesium supplementation in the treatment of depression in the elderly with type 2 diabetes: a randomized, equivalent trial. *Magnesium Research*. 2008. V. 21, № 4. P. 218-223.

105. Baydas B., Karagoz S., Meral I. Effects of oral zinc and magnesium supplementation on serum thyroid hormone and lipid levels in experimentally induced diabetic rats. *Biological trace element research*. 2002. V. 88, № 3. P. 247-253.
106. Bergmeyer H.U., Bernt E. UV-assay with pyruvate and NADH. In *Methods of Enzymatic Analysis (Second Edition)*. 1974. V. 2. P. 574-579.
107. Brieger K., Schiavone S., Miller Jr. F.J., Krause K.H. Reactive oxygen species: from health to disease. *Swiss medical weekly*. 2012. V. 142. P. w13659.
108. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*. 2001. V. 414, № 6865. P. 813.
109. Brownlee M. Negative consequences of glycation. *Metabolism-Clinical and Experimental*. 2000. V. 49, № 2. P. 9-13.
110. Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. *Diabetes*. 2005. V. 54, № 6. P. 1615-1625.
111. Buchanan T. A. (How) can we prevent type 2 diabetes?. *Clinical Diabetology*. 2007. V. 56, № 6. P. 1502-1507.
112. Buchanan T.A., Xiang A.H., Peters R.K., et al. Preservation of pancreatic β -cell function and prevention of type 2 diabetes by pharmacological treatment of insulin resistance in high-risk Hispanic women. *Diabetes*. 2002. V. 51, № 9. P. 2796-2803.
113. Buse M.G. Hexosamines, insulin resistance, and the complications of diabetes: current status. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*. 2006. V. 290, № 1. P. E1-E8.
114. Camacho-Ruiz A., Esteban-Méndex M. Diabetes y radicales libres. In: Morales-González J.A., Madrigal-Santillán E.O., Nava-Chapa G., Durante-Montiel Jongitud-Falcón A., Esquivel-Soto J. Editors. *Diabetes*. 2010. 2nd ed. Pachuca, Hidalgo, México.: Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.
115. Forbes J.M., Thomas M.C., Dean R.G., Burns W.C., Ritchie R.H., Twigg S.M., Cooper M.E., Burrell L.M. A breaker of advanced glycation end products attenuates diabetes-induced myocardial structural changes. *Circulation research*. 2003. V. 92, № 7. P. 785-792.

116. Carlberg I., Mannervik B. [59] Glutathione reductase. In *Methods in enzymology*. 1985. V. 113. P. 484-490.
117. Cefalu W.T., Hu F.B. Role of chromium in human health and in diabetes. *Diabetes care*. 2004. V. 27, № 11. P. 2741-2751.
118. Cefalu W.T., Wang Z.Q., Zhang X.H., Baldor L.C., Russell J.C. Oral chromium picolinate improves carbohydrate and lipid metabolism and enhances skeletal muscle Glut-4 translocation in obese, hyperinsulinemic (JCR-LA corpulent) rats. *The Journal of Nutrition*. 2002. V. 132, № 6. P. 1107-1114.
119. Chang J.C., van der Hoeven L.H., Haddox C.H. Glutathione reductase in the red blood cells. *Annals of Clinical & Laboratory Science*. 1978. V. 8, № 1. P. 23-29.
120. Cheng N., Zhu X., Shi H., Andersen R.A. et al. A community-based randomized controlled trial of chromium supplementation in people with type 2 diabetes mellitus in China. *J. Trace Elem. Exp. Med.* 1999. V. 12. P. 55-60.
121. Classen H.G., Nowitzki S. The clinical importance of magnesium. 2. The indications for supplementation and therapy. *Fortschritte der Medizin*. 1990. V. 108, № 10. P. 198-200.
122. Cleland S.J., Fisher B.M., Colhoun H.M., Sattar N., Petrie J.R. Insulin resistance in type 1 diabetes: what is 'double diabetes' and what are the risks?. *Diabetologia*. 2013. V. 56, № 7. P. 1462-1470.
123. Clodfelder B.J., Emamaullee J., Hepburn D.D., Chakov N.E., Nettles H.S., Vincent J.B. The trail of chromium (III) in vivo from the blood to the urine: the roles of transferrin and chromodulin. *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry*. 2001. V. 6, № 5-6. P. 608-617.
124. Costello R.B., Dwyer J.T., Bailey R.L. Chromium supplements for glycemic control in type 2 diabetes: limited evidence of effectiveness. *Nutrition reviews*. 2016, V. 74, № 7. P. 455-468.
125. Czech M.P. *Molecular basis of insulin action*. Springer Science & Business Media, 2013. 474 pp.
126. Davis C.M., Vincent J.B. Chromium oligopeptide activates insulin receptor tyrosine kinase activity. *Biochemistry*. 1997. V. 36, № 15. P. 4382-4385.

127. Davis C.M., Sumrall K.H., Vincent J.B. A biologically active form of chromium may activate a membrane phosphotyrosine phosphatase (PTP). *Biochemistry*. 1996. V. 35, № 39. P. 12963-12969.
128. De Valk H.W. Magnesium in diabetes mellitus. *The Netherlands journal of medicine*. 1999. V. 54, № 4. P. 139-146.
129. DeFronzo R.A., Ferrannini E., Alberti K.G., Zimmet P., Alberti G., editors. *International Textbook of Diabetes Mellitus, 2 Volume Set*. John Wiley & Sons, 2015.
130. Dickens F., Whelan W.J., Randle P.J., editors. *Carbohydrate Metabolism: And Its Disorders*. Elsevier, 2014. 392 pp.
131. Dinneen S., Gerich J., Rizza R. Carbohydrate metabolism in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *New England Journal of Medicine*. 1992. V. 327, № 10. P. 707-713.
132. Djurhuus M.S., Skøtt P., Hother-Nielsen O., Klitgaard N.A., Beck-Nielsen H. Insulin increases renal magnesium excretion: a possible cause of magnesium depletion in hyperinsulinaemic states. *Diabetic medicine*. 1995. V. 12, № 8. P. 664-669.
133. Etuk E. U. “Animals models for studying diabetes mellitus. *Agric Biol JN Am*. 2010. V. 1, № 2. P. 130-134.
134. Evans G.O. *Animal clinical chemistry: a practical handbook for toxicologists and biomedical researchers*. CRC Press, 2009. 368 pp.
135. Evans J.L., Goldfine I.D., Maddux B.A., Grodsky G.M. Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes. *Endocrine reviews*. 2002. V. 23, № 5. P. 599-622.
136. Evans J.L., Goldfine I.D., Maddux B.A., Grodsky G.M. Are oxidative stress-activated signaling pathways mediators of insulin resistance and β -cell dysfunction?. *Diabetes*. 2003. V. 52, № 1. P. 1-8.
137. Feng W. The transport of chromium (III) in the body: Implications for function. *The nutritional biochemistry of chromium (III)*. 2007. P. 121-138.
138. Ferreira A., Rivera A., Romero J.R. $\text{Na}^+/\text{Mg}^{2+}$ exchange is functionally coupled to the insulin receptor. *Journal of cellular physiology*. 2004. V. 199, № 3. P. 434-440.
139. Fisher A. B., Zhang Q. Â. Â., Geoffrey J. L., Steven, D.S. *Nadph and nadph oxidase*. *Encyclopedia of Respiratory Medicine*., Oxford, Academic Press, 2006.

140. Flink E.B. Nutritional aspects of magnesium metabolism. *Western Journal of Medicine*. 1980. V. 133, № 4. P. 304.
141. Folch J., Ascoli I., Lees M., Meath J.A., LeBaron F.N. Preparation of lipid extracts from brain tissue. *J. biol. Chem.* 1951. V. 191, № 2. P. 833-841.
142. Forbes J.M., Cooper M.E. Mechanisms of diabetic complications. *Physiological reviews*. 2013. V. 93, № 1. P. 137-188.
143. Forbes J.M., Coughlan M.T., Cooper M.E. Oxidative stress as a major culprit in kidney disease in diabetes. *Diabetes*. 2008. V. 57, № 6. P. 1446-1454.
144. Gehrman W., Elsner M., Lenzen S. Role of metabolically generated reactive oxygen species for lipotoxicity in pancreatic β -cells. *Diabetes, Obesity and Metabolism*. 2010. V. 12, № s2. P. 149-158.
145. Iskra R., Shatynska O. Some aspects of carbohydrate metabolism in the blood of rats with experimental diabetes and under complex action of magnesium and chromium citrates: pepper presented at the CEECHE Environmental and health issue in fast changing economies (Krakow, June 10-14, 2018). Krakow: CEECHE, 2018. P. P-11.
146. Georg P., Ludvik B. Lipids and diabetes. *Journal of clinical and basic cardiology*. 2000. V. 3, № 3. P. 159-162.
147. Gerald P., King G.L. Activation of protein kinase C isoforms and its impact on diabetic complications. *Circulation research*. 2010. V. 106, № 8. P. 1319-1331.
148. Gerald P., Hiraoka-Yamamoto J., Matsumoto M., Clermont A., et al. Activation of PKC- δ and SHP-1 by hyperglycemia causes vascular cell apoptosis and diabetic retinopathy. *Nature medicine*. 2009. V. 15, № 11. P. 1298.
149. Giacco F., Brownlee M. Oxidative stress and diabetic complications. *Circulation research*. 2010. V. 107, № 9. P. 1058-1070.
150. Giacco F., Brownlee M. Mechanisms of hyperglycemic damage in diabetes. In *Atlas of Diabetes*. Springer, Boston, MA., 2012. 217-231 pp.
151. Ginter E., Simko V. Type 2 diabetes mellitus, pandemic in 21st century. In *Diabetes*. Springer, New York, NY., 2013. 42-50 pp.

152. Goldin A., Beckman J.A., Schmidt A.M., Creager M.A. Advanced glycation end products: sparking the development of diabetic vascular injury. *Circulation*. 2006. V. 114, № 6. P. 597-605.
153. Goodman M.N., Berger M., Ruderman N.B. Glucose metabolism in rat skeletal muscle at rest: effect of starvation, diabetes, ketone bodies and free fatty acids. *Diabetes*. 1974. V. 23, № 11. P. 881-888.
154. Guerrero-Romero, F., H. E. Tamez-Perez, G. eal González-González, A. M. Salinas-Martinez, J. Montes-Villarreal, J. H. Trevino-Ortiz, and M. Rodriguez-Moran. "Oral magnesium supplementation improves insulin sensitivity in non-diabetic subjects with insulin resistance. A double-blind placebo-controlled randomized trial." *Diabetes & metabolism* 30, № 3 (2004): 253-258.
155. Guerrero-Romero F., Rodríguez-Morán M. Complementary therapies for diabetes: the case for chromium, magnesium, and antioxidants. *Archives of medical research*. 2005. V. 36, № 3. P. 250-257.
156. Hans C.P., Chaudhary D.P., Bansal D.D. Effect of magnesium supplementation on oxidative stress in alloxanic diabetic rats. *Magnesium research*. 2003. V. 16, № 1. P. 13-19.
157. Hata A., Doi Y., Ninomiya T., Mukai N., Hirakawa Y., Hata J., Ozawa M., Uchida K., Shirota T., Kitazono T., Kiyohara Y. Magnesium intake decreases Type 2 diabetes risk through the improvement of insulin resistance and inflammation: the Hisayama Study. *Diabetic Medicine*. 2013. V. 30, № 12. P. 1487-1494.
158. Hayden M.R., Tyagi S.C. Intimal redox stress: Accelerated atherosclerosis in metabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus. *Atheroscleropathy. Cardiovascular Diabetology*. 2002. V. 1, № 1. P. 1-27.
159. Hua Y., Clark S., Ren J., Sreejayan N. Molecular mechanisms of chromium in alleviating insulin resistance. *The Journal of nutritional biochemistry*. 2012. V. 23, № 4. P. 313-319.
160. Jeejeebhoy K.N. The role of chromium in nutrition and therapeutics and as a potential toxin. *Nutrition reviews*. 1999. V. 57, № 11. P. 329-335.

161. Johansen J. S., Harris A. K., Rychly D. J., Ergul A. Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: linking basic science to clinical practice. *Cardiovascular diabetology*. 2005. V. 4, № 1. P. 1-11.
162. Jouyban A. *Handbook of solubility data for pharmaceuticals*. CRC Press, 2009. 552 pp.
163. Kaur B., Henry J. Micronutrient status in type 2 diabetes: a review. In *Advances in food and nutrition research*, Academic Press. 2014. V. 71. P. 55-100.
164. Kazi T. G., Afridi H. I., Kazi N., Jamali M. K., Arain M. B., Jalbani N., Kandhro G. Copper, chromium, manganese, iron, nickel, and zinc levels in biological samples of diabetes mellitus patients. *Biological Trace Element Research*. 2008. V. 122, № 1. P. 1-18.
165. Khamaisi M., Wexler I. D., Skrha J., Strojek K., Raz I., Milicevic Z. Cardiovascular disease in type 2 diabetics: epidemiology, risk factors and therapeutic modalities. *The Israel Medical Association journal: IMAJ*. 2003. V. 5, № 11. P. 801-806.
166. Kharroubi A. T., Darwish H. M. Diabetes mellitus: The epidemic of the century. *World journal of diabetes*. 2015. V. 6, № 6. P. 850-867.
167. Lai M. H. Antioxidant effects and insulin resistance improvement of chromium combined with vitamin C and E supplementation for type 2 diabetes mellitus. *Journal of clinical biochemistry and nutrition*. 2008. V. 43, № 3. P. 191-198.
168. Larsson S. C., Wolk A. Magnesium intake and risk of type 2 diabetes: a meta-analysis. *Journal of internal medicine*. 2007. V. 262, № 2. P. 208-214.
169. Lazo-de-la-Vega M. L., Fernández-Mejía C. Oxidative stress in diabetes mellitus and the role of vitamins with antioxidant actions. In *Oxidative Stress and Chronic Degenerative Diseases-A Role for Antioxidants*. InTech, 2013. P. 209-232.
170. Lee A. Y., Chung S. S. Contributions of polyol pathway to oxidative stress in diabetic cataract. *The FASEB Journal*. 1999. V. 13, № 1. P. 23-30.
171. Li C., Hsieh M. C., Chang S. J. Metabolic syndrome, diabetes, and hyperuricemia. *Current opinion in rheumatology*. 2013. V. 25, № 2. P. 210-216.
172. Lobo V., Patil A., Phatak A., Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy reviews*. 2010. V. 4, № 8. P. 118.

173. Lucchesi A. N., Freitas N. T., Cassettari L. L., Marques S. F., Spadella C. T. Diabetes mellitus triggers oxidative stress in the liver of alloxan-treated rats: a mechanism for diabetic chronic liver disease. *Acta Cirurgica Brasileira*. 2013. V. 28, № 7. P. 502-508.
174. Maiese K., Daniela Morhan S., Zhong Chong Z. Oxidative stress biology and cell injury during type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Current neurovascular research*. 2007. V. 4, № 1. P. 63-71.
175. Maritim A. C., Sanders A., Watkins Iii J. B. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. *Journal of biochemical and molecular toxicology*. 2003. V. 17, № 1. P. 24-38.
176. McNamara J. P., Valdez F. Adipose tissue metabolism and production responses to calcium propionate and chromium propionate. *Journal of Dairy Science*. 2005. V. 88, № 7. P. 2498-2507.
177. Mirsky N., Berdicevsky I. Effects of insulin and glucose tolerance factor on glucose uptake by yeast cells. *Neurosignals*. 1994. V. 3, № 6. P. 271-277.
178. Mirsky N. Glucose tolerance factor–insulin mimetic and potentiating agent—a source for a novel anti diabetic medication. In *Glucose Tolerance*. InTech, 2012. P.165-188.
179. Mohammadi-Karakani A., Asgharzadeh-Haghighi S., Ghazi-Khansari M., Hosseini R. Determination of urinary enzymes as a marker of early renal damage in diabetic patients. *Journal of clinical laboratory analysis*. 2007. V. 21, № 6. P. 413-417.
180. Morhan D. S., Chong Q., Maiese K. C. Oxidative stress and diabetes. Department of Newology, 8e-1 UHC, Wayne State University School of Medicine. 2006. 4201 pp.
181. Morris B. W., MacNeil S., Hardisty C. A., Heller S., et al. Chromium homeostasis in patients with type II (NIDDM) diabetes. *Journal of trace elements in medicine and biology*. 1999. V. 13, № 1-2. P. 57-61.
182. Moussa S. A. Oxidative stress in diabetes mellitus. *Romanian J biophys*. 2008. V. 18, № 3. P. 225-236.
183. Nadler J. L. Diabetes and Magnesium: The Emerging Role of Oral Magnesium Supplementation. *Clinical, Research, and Laboratory News for Cardiologists*. 2000.

184. Nadler J. L., Buchanan T., Natarajan R., Antonipillai I., Bergman R., Rude R. Magnesium deficiency produces insulin resistance and increased thromboxane synthesis. *Hypertension*. 1993. V. 21, № 6 Pt 2. P. 1024-1029.
185. Nagai R., Nagai M., Shimasaki S., Baynes J.W., Fujiwara Y. Citric acid inhibits development of cataracts, proteinuria and ketosis in streptozotocin (type 1) diabetic rats. *Biochemical and biophysical research communications*. 2010. V. 393, №1. P. 118-122.
186. Noble J. A., Martin A., Valdes A. M., Lane J.A., et al. Type 1 diabetes risk for human leukocyte antigen (HLA)-DR3 haplotypes depends on genotypic context: association of DPB1 and HLA class I loci among DR3-and DR4-matched Italian patients and controls. *Human immunology*. 2008. V. 69, № 4-5. P. 291-300.
187. O'Connell B. S. Select vitamins and minerals in the management of diabetes. *Diabetes Spectrum*. 2001. V.14, № 3. P. 133-148.
188. Ozougwu J.C., Obimba K.C., Belonwu C.D., Unakalamba C.B. The pathogenesis and pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Journal of Physiology and Pathophysiology*. 2013. V. 4, № 4. P. 46-57.
189. Palmer B. F., Clegg D. J. Electrolyte and acid–base disturbances in patients with diabetes mellitus. *New England Journal of Medicine*. 2015. V. 373, № 6. P. 548-559.
190. Peiró C., Romacho T., Azcutia V., Villalobos L., et al. Inflammation, glucose, and vascular cell damage: the role of the pentose phosphate pathway. *Cardiovascular diabetology*. 2016. V. 15, № 1. P. 82.
191. Pereira C., Vijayan M. M., Storey K. B., Jones R. A., Moon T. W. Role of glucose and insulin in regulating glycogen synthase and phosphorylase activities in rainbow trout hepatocytes. *Journal of Comparative Physiology B*. 1995. V. 165, № 1. P. 62-70.
192. Perry R. J., Samuel V. T., Petersen K. F., Shulman G. I. The role of hepatic lipids in hepatic insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature*. 2014. V. 510, № 7503. P. 84.
193. Prentki M., Tornheim K., Corkey B. E. Signal transduction mechanisms in nutrient-induced insulin secretion. *Diabetologia*. 1997. V. 40, № 2. P. S32-S41.
194. Ramadass S., Basu S., Srinivasan A. R. Serum magnesium levels as an indicator of status of diabetes mellitus type 2. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*. 2015. V. 9, № 1. P. 42-45.

195. Rasmussen H. S., Aurup P., Goldstein K., McNair P., Mortensen P. B., Larsen O., Lawaetz H. Influence of magnesium substitution therapy on blood lipid composition in patients with ischemic heart disease: a double-blind, placebo controlled study. *Archives of internal medicine*. 1989. V. 149, № 5. P. 1050-1053.
196. Rodriguez-Moran M. A., Guerrero-Romero F. Oral magnesium supplementation improves insulin sensitivity and metabolic control in type 2 diabetic subjects: a randomized double-blind controlled trial. *Diabetes care*. 2003. V. 26, № 4 P. 1147-1152.
197. Ruhl C. E., Everhart J. E. Association of diabetes, serum insulin, and c-peptide with gallbladder disease. *Hepatology*. 2000. V. 31, № 2. P. 299-303.
198. Sahin K., Sahin N., Kucuk O. Effects of chromium, and ascorbic acid supplementation on growth, carcass traits, serum metabolites, and antioxidant status of broiler chickens reared at a high ambient temperature (32 C). *Nutrition Research*. 2003. V. 23, № 2. P. 225-238.
199. Sales C. H., Pedrosa L. D. Magnesium and diabetes mellitus: their relation. *Clinical Nutrition*. 2006. V. 25, № 4. P. 554-562.
200. Sankaran M., Jayakumar P., Gomathy T. Modulation of antioxidant status, carbohydrate and lipid metabolism by melatonin on streptozotocin induced diabetic rats. *Journal of Biochemical Technology*. 2012. V. 4, № 1. P. 524-530.
201. Sárközy M., Fekete V., Szűcs G., Török S., et al. Anti-diabetic effect of a preparation of vitamins, minerals and trace elements in diabetic rats: a gender difference. *BMC endocrine disorders*. 2014. V. 14, № 1. P. 72.
202. Schwartz M. W., Seeley R. J., Tschöp M. H., Woods S. C., Morton G., Myers M., D'aleccio D. Cooperation between brain and islet in glucose homeostasis and diabetes. *Nature*. 2013. V. 503, № 7474. P. 59.
203. Scivittaro V., Ganz M. B., Weiss M. F. AGEs induce oxidative stress and activate protein kinase C- β II in neonatal mesangial cells. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. 2000. V. 278, № 4. P. F676-F683.
204. Sevela M., Tovarek J. Method for the estimation of lactic dehydrogenase. *Casopis lekaru ceskych*. 1959. V. 98, № 27. P. 844.

205. Shatynska O. A., Iskra R. Ya., Svarchevska O. Z. The complex effects of the magnesium and chromium citrates on the carbohydrate metabolism in blood of rats with experimental diabetes mellitus. *The animal biology*. 2017. V. 19, № 3. P. 122–127.
206. Silva-Sousa Y. T., Peres L. C., Foss M. C. Enamel hypoplasia in a litter of rats with alloxan-induced diabetes mellitus. *Brazilian dental journal*. 2003. V. 14, № 2. P. 87-93.
207. Sivitz W. I., Yorek M. A. Mitochondrial dysfunction in diabetes: from molecular mechanisms to functional significance and therapeutic opportunities. *Antioxidants & redox signaling*. 2010. V. 12, № 4. P. 537-577.
208. Song Y., Ridker P. M., Manson J. E., Cook N. R., Buring J. E., Liu S. Magnesium intake, C-reactive protein, and the prevalence of metabolic syndrome in middle-aged and older US women. *Diabetes care*. 2005. V. 28, № 6. P. 1438-1444.
209. Stern S. E., Williams K., Ferrannini E., DeFronzo R. A., Bogardus C., Stern M. P. Identification of individuals with insulin resistance using routine clinical measurements. *Diabetes*. 2005. V. 54, № 2. P. 333-339.
210. Stocker R., Keaney Jr. J. F. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. *Physiological reviews*. 2004. V. 84, № 4. P. 1381-1478.
211. Suarez A., Pulido N., Casla A., Casanova B., Arrieta F. J., Rovira A. Impaired tyrosine-kinase activity of muscle insulin receptors from hypomagnesaemic rats. *Diabetologia*. 1995. V. 38, № 11. P. 1262-1270.
212. Surani S. R., Ratnani I., Guntupalli B., Bopparaju S. Severe insulin resistance treatment with intravenous chromium in septic shock patient. *World journal of diabetes*. 2012. V. 3, № 9. P. 170.
213. Szentmihályi K., Szilágyi M., Balla J., Ujhelyi L., Blázovics A. In vitro antioxidant activities of magnesium compounds used in food industry. *Acta alimentaria*. 2014. V. 43, № 3. P. 419-425.
214. Ta S. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*. 2014. V. 37. P. 81.
215. Takatera K., Miyake Y., Hiramitsu M., Inoue T., Katagiri T. Effects of Citric Acid and Lemon Juice on Iron Absorption and Improvement of Anemia in Iron-Deficient Rats. *Food Science and Technology Research*. 2012. V. 18, №1. P. 127-130.

216. Takaya J., Higashino H., Kobayashi Y. Intracellular magnesium and insulin resistance. *Magnesium research*. 2004. V. 17, № 2. P. 126-136.
217. Tiwari B.K., Pandey K.B., Abidi A.B., Rizvi S.I. Markers of oxidative stress during diabetes mellitus. *Journal of biomarkers*. 2013. P. 1-8.
218. Toma L., Stancu C.S., Botez G.M., Sima A.V., Simionescu M. Irreversibly glycated LDL induce oxidative and inflammatory state in human endothelial cells; added effect of high glucose. *Biochemical and biophysical research communications*. 2009. V. 390, № 3. P. 877-882.
219. Tongyai S., Rayssiguier C., Motta E., Gueux P., et al. Mechanism of increased erythrocyte membrane fluidity during magnesium deficiency in weanling rats. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. 1989. V. 257, № 2. P. C270-C276.
220. Tripathy B.B., Chandalia H.B., Das A.K. *RSSDI textbook of diabetes mellitus*. JP Medical Ltd. 2012.
221. Trow L., Lewis J., Greenwood R., Sampson M., Self K., Crews H., Fairweather-Tait S. Lack of effect of dietary chromium supplementation on glucose tolerance, plasma insulin and lipoprotein levels in patients with type 2 diabetes. *International journal for vitamin and nutrition research*. 2000. V. 70, № 1. P. 14-18.
222. Trumbo P., Yates A.A., Schlicker S., Poos M. Dietary reference intakes: vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. *Journal of the American Dietetic Association*. 2001. V. 101, № 3. P. 294-301.
223. Ulmer Verlag Lowry O., Rosebrough N., Farr A., Randall R. Protein measurement with Folin-phenol reagent. *J Biol Chem*. 1951. № 193. P. 265-275.
224. Van Dooren F.E., Nefs G., Schram M.T., Verhey F.R., Denollet J., Pouwer F. Depression and risk of mortality in people with diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. *PloS one*. 2013. V. 8, № 3. P. e57058.
225. Vaxillaire M., Froguel P. Monogenic diabetes in the young, pharmacogenetics and relevance to multifactorial forms of type 2 diabetes. *Endocrine Reviews*. 2008. V. 29, № 3. P. 254-264.

226. Viera M., Davis-McGibony C.M. Isolation and characterization of low-molecular-weight chromium-binding substance (LMWCr) from chicken liver. *The protein journal*. 2008. V. 27, № 6. P. 371-375.
227. Vincent J.B. The bioinorganic chemistry of chromium (III). *Polyhedron*. 2001. № 20. P. 1-26.
228. Vincent J.B. Elucidating a biological role for chromium at a molecular level. *Accounts of chemical research*. 2000. V. 33, № 7. P. 503-510.
229. Vincent J.B. Is the pharmacological mode of action of chromium (III) as a second messenger? *Biological trace element research*. 2015. V. 166, № 1. P. 7-12.
230. Vincent J.B. Mechanisms of chromium action: low-molecular-weight chromium-binding substance. *Journal of the American College of Nutrition*. 1999. V. 18, № 1. P. 6-12.
231. Vincent J.B. Recent advances in the nutritional biochemistry of trivalent chromium. *Proceedings of the Nutrition Society*. 2004. V. 63, № 1. P. 41-47.
232. Vincent J.B., Love S. The binding and transport of alternative metals by transferrin. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*. 2012. V. 1820, № 3. P. 362-378.
233. Vincent John, ed. *The nutritional biochemistry of chromium (III)*. Elsevier, 2011.
234. Wälti M.K., Zimmermann M.B., Spinass G.A., Hurrell R.F. Low plasma magnesium in type 2 diabetes. *Swiss Med Wkly*. 2003. V. 133, № 19-20. P. 289-92.
235. Wang Z., York N.W., Nichols C.G., Remedi M.S. Pancreatic β cell dedifferentiation in diabetes and redifferentiation following insulin therapy. *Cell metabolism*. 2014. V. 19, № 5. P. 872-882.
236. Wilcox G. Insulin and insulin resistance. *Clinical biochemist reviews*. 2005. V. 26, №2. P. 19-39.
237. Wolf F.I., Trapani V. Cell (patho) physiology of magnesium. *Clinical science*. 2008. V. 114, № 1. P. 27-35.
238. Wright E., Hughes R.E. Some effects of dietary citric acid in small animals. *Food and cosmetics toxicology*. 1976. V. 14, № 6. P. 561-564.
239. Yan L.J. Pathogenesis of chronic hyperglycemia: from reductive stress to oxidative stress. *Journal of diabetes research*. 2014. P. 1-11.

240. Yokota K., Kato M., Lister F., Ii H., Hayakawa T., Kikuta T., Kageyama S., Tajima N. Clinical efficacy of magnesium supplementation in patients with type 2 diabetes. *Journal of the American College of Nutrition*. 2004, V. 23, № 5. P. 506S-509S.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Shatynska O. A., Iskra R. Ya., Svarchevska O. Z. The complex effects of the magnesium and chromium citrates on the carbohydrate metabolism in blood of rats with experimental diabetes mellitus. *The Animal Biology*. 2017. Vol. 19, № 3. P. 122–127.

2. Шатинська О. А. Комплексний вплив цитратів магнію і хрому на функціонування глутатіонової системи захисту у печінці щурів із алоксановим цукровим діабетом. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія «Біологія»*. 2017. Вип. 28. С. 5–11.

3. Шатинська О. А., Іскра Р. Я., Сварчевська О. З. Активність ензимів вуглеводного обміну у м'язовій тканині щурів з експериментальним цукровим діабетом за комплексної дії цитратів магнію і хрому. *Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи)*. 2017. Т. 9, Вип. 1. С. 23–27.

4. Шатинська О. А., Іскра Р. Я. Дія цитрату магнію на про/антиоксидантний статус печінки за експериментального цукрового діабету у щурів. *Біологічні студії*. 2016. Т. 10, № 2. С. 45–52.

5. Шатинська О. Зміни активності ензимів вуглеводного обміну у печінці щурів з експериментально-індукованим діабетом за дії цитратів магнію і хрому. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*. 2016. Вип. 73. С. 235–239.

6. Шатинська О., Іскра Р. Корекція цитратом магнію оксидативного стресу в крові щурів з експериментальним діабетом. *Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Серія Біологія*. 2016. Вип. 71, № 1. С. 81–84.

7. Шатинська О. А. Активність ензимів вуглеводного обміну в тканинах щурів з алоксан-індукованим цукровим діабетом за додавання магній цитрату. *Вісник Запорізького національного університету. Біологічні науки*. 2016. №2. С. 96–101.

8. Шатинська О., Іскра Р., Пилипець А., Сварчевська О. Вплив магній цитрату на вміст ліпідів у плазмі крові щурів за умов експериментального цукрового діабету. *Науковий вісник Східноєвропейського національного університету імені Лесі Українки. Біологічні науки*. 2016. №12. С. 115–120.

9. Іскра Р. Я., Слівінська О. М., Шатинська О. А., Сварчевська О. З., Сеньків О. М., Пилипець А. З. Метаболічні процеси у печінці щурів за експериментального діабету та вплив цитрату хрому. Науковий вісник Східноєвропейського національного університету імені Лесі Українки. 2015. №12. С. 161–166.

10. Спосіб профілактики та лікування цукрового діабету за використання цитратів магнію та хрому: пат. 122791 Україна: МПК (2017.01) А61К 35/00, А61К 33/30 (2006.01), А61К 47/00, А61Р 3/10 (2006.01); заявл. 31.07.2017, опубл. 25.01.2018, Бюл. № 2. 5с.

11. Спосіб профілактики цукрового діабету при комплексному використанні цитратів хрому та цинку: пат. 121254 Україна, МПК А61К 33/00, А61Р 3/10 (2006.01); заявл. 26.06.2017, опубл. 27.11.2017, Бюл. № 22. 5с.

12. Шатинська О., Іскра Р. Профілактика ускладнень цукрового діабету при використанні цитрату магнію отриманого за аквананотехнологією: матеріали II Всеукраїнської науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю «Нанотехнології у фармації та медицині» (19–20 квітня, 2018, м. Харків). Харків, 2018. С. 94–95.

13. Шатинська О.А., Іскра Р.Я. Вплив цитрату магнію на вміст магнію у тканинах нирок і печінки щурів з експериментальним цукровим діабетом: матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича «Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій» (12–13 квітня, 2018, м. Харків). Харків: НФаУ, 2018. С. 130.

14. Iskra R., Shatynska O. Some aspects of carbohydrate metabolism in the blood of rats with experimental diabetes and under complex action of magnesium and chromium citrates: paper presented at the CEECHE Environmental and health issue in fast changing economies (Krakow, June 10–14, 2018). Krakow: CEECHE, 2018. P. P-11.

15. Шатинська О. А., Іскра Р. Я., Сварчевська О. З. Сполуки цитратів магнію і хрому як засоби для профілактики цукрового діабету: матеріали XVI Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених «Молоді вчені у вирішенні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини» присвяченої

доктору біологічних наук, професору Головачу Василю Миколайовичу (8–9 грудня, 2017 р., м. Львів). Біологія тварин. 2017. Т. 19, № 4. С. 161.

16. Шатинська О. А. Вплив магнію цитрату на вуглеводний обмін та антиоксидантну систему захисту в підшлунковій залозі щурів з алоксаніндукованим цукровим діабетом: матеріали конференції молодих учених «Актуальні проблеми біохімії та біотехнології – 2016» (26–27 травня, 2016, м. Київ). Ukr. Biochem. J. 2016. Т. 88, № 4. С. 85.

17. Шатинська О. А., Пилипець А. З. Вплив цитратів магнію та хрому на вміст ліпідів у плазмі крові щурів за умов гіперглікемії: матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Актуальні проблеми сучасної біології, тваринництва та ветеринарної медицини» (29–30 вересня, 2016, м. Львів). Львів. 2016. С. 203.

18. Шатинська О. А., Іскра Р. Я. Корекція порушень вуглеводного обміну у м'язовій тканині щурів з експериментальним цукровим діабетом за комплексної дії цитратів магнію і хрому: матеріали XV Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених «Молоді вчені у вирішенні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини» (8–9 грудня 2016 р., м. Львів). Біологія тварин 2016. Т. 18, № 4. С. 203.

19. Слівінська О. М., Шатинська О. А., Іскра Р. Я. Оксидативно-нітративний стрес у щурів з експериментально-індукованим діабетом та його корекція цитратом хрому: матеріали конференції-конкурсу молодих учених «Актуальні проблеми біохімії та біотехнології – 2015» (23–24 квітня, 2015, м. Київ). Київ. 2015. С. 59.

20. Шатинська О. А., Іскра Р. Я., Слівінська О. М. Вплив цитрату магнію на прооксидантно-антиоксидантну систему крові щурів з експериментальним діабетом: матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Актуальні проблеми сучасної біології, тваринництва та ветеринарної медицини», присвяченої 55-річчю Інституту біології тварин НААН (2–3 жовтня, 2015, м. Львів). Біологія тварин. 2015. Т.17, № 3. С. 219.

21. Шатинська О. А., Іскра Р. Я. Дія цитрату магнію на метаболічні процеси в клітинах м'язової тканини щурів з експериментальним діабетом: матеріали XIV Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених «Молоді вчені у

вирішенні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини”, присвяченої 100-річчю від дня народження доктора біологічних наук, професора Скородинського Зеновія Павловича (3–4 грудня, 2015, м. Львів). Біологія тварин. 2015, Т. 17, № 4. С. 212.

22. Іскра Р. Я., Слівінська О. М., Шатинська О. А. та інші. Живлення тварин та фізіологі-біохімічні процеси в організмі за дії цитратів мікроелементів: методичні рекомендації. Львів. 2016. С. 27.