

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ  
ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН

**СЛІВІНСЬКА ОКСАНА МИКОЛАЇВНА**

УДК 615.252.349.7:546.47:546.76

**ВУГЛЕВОДНИЙ ОБМІН І АНТИОКСИДАНТНА СИСТЕМА  
В ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ  
ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ ЦИТРАТАМИ ХРОМУ І ЦИНКУ**

**03.00.04 – біохімія**

Автореферат  
дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата біологічних наук

Львів – 2020

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Інституті біології тварин НААН.

**Науковий керівник –**

доктор біологічних наук,  
старший науковий співробітник  
**Іскра Руслана Ярославівна,**  
Інститут біології тварин НААН,  
завідувач лабораторії біохімії адаптації  
та онтогенезу тварин.

**Офіційні опоненти:**

доктор біологічних наук, професор  
**Кліщ Іван Миколайович,**  
ДВНЗ «Тернопільський державний  
медичний університет імені  
І. Я. Горбачевського МОЗ України»,  
проректор з наукової роботи,  
професор кафедри клініко-лабораторної  
діагностики;

доктор біологічних наук, професор  
**Ушакова Галина Олександрівна,**  
Дніпровський національний  
університет імені Олеся Гончара,  
завідувач кафедри біохімії та фізіології.

Захист відбудеться «15» грудня 2020 р. о «14<sup>00</sup>» годині на засіданні спеціалізованої вченої ради К 35.368.01 в Інституті біології тварин НААН за адресою: 79034, м. Львів, вул. В. Стуса, 38.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Інституту біології тварин НААН за адресою: 79034, м. Львів, вул. В. Стуса, 38.

Автореферат розісланий «13» листопада 2020 р.

**Вчений секретар  
спеціалізованої вченої ради**



**Д. І. Мудрак**

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Цукровий діабет (ЦД) – метаболічне захворювання, що характеризується хронічною гіперглікемією, яка виникає внаслідок дефекту секреції або дії інсуліну (WHO, 2014). Це захворювання, крім гіперглікемії, характеризується зміною вуглеводного, ліпідного і протеїнового обмінів, що впливає на здоров'я і тривалість життя (Zhao L. et al., 2017; Vieira R. et al., 2019; Vargas E. et al., 2020). Наукові дослідження підтверджують роль оксидативного стресу в патогенезі діабету 1-го і 2-го типу (Asmat U. et al., 2016). За цукрового діабету основними джерелами оксидативного стресу є мітохондрії. Під час окиснювального метаболізму в мітохондріях частина кисню відновлюється до води, а решта – перетворюється на вільний радикал ( $O\bullet$ ), що є важливою активною формою Оксигену, яка перетворюється на інші реактивні форми, такі як  $ONOO^-$ ,  $OH$  та  $H_2O_2$  (Sifuentes-Franco S., 2017).

Сигналізація інсуліну модулюється активними формами Оксигену (АФО) і Нітрогену (АФН) двома способами. З одного боку, у відповідь на інсулін АФО/АФН синтезуються для здійснення його фізіологічної функції, а з іншого – АФО і АФН здійснюють негативну регуляцію щодо інсулінової сигналізації, з метою розвитку резистентності до інсуліну, що є фактором ризику для діабету 2-го типу.

Вважається, що у виникненні та прогресуванні ускладнень діабету вільні радикали отримали головну роль завдяки своїй здатності ушкоджувати ліпіди, протеїни та ДНК (Auerola O. et al., 2014). Зростання вмісту АФО за умов гіперглікемії, а також здатність взаємодіяти з  $NO$ , утворюючи цитотоксичний пероксинітрит, призводить до множинних патологічних змін у функціонуванні сигнальних і метаболічних шляхів, до порушень гомеостазу клітин і органів за умов цукрового діабету. Гіперглікемія, що розвивається за ЦД, за участі АФО провокує функціонування патологічних метаболічних шляхів: поліолового шляху утилізації глюкози; збільшеного утворення кінцевих продуктів посиленого глікозилювання; гексозамінового патологічного шляху.

Тому виявлення ранніх порушень вуглеводного обміну й стану про/антиоксидантної системи в організмі та здійснення профілактичних прийомів має важливе медичне й соціальне значення.

У багатьох дослідженнях спостерігався прямий зв'язок між метаболізмом деяких макро- і мікроелементів та перебігом ЦД. З'ясовано, що окремі елементи можуть відігравати певну роль у патогенезі та прогресуванні цього захворювання (Siddiqui K. et al., 2014; Nourmohammadi I. et al., 2000). Зокрема, Цинк необхідний для зберігання інсуліну в  $\beta$ -клітинах підшлункової залози та зв'язування гормону з клітинами, хоча високі його концентрації можуть призвести до зниження секреції інсуліну (Watts D., 1999). Цинк потрібен як кофактор для функції внутрішньоклітинних ензимів, які можуть брати участь у обміні протеїнів, ліпідів і глюкози.

Хром необхідний для нормального обміну вуглеводів, є кофактором для дії інсуліну та компонентом фактора толерантності до глюкози (GTF), який відіграє важливу роль у гомеостазі глюкози (Mertz W., 1993).

Цинк і Хром - важливі регулятори процесів пероксидного окиснення ліпідів і активності антиоксидантної системи в організмі. Відомо, що Хром за певних умов може як ініціювати пероксидні процеси, так і підвищувати активність АОС (Vincent J., 2007). Цинк є структурною частиною ключового антиоксидантного ензиму, такого як супероксиддисмутаза, а дефіцит елемента погіршує його синтез, що призводить до посилення оксидативного стресу (Kelly F., 1998).

Зважаючи на прогнозований ріст захворюваності на цукровий діабет та високу поширеність і смертність від ускладнень, дефіцит Хрому і Цинку розглядається як потенційний фактор ризику розвитку цих станів (Siddiqui K. et al., 2014). Тому висловлюються припущення про можливу протекторну роль Цинку і Хрому через їх залучення до регуляції вуглеводного обміну й стану про/антиоксидантної системи, які зазнають суттєвих змін за патологічних станів організму, що може відігравати важливу роль у профілактиці та лікуванні цукрового діабету і його ускладнень.

**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 завданнями «З'ясувати дію цитрату хрому та цитрату цинку на метаболічні процеси в організмі щурів за експериментально індукованого діабету» (Ф. ДР № 0111U006159) та «З'ясувати комплексну дію цитратів цинку і хрому на систему антиоксидантного захисту та показники вуглеводного обміну в організмі щурів за умов гіперглікемії» (Ф. ДР № 0116U001407). Здобувачка, як одна із співвиконавців завдань, досліджувала зміни метаболічних процесів в організмі щурів за умов експериментального діабету і впливу цитратів цинку та хрому.

**Мета і завдання дослідження.** *Мета роботи* – з'ясувати біохімічні особливості впливу цитратів хрому і цинку, синтезованих методом нанотехнології, на вуглеводний обмін, стан про/антиоксидантної системи та NO-синтазну активність в організмі щурів із стрептозотоцин індукованим діабетом для розробки нових підходів у корекції їх порушень.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити наступні *завдання*:

1. Дослідити окремий та сумісний вплив цитрату хрому та цитрату цинку на вміст метаболітів і активність ензимів вуглеводного обміну в організмі щурів із стрептозотоцин індукованим діабетом.

2. Дослідити окремий та сумісний вплив цитрату хрому та цитрату цинку на вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів та активність ензимів антиоксидантної системи в організмі щурів із стрептозотоцин індукованим діабетом.

3. Дослідити окремий та сумісний вплив цитрату хрому та цитрату цинку на NO-синтазну активність в організмі щурів із стрептозотоцин індукованим діабетом.

4. Вивчити вплив цитрату хрому та цитрату цинку в різних дозах на вміст Хрому і Цинку у тканинах щурів із стрептозотоцин індукованим діабетом.

5. З'ясувати сумісний вплив цитрату хрому і цитрату цинку на вміст інсуліну та С-пептиду в крові щурів з експериментально індукованим діабетом.

*Об'єкт дослідження* – біохімічні процеси в крові та тканинах щурів за стрептозотоцин індукованого цукрового діабету та впливу цитратів хрому і цинку в різних дозах.

*Предмет дослідження* – вуглеводний обмін, про/антиоксидантна система та NO-синтазна активність у крові і тканинах щурів за умов експериментального цукрового діабету та впливу цитратів хрому і цинку в різних дозах.

*Методи дослідження*: біохімічні (визначення концентрації глюкози, рівня глікозильованого та загального гемоглобіну, гідропероксидів ліпідів, ТБК-активних продуктів, активності ензимів вуглеводного обміну, антиоксидантної та NO-синтазної систем), атомно-абсорбційні (визначення вмісту Хрому і Цинку), імуноензимні (визначення концентрації інсуліну і С-пептиду) та статистичні (середнє арифметичне та його похибка, вірогідність) методи.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Результати наукових досліджень формують нові наукові уявлення щодо дії цитратів хрому і цинку, синтезованих методом нанотехнології, на перебіг біохімічних процесів у організмі тварин за експериментального діабету. Вперше здійснено дослідження сумісного впливу цитратів мікроелементів на функціонування вуглеводного та мінерального обміну, стану про/антиоксидантної та NO-синтазної систем в організмі щурів із стрептозотоцин індукованим діабетом. З'ясовано оптимальні дози цитратів хрому і цинку щодо нормалізації основних показників обмінних процесів у організмі тварин з експериментальним діабетом. Доведено, що досліджувані сполуки, синтезовані методом нанотехнології, можуть виявляти гіпоглікемічний ефект, пригнічувати анаеробний гліколіз, підвищувати концентрацію інсуліну і С-пептиду за цукрового діабету. З'ясовано, що застосування цитратів хрому і цинку призводить до зниження індуцибельної NO-синтазної активності та вмісту продуктів пероксидного окиснення ліпідів в організмі тварин із стрептозотоциновим діабетом, що призводить до пригнічення розвитку оксидативно-нітрозативного стресу. Встановлені виражені антиоксидантні властивості досліджуваних сполук, що підтверджується нормалізацією активності антиоксидантних ензимів у крові та тканинах щурів за цукрового діабету.

**Практичне значення одержаних результатів.** Результати досліджень можуть використовуватися для теоретичного обґрунтування сумісного застосування сполук хрому і цинку для корекції метаболічних процесів у організмі тварин з експериментально індукованим діабетом. Результати роботи можуть стати основою для розробки нових гіпоглікемічних засобів профілактики й лікування цукрового діабету і його ускладнень. Отримані результати дисертаційних досліджень використані при підготовці та написанні двох методичних рекомендацій «Живлення тварин та фізіолого-біохімічні процеси в організмі за дії цитратів мікроелементів» і «Застосування цитратів мінеральних елементів у біології та медицині». Практичним результатом роботи стало розроблення способів сумісного застосування цитратів мікроелементів для профілактики та лікування цукрового діабету, на які отримано два патенти України на корисну модель.

Одержані в дисертаційній роботі результати впроваджені у навчальний процес на кафедрах біологічної хімії та патологічної фізіології Львівського національного

медичного університету імені Данила Галицького та на кафедрі лабораторної медицини Львівської медичної академії імені Андрея Крупинського.

**Особистий внесок здобувача.** Авторка особисто опрацювала літературу за темою дисертаційної роботи, виконала експериментальну частину роботи (на базі Інституту біології тварин НААН), провела аналіз отриманих результатів, їх обговорення і статистичне опрацювання, оформила й написала дисертаційну роботу. Дисертантка спільно з науковим керівником – д.б.н. Р. Я. Іскрою обґрунтувала концепцію дослідження, сформулювала основні положення, мету і завдання, які виносяться на захист дисертаційної роботи, розробила методичні підходи та сформулювала висновки. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, використано фактичний матеріал досліджень авторки.

**Апробація результатів досліджень.** Основні результати дисертаційної роботи були представлені на міжнародній науково-практичній конференції «Актуальні проблеми сучасної біології, тваринництва та ветеринарної медицини» (Львів, 2014, 2015); науково-практичній конференції молодих учених «Молоді вчені у вирішенні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини» (Львів, 2014, 2018); IV міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні досягнення фармацевтичної технології» (Харків, 2014); міжнародній науковій конференції «Механізми функціонування фізіологічних систем» (Львів, 2014); конференції-конкурсі молодих учених «Актуальні проблеми біохімії та біотехнології 2015» (Київ, 2015); XI Українському біохімічному конгресі (Київ, 2014); міжнародній науково-практичній конференції «Актуальні проблеми фізіології тварин» (Одеса, 2015); XIV міжнародній науковій конференції студентів, аспірантів та молодих учених «Шевченківська весна: біологія» (Київ, 2015); Joint Annual Meeting of the German Society for Minerals and Trace Elements (GMS) with Zinc-UK and Zinc-Net COST Training School (Аахен, Німеччина, 2017).

**Публікації.** За результатами досліджень опубліковано 23 праці з них 10 статей, з яких 8 опубліковані у фахових виданнях України, що включені до міжнародних наукометричних баз даних, 2 методичні рекомендації, 1 патент на корисну модель, 10 тез доповідей на вітчизняних та міжнародних конференціях.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертація складається із анотації, вступу, огляду літератури, матеріалів та методів досліджень, результатів досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, списку використаних джерел та 5 додатків. Дисертацію викладено на 198 сторінках комп'ютерного тексту (основна частина – 154 сторінки), проілюстровано 11 рисунками та 23 таблицями. Список використаних джерел налічує 385 найменувань, з яких 304 латиницею.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

**Огляд літератури.** Огляд літератури складається з трьох підрозділів, у яких проаналізовані основні відомості про поширеність цукрового діабету, фізіолого-біохімічну характеристику його типів та механізми порушень метаболічних процесів, які виникають за цього захворювання. Висвітлені біохімічні особливості гіпоглікемічної дії Цинку і Хрому та проаналізовано їх фізіологічну роль у регуляції метаболічних процесів за цукрового діабету.

**Матеріали та методи досліджень.** Дослідження за темою дисертаційної роботи проведено впродовж 2014–2019 років відповідно до планів науково-дослідних робіт лабораторії біохімії, адаптації та онтогенезу тварин (акредитація № 021/біол.) Інституту біології тварин НААН. Дослідження проводили на білих лабораторних щурах лінії Вістар масою 150–170 г, яких утримували в умовах віварію за відповідною температурного режиму (20–25 °С), вологості (40–45 %) та освітлення з дотриманням етичних норм проведення експериментів на тваринах згідно з «Загальними принципами роботи на тваринах», затвердженими І Національним конгресом з біоетики (Київ, Україна, 2001) і погодженими з положеннями «Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, яких використовують у експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, Франція, 1985) та протоколом комісії з біоетики Інституту біології тварин (№ 75 від 23.10.2018 р.). Усі тварини мали вільний доступ до комбікорму (з розрахунку добової потреби) та води (з розрахунку 20 мл води на одного щура на добу). Кількість спожитого стандартного комбікорму для лабораторних тварин визначали за його залишком у годівниці. Контроль за ростом і розвитком тварин проводили за допомогою зважування їх на початку та наприкінці дослідів.

Відповідно до поставлених завдань дисертаційної роботи експериментальна частина включала три серії досліджень. Мета першої і другої серій досліджень полягала у з'ясуванні оптимальних доз цитрату хрому і цитрату цинку, які б проявляли позитивний вплив на досліджувані ланки метаболічних процесів за умов експериментального цукрового діабету (ЦД<sub>Е</sub>). У цих серіях щурів поділили на чотири групи, по 7 тварин у кожній. Зокрема у першій серії були такі групи: I – контрольна, II – ЦД<sub>Е</sub>, III – ЦД<sub>Е</sub>+цитрат хрому в дозі 10 мкг Cr/кг маси тіла; IV – ЦД<sub>Е</sub>+цитрат хрому в дозі 25 мкг Cr/кг маси тіла. У другій серії: I – контрольна, II – ЦД<sub>Е</sub>, III – ЦД<sub>Е</sub>+цитрат цинку в дозі 20 мг Zn /кг маси тіла; IV – ЦД<sub>Е</sub>+цитрат цинку в дозі 50 мг Zn/кг маси тіла. У третій серії досліджень вивчали сумісний вплив оптимальних доз цитратів хрому та цинку, встановлених у першій і другій серіях досліджень, тому були сформовані такі групи: I – контрольна, II – ЦД<sub>Е</sub>, III – ЦД<sub>Е</sub>+цитрат хрому в дозі 25 мкг Cr/кг маси тіла+цитрат цинку в дозі 50 мг Zn/кг маси тіла. Випоювання тваринам розчинів цитратів мікроелементів проводили протягом 40 діб від моменту постановки досліду.

З метою індукції ЦД<sub>Е</sub> тваринам усіх дослідних груп першої, другої і третьої серії досліджень на тлі 24-годинного голодування на 30-ту добу від моменту постановки досліду, одноразово внутрішньоочеревинно вводили розчин стрептозоточину (“Sigma”, США), з розрахунку 65 мг/кг, який розводили цитратним буфером (рН 4,5) з попереднім (за 15 хв) інтраперитонеальним введенням нікотинаміду в дозі 230 мг/кг (Islam S, 2009). Щурам контрольної групи вводили аналогічний об’єм розчинника (цитратний буфер із рН 4,5). Тривалість гіперглікемії становила 10 діб, від моменту введення діабетогенної речовини, що підтверджувалося щодобовим вимірюванням глюкози крові, зібраної з хвостової вени, за допомогою портативного глюкометра (Gamma-M). Для експерименту використовували тварин з концентрацією глюкози від 14 ммоль/л.

Забій тварин проводили на 40-й день, шляхом декапітації за тіопенталового наркозу.

У клітинах крові та тканинах скелетних м'язів, печінки та підшлункової залози визначали: активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г-6-ФДГ, ЕС 1.1.1.49) за методом G. Owen Evans (2009); лактатдегідрогенази (ЛДГ, ЕС 1.1.1.27) за методом M. Sevela et al. (1959); каталази (КАТ, ЕС 1.11.1.6) за методом М. А. Корольок (1988); супероксиддисмутази (СОД, ЕС 1.15.1.1.) за методом С. Чеварі зі співавт. (1983); глутатіонпероксидази (ГП, ЕС 1.11.1.9) за методом В. М. Моїна (1986); глутатіонредуктази (ГР, КФ 1.8.1.7) за методом I. Carlbergetal. (1985). Уміст відновленого глутатіону (ВГ) вимірювали за методом О. Батлера зі співавт. (1982); гідропероксидів ліпідів (ГПЛ) – за методом В. В. Мірончика (1984); ТБК-активних продуктів – за методом Є. Н. Коробейнікової (1989); лактату – за методом М. В. Гончара зі співавт. (2009); пірувату – за методом В. І. Левченка зі співавт. (2002). Визначення окремих ізоформ NO-синтазної активності – за методом Н. О. Сибірної (2006). Рівень інсуліну та С-пептиду досліджували імуноферментним методом з використанням наборів фірми DRG International, Inc. (США). Вміст Цинку та Хрому в тканинах тварин визначали на атомно-абсорбційному спектрофотометрі С-115-ПК.

Статистичну обробку результатів дослідження здійснювали за допомогою програми Microsoft Excel і Statistica. Для оцінки вірогідної різниці між статистичними характеристиками двох альтернативних сукупностей даних обчислювали коефіцієнт Стюдента. Вірогідною вважали різницю при показках вірогідності  $p \geq 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

**Вплив цитрату хрому в дозах 10 і 25 мкг/кг маси тіла на окремі ланки вуглеводного обміну в організмі щурів із стрептозоточин індукованим цукровим діабетом.** У результаті проведених досліджень було встановлено, що у крові тварин II групи з експериментальним діабетом вірогідно зростали концентрація глюкози та вміст глікозильованого гемоглобіну, порівняно з їх рівнем у тварин контрольної групи, відповідно на 91 і 59 % (рис. 1). Оскільки глікозильований гемоглобін унаслідок надзвичайно міцного зв'язку з киснем важко віддає його тканинам, підвищення його вмісту в крові може спричиняти виникнення тканинної гіпоксії, а надалі – розвиток діабетичної ангіопатії, що пов'язано з недостатнім забезпеченням киснем базальних мембран судин.

У крові тварин III групи, яким до раціону додавали цитрат хрому в дозі 10 мкг/кг на тлі ЦД<sub>Е</sub>, рівень глюкози також вірогідно підвищувався на 70 % порівняно з контрольною групою, однак був дещо нижчим стосовно II групи із ЦД<sub>Е</sub>. За впливу цитрату хрому в дозі 25 мкг/кг у крові щурів IV групи вміст глюкози вірогідно знижувався на 59 % стосовно тварин II групи. Подібне зниження спостерігалось також щодо вмісту глікозильованого гемоглобіну у III та IV групі порівняно з II групою. Це може свідчити про те, що Хром, як компонент фактора толерантності до глюкози, покращує транспортування глюкози в клітини.



Уміст загального гемоглобіну вірогідно зростав у крові тварин II групи на 31 % та III групи – на 24 % порівняно з показниками контрольної групи, що може бути зумовлено виходом еритроцитів із депо, у зв'язку із зростаючою необхідністю забезпечення тканин киснем за умов діабету. Однак у тварин IV групи, за впливу цитрату хрому в дозі 25 мкг/кг, рівень загального гемоглобіну знижувався на 16 % стосовно II групи. Це може свідчити про інгібування його синтезу через недостатню кількість Феруму, який конкурує з Хромом за здатність зв'язуватися з трансферином, що за певних умов може супроводжуватися зниженням забезпечення транспорту кисню до тканин.

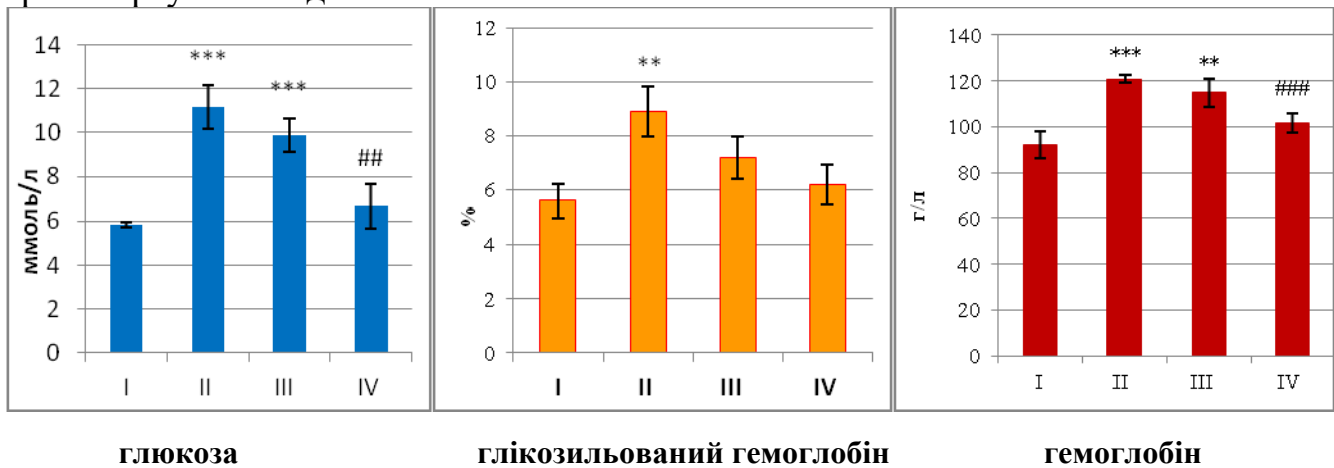


Рис. 1. Вміст глюкози, глікозильованого гемоглобіну та загального гемоглобіну в крові щурів із ЦД<sub>Е</sub> (II група) та за впливу цитрату хрому в дозах 10 мкг/кг (III група) і 25 мкг/кг (IV група;  $M \pm m$ ;  $n=7$ ).

*Примітка.* Тут і надалі: \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$  – вірогідність показників II, III, IV груп порівняно до I групи; # $p < 0,05$ , ## $p < 0,01$ , ### $p < 0,001$  – вірогідність показників III, IV груп порівняно до II групи.

В еритроцитах ефективність перенесення глюкози через їх зовнішні мембрани не залежить від інсуліну. За певних умов глюкоза може надходити в клітини і там метаболізуватися як по шляху гліколізу, так і пентозофосфатному. В еритроцитах тварин II групи із ЦД<sub>Е</sub> спостерігалася тенденція до зростання лактатдегідрогеназної активності, що, може бути зумовлено збільшенням частки мономерів М-типу ізоензимного складу. Це підтверджується зростанням рівня лактату щодо пірувату в крові тварин II групи, порівняно з I групою (рис. 2). Зростання співвідношення лактат/піруват за ЦД<sub>Е</sub> може бути показником недостатнього енергопостачання клітин та ступеня порушення їх метаболізму. Зростання лактату призводить до зсуву рН в кислотний діапазон, що у свою чергу веде до значних порушень обміну речовин, зокрема обмеження активності ензимів (Данилова А.О. зі співавт., 2012). У свою чергу зменшення рівня пірувату, який є попередником ацетил-КоА, в крові тварин із ЦД<sub>Е</sub> викличе зниження загального субстратного потоку в ЦТК.

За впливу цитрату хрому в дозі 10 мкг/кг рівень лактату в еритроцитах тварин III групи вірогідно знижувався на 42 %, а за впливу цитрату хрому в дозі 25 мкг/кг в еритроцитах тварин IV групи рівень пірувату зростав на 48 %, а лактат-дегідрогеназна активність зменшувалася на 16 % порівняно із показниками тварин II

групи із ЦД<sub>Е</sub> (рис. 2), що свідчить про нормалізацію функціонування гліколітичного шляху в крові тварин за дії Хрому.

Про інтенсивність перетворення глюкози у пентозофосфатному шляху (ПФШ) свідчить глюкозо-6-фосфатдегідрогеназна активність. Дослідження показали, що активність цього ензиму вірогідно знижувалася на 29 % в еритроцитах тварин II групи із ЦД<sub>Е</sub> щодо контролю (рис. 2), що свідчить про пригнічення окисного метаболізму глюкози за ЦД<sub>Е</sub> та зумовлює зменшення утворення НАДФН+Н<sup>+</sup>, який в подальшому використовується у різних реакціях відновлювального біосинтезу, а також для підтримки нормальної концентрації відновленого глутатіону. Це може призводити до зниження захисту гемоглобіну та еритроцитів від денатурації і розпаду за дії різних агентів, що володіють окиснювальними властивостями.

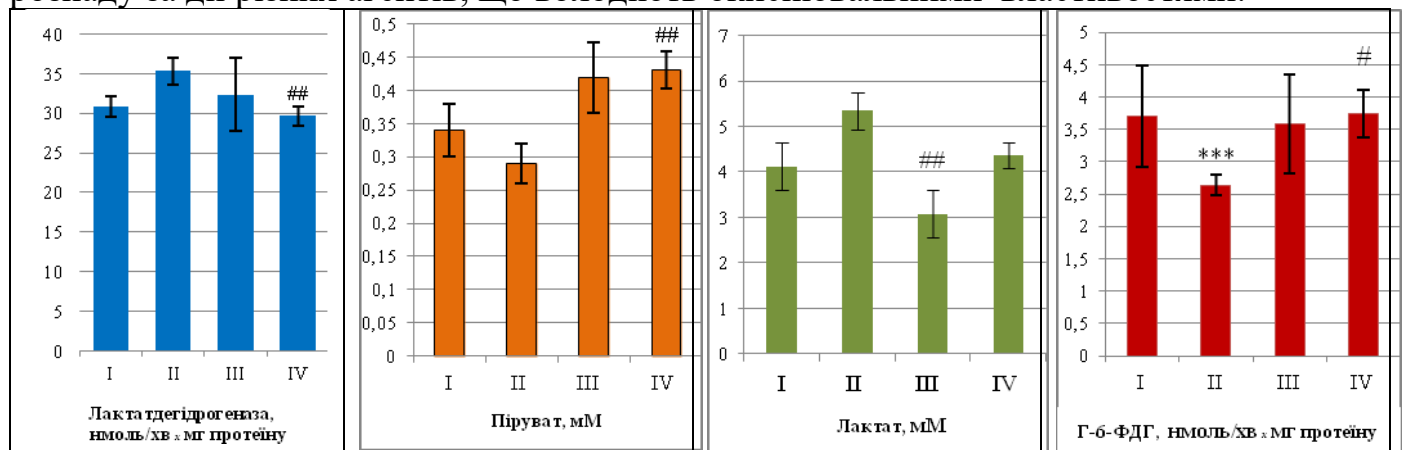


Рис. 2. Лактатдегідрогеназна, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназна активність та вміст лактату і пірувату в еритроцитах крові щурів із ЦД<sub>Е</sub> та за дії цитрату хрому ( $M \pm m$ ;  $n=7$ ).

За впливу цитрату хрому в дозі 25 мкг/кг в еритроцитах тварин IV групи виявлено вірогідне підвищення глюкозо-6-фосфатдегідрогеназної активності на 42 % порівняно з активністю ензиму у тварин II групи, що призводить до інтенсифікації утворення НАДФН+Н<sup>+</sup> у клітинах крові.

**Вплив цитрату цинку в дозах 20 і 50 мг Zn/кг маси тіла на показники вуглеводного обміну в крові та тканинах щурів із експериментальним цукровим діабетом.**

У щурів II групи з ЦД<sub>Е</sub>, на тлі зростання концентрації глюкози та глікозильованого гемоглобіну в крові, вірогідно підвищувалася лактатдегідрогеназна активність в еритроцитах на 29 %, печінці – на 76 %, скелетних м'язях – на 19 % та підшлунковій залозі – на 28 % стосовно активності цього ензиму у тканинах тварин контрольної групи (рис. 3).

За дії цитрату цинку в дозі 20 мг Zn/кг у тварин III групи було відмічено вірогідне зниження ЛДГ-ної активності у тканинах скелетних м'язів на 10 % та незначну тенденцію до зниження у печінці та підшлунковій залозі порівняно з показниками у тварин II групи.

За дії цитрату цинку в дозі 50 мг Zn/кг, на тлі вірогідного зниження концентрації глюкози та відносного вмісту глікозильованого гемоглобіну в крові, спостерігалось зниження ЛДГ-ної активності в еритроцитах на 16 %, тканинах скелетних м'язів – на 11 % та печінки – на 34 % стосовно показників у тварин II

групи. Загалом отримані дані вказують на зворотній зв'язок між вмістом Цинку в раціоні щурів із ЦД<sub>E</sub> та лактатдегідрогеназною активністю.

Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназна активність у досліджуваних тканинах тварин дослідних груп мала різноплановий характер. Встановлено, що Г-6-ФДГ-на активність у тканинах щурів II групи з ЦД<sub>E</sub> вірогідно знижувалася в еритроцитах у 3,4 раза, а також у печінці – на 48 % і скелетних м'язах – на 36 %, однак підвищувалася на 28 % у підшлунковій залозі у порівнянні з показниками активності цього ензиму у тварин контрольної групи. Отже, у тканинах тварин II групи з ЦД<sub>E</sub>, крім підшлункової залози, відбувалося гальмування перетворення глюкози через ПФШ. Компенсаторна інтенсифікація ПФШ у підшлунковій залозі щурів із стрептозотоциновим діабетом ймовірно свідчить про зростаючу необхідність у забезпеченні достатньої кількості НАДФН+Н<sup>+</sup> для синтезу відновленого глутатіону, що необхідний для фізіологічної дезактивації окисних сполук, які руйнують клітини залози, що забезпечує стабільність протеїнів, які входять до мембран, а також збільшенні енергетичних запасів її клітин.

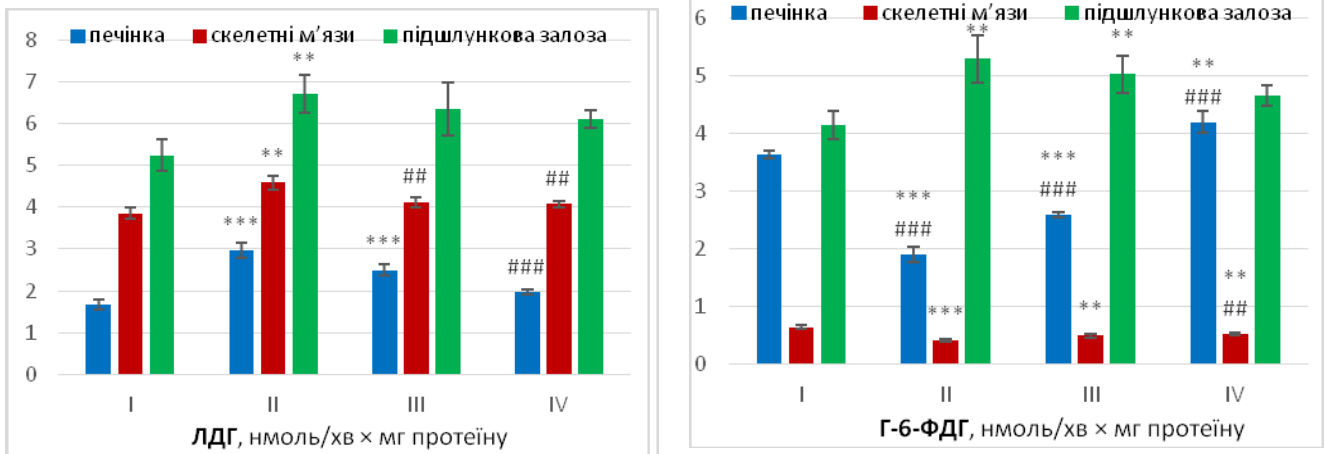


Рис. 3. Активність ензимів вуглеводного обміну у тканинах щурів із ЦД<sub>E</sub> за дії цитрату цинку ( $M \pm m$ ;  $n=7$ ).

За дії цитрату цинку в дозі 20 мг Zn/кг спостерігалось вірогідне підвищення Г-6-ФДГ-ної активності у печінці в 1,4 раза, а за дії цитрату цинку в дозі 50 мг Zn/кг – в еритроцитах – у 2,3 раза, печінці – в 2,2 раза і скелетних м'язів – в 1,3 раза стосовно тварин II групи з ЦД<sub>E</sub>. Отримані результати свідчать про зростання інтенсивності перетворення глюкози у ПФШ в еритроцитах, тканинах печінки і скелетних м'язів, що прямо залежить від рівня Цинку в раціоні щурів. Слід зазначити, що рівень Цинку в дозі 50 мг Zn/кг мав кращий позитивний вплив на окремі показники вуглеводного обміну в організмі тварин, ніж у дозі 20 мг Zn/кг.

### Вплив цитратів хрому і цинку на стан про/антиоксидантної системи в організмі щурів із експериментальним діабетом.

На фоні гіперглікемії за ЦД<sub>E</sub> активується низка метаболічних шляхів перетворення глюкози, внаслідок чого відбувається надмірне утворення активних форм Оксигену, насамперед супероксиданіона ( $O_2^{\cdot-}$ ), який, взаємодіючи з іншими сполуками, перетворюється на високо реакційноздатні радикали, що ініціюють пероксидне окиснення ліпідів.

Результати дослідження показників пероксидного окиснення ліпідів у крові та тканинах тварин показали, що у щурів II групи з ЦД<sub>E</sub> вміст ГПЛ та ТБК-активних

продуктів підвищувався порівняно із показниками у тварин контрольної групи. За впливу цитрату хрому в дозі 10 мкг/кг у крові щурів вірогідно знижувався вміст ТБК-активних продуктів на 11 %, а в дозі 25 мкг/кг – знижувався вміст ГПЛ на 47%.

За впливу цитрату цинку в дозах 20 і 50 мг/кг у крові тварин вірогідно знижувався вміст ГПЛ на 37 і 47 % відповідно, порівняно з показниками у тварин II групи з ЦД<sub>Е</sub>.

Антиоксидантна система спрямована на регуляцію інтенсивності процесів ПОЛ і захист від руйнівної дії продуктів ліпопероксидації. Супероксиддисмутаза безпосередньо забезпечує обрив вільнорадикальних реакцій у клітинах на початковій стадії вільнорадикального окиснення (Стефанов А. В. зі співавт., 2004). Дослідження СОД-ної активності в еритроцитах крові щурів II групи із ЦД<sub>Е</sub> показало вірогідне її зростання порівняно із показниками тварин контрольної групи, що свідчить про збільшення кількості субстрату реакції  $O_2^{\cdot-}$  за ЦД<sub>Е</sub>. Знешкодження пероксиду гідрогену, що утворюється внаслідок дисмутації супероксидного радикалу здійснює каталаза. У дослідженнях виявлено зниження КАТ-ної активності в еритроцитах крові тварин II групи із ЦД<sub>Е</sub> порівняно із показниками тварин контрольної групи. Однак за впливу цитрату хрому в дозі 25 мкг/кг фіксували вірогідне зниження СОД-ної активності на 21 % та зростання КАТ-ної активності на 21 % стосовно тварин II групи із ЦД<sub>Е</sub>. У той час як за дії цитрату цинку вірогідних змін СОД і КАТ-ної активності, стосовно показників у еритроцитах тварин II групи із ЦД<sub>Е</sub>, не спостерігалось.

Аналіз показників глутатіонової системи в еритроцитах щурів II групи з ЦД<sub>Е</sub> показав вірогідне зниження глутатіонпероксидазної і глутатіонредуктазної активності. Зниження активності ензимів глутатіонової системи за умов ЦД<sub>Е</sub> може свідчити про їх неензиматичне глікозилювання внаслідок гіперглікемії. Глутатіонпероксидазна активність залежить від вмісту відновленого глутатіону, внутрішньоклітинну концентрацію якого підтримує глутатіонредуктаза. За умови додавання до раціону щурів цитрату хрому в дозі 25 мкг/кг спостерігалось вірогідне підвищення ГП-ної активності на 16 %, а за додавання цитрату цинку в дозах 20 і 50 мг/кг – на 46 і 43 % відповідно. Подібне зростання ГР-ної активності в еритроцитах виявлено за впливу цитрату хрому в дозах 10 і 25 мкг/кг – на 38 і 58 % відповідно, а за дії цитрату цинку в дозі 20 мг/кг – на 22 %, порівняно із показниками активності у тварин II групи. Також було виявлено вірогідне підвищення вмісту відновленого глутатіону на 56 % за впливу цитрату цинку в дозі 20 мг/кг у порівнянні із показниками тварин II групи із ЦД<sub>Е</sub>. Очевидно, цитрати хрому та цинку сприяли нормалізації активності ензимів глутатіонової пулу в еритроцитах крові щурів за ЦД<sub>Е</sub>.

За сумісного впливу цитратів хрому і цинку також відбувалися зміни вмісту продуктів ПОЛ та активності ензимів АОС у досліджуваних тканинах тварин із ЦД<sub>Е</sub>.

Зокрема з'ясовано, що у скелетних м'язах щурів II групи із ЦД<sub>Е</sub> вірогідно підвищувався вміст ГПЛ в 2 рази та ТБК-активних продуктів – в 1,9 рази порівняно із показниками тварин контрольної групи. За сумісної дії цитратів мікроелементів у тварин III групи вірогідно знижувався вміст ГПЛ на 39 % і ТБК-активних продуктів – на 44 % щодо показників у тварин II групи із ЦД<sub>Е</sub>.

Досліджуючи активність ензимів АОС у скелетних м'язах тварин II групи із ЦД<sub>Е</sub> виявили вірогідне зниження активності СОД на 30 %, КТ – на 30 %, ГР – на

41% і ГП – на 20 % у порівнянні із показниками тварин I групи. За сумісної дії цитратів хрому і цинку у скелетних м'язах тварин III групи спостерігалось вірогідне підвищення активності СОД на 10 %, КТ – на 23 %, ГР – на 77 % та ГП – 20 % порівняно із показниками у тварин II групи із ЦД<sub>Е</sub> (рис. 4).

Сталість концентрації глюкози в крові забезпечує печінка. У результаті досліджень тканин печінки у тварин II групи із ЦД<sub>Е</sub> виявлено вірогідне підвищення в ній вмісту ГПЛ на 40 % і ТБК-активних продуктів – на 51 %, однак вірогідне зниження активності ГП на 19 %, ГР – на 33 % та вмісту ВГ – на 52 % у порівнянні із показниками у тварин контрольної групи. За сумісного впливу цитратів мікроелементів спостерігалось вірогідне зниження вмісту ГПЛ на 33 %, ТБК-активних продуктів – на 25 % та СОД-ної активності – на 16 %, однак підвищення активності КТ на 16 %, ГП – на 34 %, ГР – на 49 % і вмісту ВГ – на 119 % порівняно до показників у печінці тварин II групи із ЦД<sub>Е</sub>

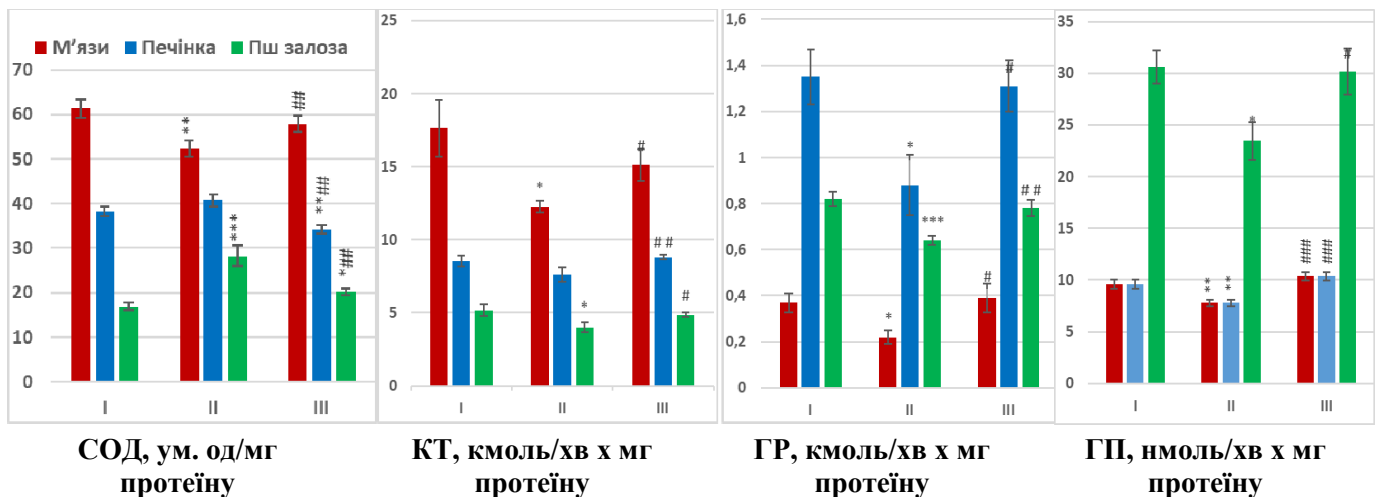


Рис. 4. Активність ензимів антиоксидантної системи в тканинах щурів із ЦД<sub>Е</sub> та за сумісної дії цитратів цинку і хрому ( $M \pm m$ ,  $n=7$ ).

У підшлунковій залозі тварин II групи із ЦД<sub>Е</sub> встановлено вірогідне підвищення вмісту ГПЛ на 71 %, ТБК-активних продуктів – на 50 % та СОД-ної активності – на 67 %, однак вірогідне зниження активності КТ на 22 %, ГП – на 23%, ГР – на 22 % та вмісту ВГ – на 45 %, у порівнянні з показниками тварин контрольної групи. В той час, як за умов сумісного застосування цитратів хрому і цинку у підшлунковій залозі тварин III групи спостерігалось вірогідне зниження вмісту ГПЛ на 36 %, ТБК-активних продуктів – на 38 % і СОД-ної активності – на 29 %, однак вірогідне підвищення активності КТ – на 21 %, ГП – на 29 %, ГР – на 22 % та вмісту ВГ – на 42 % порівняно до показників у тварин II групи із ЦД<sub>Е</sub>.

Загалом зниження активності ензимів АОС як у крові, так і в досліджуваних тканинах тварин II групи, очевидно, зумовлене виснаженням їх запасів, що витрачаються на нейтралізацію вільних радикалів, або можливим їх глікозилюванням за ЦД<sub>Е</sub>. Зростання СОД-ної активності в еритроцитах, печінці та підшлунковій залозі тварин із ЦД<sub>Е</sub>, очевидно, зумовлено нагромадженням супероксидного радикалу у клітинах та активацією ензиму для нівелювання їх дії. Завдяки застосуванню цитратів цинку і хрому підвищується активність більшості

ензимів АОС щодо рівня у тварин із ЦД<sub>Е</sub>, що свідчить про нормалізацію стану АОС у тканинах тварин із ЦД<sub>Е</sub>.

### **NO-синтазна активність в еритроцитах тварин із експериментально індукованим діабетом та за дії цитратів хрому і цинку.**

Еритроцити, крім транспортування кисню, є ще ключовими регуляторами судинних функцій шляхом опосередкованої регуляції вазодилатації нітроген оксидом (NO; Pari L. et al., 1999). Висунуто припущення щодо месенджерної ролі NO в реалізації ефектів інсуліну, однак NO може чинити інсуліноподібну дію і без стимуляції інсуліном (Higaki Y. et al., 2001).

Дослідження показали, що в еритроцитах щурів II групи із ЦД<sub>Е</sub> зростала індуцибельна NO-синтазна (NOS) активність на тлі підвищення загальної NOS активності (рис. 5). Активація iNOS в умовах гіперглікемії може зумовлюватися нагромадження продуктів неензиматичного глікозилювання, які стимулюють утворення прозапальних цитокінів, що є індукторами експресії гену iNOS (Ференц І. зі співавт., 2012). Зростання iNOS активності, в свою чергу, може зумовлювати гіперпродукцію NO в еритроцитах крові, який у надмірній кількості може проявляти цитотоксичну дію внаслідок утворення пероксинітриту, здатного до взаємодії з різними молекулами у клітині, модифікуючи їхні біологічні функції, провокуючи виникнення оксидативно-нітрозативного стресу. Стрес, у свою чергу, супроводжується нітруванням протеїнів, пероксидним окисненням ліпідів, розривами ДНК, активацією PARP-1, а це зрештою призводить до порушення метаболізму і шляхів сигналювання у клітинах, що є характерно для діабетичних ускладнень (Дрель В. зі співавт., 2010).

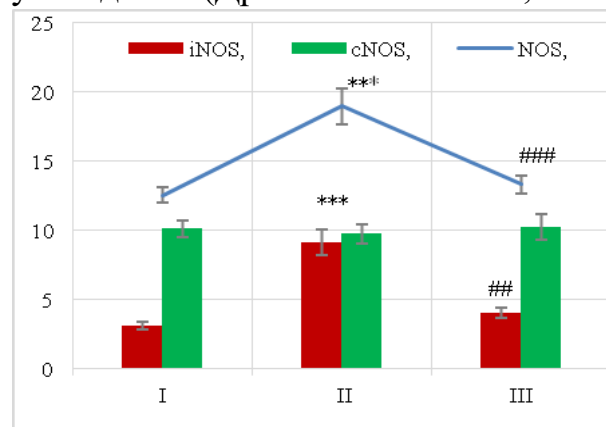


Рис. 5. NO-синтазна активність в еритроцитах щурів із ЦД<sub>Е</sub> та за сумісної дії цитратів цинку і хрому, пмоль NO<sub>2</sub> / хв x мг протеїну (M±m, n=7).

За сумісного впливу цитратів хрому і цинку в еритроцитах спостерігалось вірогідне зниження загальної NOS активності на 30 % та індуцибельної NOS активності – на 55 % порівняно із показниками тварин II групи з ЦД<sub>Е</sub>. Сумісне застосування цитратів хрому і цинку зумовлює пригнічення iNOS активності, можливо, внаслідок безпосередньої дії мікроелементів на кофактори цього ензиму. Крім цього, ці мікроелементи можуть гальмувати синтез NO за допомогою регулювання захисних механізмів або індукції гіперчутливості (Richa S. et al., 2002).

Таким чином, введення до раціону щурів із цукровим діабетом цитратів хрому і цинку сприяє нормалізації NOS активності в еритроцитах та обґрунтовує можливість корекції її порушень за умов даної патології. Отримані результати можуть лягти в основу з'ясування ролі NO-залежних сигнальних шляхів у регуляції функціонального стану клітин крові за цукрового діабету.

### Вміст інсуліну і С-пептиду в крові щурів із експериментальним діабетом та за сумісної дії цитратів цинку і хрому.

У діагностиці цукрового діабету певну роль відіграє визначення концентрації інсуліну та С-пептиду в крові. За рівнем інсуліну можна зробити висновок про секрецію ендогенного гормону. Визначення С-пептиду дозволяє оцінити функціональний стан інкреторного апарату підшлункової залози. Секреція С-пептиду у хворих на ЦД залежить від низки факторів, у тому числі, від компенсації ЦД і глюкозотоксичності, стану інсулінорезистентності в організмі, тривалості захворювання, віку хворого, тактики лікування та наявності супутніх захворювань (Дербак М. зі співавт., 2015).

У процесі виконання роботи визначено, що у крові щурів II групи із ЦД<sub>Е</sub> вірогідно знижувалася як концентрація інсуліну на 45 %, так і С-пептиду – на 26 % порівняно з показниками у тварин контрольної групи (рис. 6). Це може свідчити про зменшення їх секреції, внаслідок пригнічення функціонального стану  $\beta$ -клітин підшлункової залози за дії стрептозотоцину.

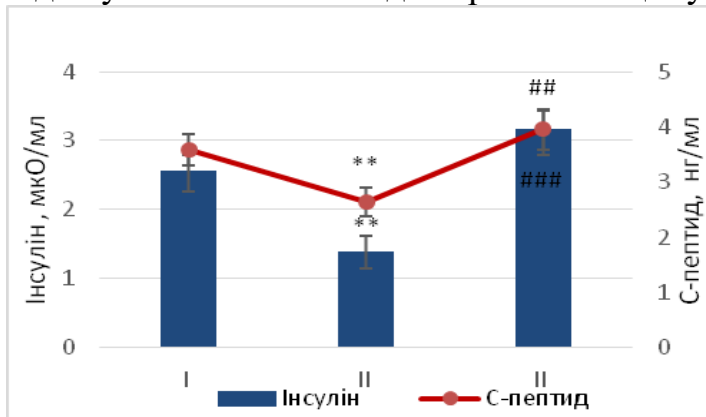


Рис. 6. Концентрація інсуліну і С-пептиду у сироватці крові щурів з ЦД<sub>Е</sub> та за сумісної дії цитратів цинку і хрому ( $M \pm m$ ,  $n=7$ ).

Таким чином, сумісна дія цитратів хрому і цинку може призводити до покращення функціонального стану підшлункової залози за експериментального цукрового діабету.

### Вміст Хрому і Цинку в організмі щурів із експериментальним діабетом та за сумісної дії цитратів хрому та цинку.

Дослідження вмісту мікроелементів у тканинах щурів із ЦД<sub>Е</sub> показало, що в печінці щурів II групи вірогідно знижувався вміст Хрому в 2,6 раза та Цинку – в 2,3 раза. Однак, за умов сумісного впливу цитратів мікроелементів у печінці тварин III групи спостерігалось вірогідне підвищення вмісту Хрому у 3,6 раза та Цинку – в 2,2 раза, порівняно з показниками у тварин II групи із ЦД<sub>Е</sub>.

У скелетних м'язах щурів II групи із ЦД<sub>Е</sub> виявлено вірогідне зниження вмісту Хрому у 2,8 раза і Цинку – в 3,3 раза порівняно з показниками у тварин контрольної групи. За сумісної дії цитратів мікроелементів у скелетних м'язах тварин III групи виявлено вірогідне підвищення вмісту Хрому у 2,6 раза і Цинку – в 1,5 раза, порівняно з показниками тварин II групи.

За сумісного впливу цитратів хрому і цинку у тварин III групи спостерігалось вірогідне підвищення вмісту інсуліну та С-пептиду, відповідно в 2,3 і 1,5 раза, порівняно із показниками у тварин II групи з ЦД<sub>Е</sub>. Зростання концентрації досліджуваних показників за дії цитратів мікроелементів може свідчити про відновлення пошкоджених стрептозотоцином функцій  $\beta$ -клітин, або інтенсифікації їх секреції неушкодженими клітинами.

Цукровий діабет характеризується порушенням балансу мікроелементів в організмі, в т.ч. Цинку і Хрому, внаслідок їх посиленої екскреції з організму, що може впливати на зниження секреції інсуліну на тлі зростання інсулінорезистентності, що зумовлює порушення метаболізму загалом.

Аналіз виявлених нами ефектів антидіабетичної дії цитратів хрому і цинку дає підстави стверджувати, що їх метаболічна дія реалізується, по-перше, за панкреатичним механізмом і є результатом прямого протекторного впливу мікроелементів на структурно-функціональний стан острівцевого апарату підшлункової залози, по-друге – шляхом регулювання інсуліно-стимульованого передавання гормонального сигналу. Окрім того, встановлене нами підвищення толерантності до глюкози у разі введення цитратів мікроелементів тваринам із ЦД<sub>E</sub> може бути пов'язано з регуляцією вуглеводного обміну в клітинах тканин організму. Також ефектом прямої дії сполук є їх здатність запобігати розвитку оксидативно-нітрозативного стресу у клітинах досліджуваних тканин щурів за стрептозотоцинового діабету, впливаючи на прооксидантно-антиоксидантну рівновагу шляхом скавенджерування вільних радикалів та запобігання інгібуванню ключових компонентів ензиматичної ланки АОС.

Тому фармакотерапія з поєднанням добавок цитратів хрому і цинку може бути можливим напрямком лікуванням і профілактики цукрового діабету та його ускладнень.

## **ВИСНОВКИ**

У дисертації експериментально обґрунтовано ефективність застосування цитратів хрому та цинку, синтезованих методом нанотехнології, з метою корекції окремих ланок вуглеводного обміну та системи антиоксидантного захисту в крові і тканинах щурів за умов стрептозоточин індукованого цукрового діабету.

1. У крові щурів із стрептозоточин індукованим цукровим діабетом розвивалася гіперглікемія, що зумовлена зростанням концентрації глюкози та глікозильованого гемоглобіну. Додавання до раціону тварин цитратів хрому і цинку як окремо, так і сумісно, запобігало розвитку гіперглікемії у крові щурів із ЦД<sub>E</sub>, про що свідчило вірогідне зниження концентрації глюкози та рівня глікозильованого гемоглобіну.
2. У щурів із ЦД<sub>E</sub> виявлено підвищення лактатдегідрогеназної активності в еритроцитах і досліджуваних тканинах, а також зростання вмісту лактату та зниження пірувату в крові, що може свідчити про недостатнє енергопостачання клітин та порушення їх метаболізму. За сумісного впливу цитратів хрому і цинку спостерігалось зменшення лактатдегідрогеназної активності в еритроцитах на 37 % і скелетних м'язах – на 11 %, а також нормалізація співвідношення лактат/піруват у крові тварин із ЦД<sub>E</sub>.
3. У щурів із ЦД<sub>E</sub> виявлено зниження глюкозо-6-фосфатдегідрогеназної активності в еритроцитах, печінці та скелетних м'язах, що свідчить про гальмування пентозо-фосфатного шляху перетворення глюкози – основного постачальника НАДФН для глутатіонової антиоксидантної системи. За впливу цитратів хрому і цинку, як окремо, так і сумісно, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназна активність підвищувалася в еритроцитах, печінці та скелетних м'язах тварин із ЦД<sub>E</sub>.



4. У тварин із ЦД<sub>E</sub> встановлено інтенсифікацію оксидативного стресу та порушення функціонування антиоксидантної системи, про що свідчить зростання вмісту продуктів пероксидного окиснення ліпідів у крові та тканинах, підвищення супероксиддисмутазної активності в еритроцитах та підшлунковій залозі, однак зниження – у скелетних м'язах, а також зменшення каталазної, глутатіонпероксидазної, глутатіонредуктазної активності та вмісту відновленого глутатіону в еритроцитах і тканинах щурів із ЦД<sub>E</sub>.
5. За сумісного впливу цитратів хрому і цинку в організмі щурів із ЦД<sub>E</sub> нормалізувався стан про/антиоксидантної системи, про що свідчить вірогідне зниження вмісту гідропероксидів ліпідів і ТБК-активних продуктів в плазмі їх крові та тканинах, супероксиддисмутазної активності – в еритроцитах, печінці та підшлунковій залозі, підвищення вмісту відновленого глутатіону, глутатіонпероксидазної, глутатіонредуктазної та каталазної активності в еритроцитах і досліджуваних тканинах.
6. В еритроцитах тварин із ЦД<sub>E</sub> зростала загальна та індукцйбельна NO-синтазна активність, що може призвести до гіперпродукції NO, утворення пероксинітриду та виникнення оксидативно-нітрозативного стресу. За сумісної дії цитратів хрому і цинку у щурів із ЦД<sub>E</sub> нормалізувалася активність NO-синтаз, зокрема вірогідно знижувалася загальна NO-синтазна активність на 30 % та індукцйбельна NO-синтазна активність – на 55 %.
7. За умов стрептозотоцин індукованого діабету у крові щурів знижувалася концентрація С-пептиду – на 26 % та інсуліну на 45 %, що свідчить про пригнічення функціонального стану інкреторного апарату підшлункової залози та зниження секреції цього гормону. За сумісної корегуючої дії цитратів хрому і цинку на ці процеси спостерігалось вірогідне підвищення вмісту С-пептиду та інсуліну, порівняно з рівнем у крові щурів із ЦД<sub>E</sub>.
8. У щурів із експериментально індукованим цукровим діабетом встановлено знижений рівень Хрому і Цинку у печінці та скелетних м'язах. За умов додавання до раціону тварин із ЦД<sub>E</sub> цитратів хрому і цинку як окремо, так і сумісно, спостерігалось вірогідне підвищення вмісту цих мікроелементів у тканинах, порівняно з їх рівнем у тварин із ЦД<sub>E</sub>.

#### Список публікацій здобувача за темою дисертації.

1. **Слівінська О. М.,** Сеньків О. М., Іскра Р. Я. Антиоксидантна система у скелетних м'язах та крові щурів при гіперглікемії та дії цитрату цинку. Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Серія: Біологія. 2016; 26: 5-10. *(Дисертантка провела дослідження ензимів АОС, здійснила аналіз результатів та підготувала статтю до друку).*
2. 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: 161-166. *(Дисертантка провела дослідження активності ензимів*

- вуглеводного обміну та АОС, проаналізувала результати та брала участь у написанні статті).*
3. Iskra R. Ya., **Slivinska O. M.**, Klymets H. V. Carbohydrate metabolism in blood and liver of rats with experimental diabetes and its correction by zinc citrate. *The Animal Biology*. 2016; 18(3): 46-52. *(Дисертантка виконала дослідження ензимів та метаболітів вуглеводного обміну, статистично опрацювала дані та брала участь у написанні статті).*
  4. **Slivinska O. M.**, Iskra R. Ja. A complex influence of chromium and zinc citrates on antioxidant defense system in rats' organism with an experimentally induced diabetes mellitus. *Медична та клінічна хімія*. 2017; 19(1): 31-39. *(Дисертантка виконала експериментальну частину дослідження, статистично опрацювала отримані дані, провела аналіз результатів та підготовку статті до друку).*
  5. Іскра Р. Я., **Слівінська О. М.** Вплив цитрату хрому на вуглеводний обмін у крові щурів за стрептозотоцин індукованого діабету. *Медична хімія*. 2014; 3(60): 16-19. *(Дисертантка виконала експериментальну частину дослідження, провела аналіз результатів та підготувала статтю до друку).*
  6. Іскра Р. Я., **Слівінська О. М.** Дія хром цитрату на про/антиоксидантний статус підшлункової залози щурів за експериментального цукрового діабету. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*. 2015; 70: 25-30. *(Дисертантка виконала дослідження та брала участь у написанні статті).*
  7. **Слівінська О. М.** Вплив цитрату цинку на антиоксидантний захист у печінці та підшлунковій залозі щурів за експериментального діабету. *Український журнал медицини, біології та спорту*. 2017; 4(6): 189-193.
  8. **Слівінська О. М.**, Іскра Р. Я. Коригувальний вплив цитратів хрому і цинку на NO-синтазну активність еритроцитів щурів із стрептозотоциновим діабетом. *The Animal Biology*. 2020; 22(2): 65-70. *(Дисертантка провела дослідження NO-синтазної активності, опрацювала дані та брала участь у написанні статті).*
  9. **Slivinska O.**, Senkiv O., Iskra R. Antioxydant system in rats' liver and skeletal muscles during experimentally-induced diabetes and its correction with chromium citrate. *British Journal of Science and Education*. 2015; 1(7): 1119-1125. *(Дисертантка провела визначення активності ензимів АОС, статистично опрацювала дані та підготувала статтю до друку).*
  10. **Slivinska O. M.**, Iskra R. Ya. Scientific developments of Ukraine and EU in the area of natural sciences: Collective monograph. P. 2. Riga: Izdevniecība «Baltija Publishing»; 2020. Antioxydant system in rats' liver and skeletal muscles during experimentally-induced diabetes and its correction with chromium and zinc citrates: 649-663. *(Дисертантка провела дослідження і прийняла участь у написанні розділу).*
  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. 261.06.2017, опубл. 27.11.2017, Бюл. № 22. *(Дисертантка провела дослідження активності ензимів вуглеводного обміну і АОС, проаналізувала дані, оформила патент).*

12. Іскра Р. Я., Слівінська О. М., Шатинська О. А. Салига Н. О., Сварчевська О. З., Бучко О. М., Пилипець А. З., Сеньків О. М., Приймич Н. І. Живлення тварин та фізіологі-біохімічні процеси в організмі за дії цитратів мікроелементів: методичні рекомендації. Львів; 2016. 27. *(Дисертантка брала активну участь в оформленні та написанні методичних рекомендацій)*.
13. Іскра Р. Я., Слівінська О. М., Сушко О. О., Климець Г. В., Котик Б. І., Любас Н. М. Застосування цитратів мінеральних елементів у біології та медицині: методичні рекомендації. Львів; 2020. 26. *(Дисертантка брала активну участь в оформленні та написанні методичних рекомендацій)*.
14. Слівінська О. М., Іскра Р. Я. Активність системи антиоксидантного захисту в крові щурів із експериментально індукованим діабетом і за впливу цитрату хрому. Тези IV Міжнародної науково-практичної конференції: Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології, Харків, 2014. 175. *(Дисертантка виконала експериментальну частину досліджень, статистично опрацювала отримані дані, оформила та написала тези)*.
15. Іскра Р. Я., Слівінська О. М., Сеньків О. М. Вплив хром цитрату на прооксидантно-антиоксидантну рівновагу в скелетних м'язах щурів за експериментально індукованого діабету. Матеріали міжнародної науково-практичної конференції: Актуальні проблеми сучасної біології, тваринництва та ветеринарної медицини, м. Львів, Біологія тварин. 2014; 16(3): 174. *(Дисертантка провела дослідження активності ензимів АОС, опрацювала статистичні дані, оформила тези)*.
16. Іскра Р. Я., Сварчевська О. З., Салига Н. О., Слівінська О. М. Біохімічні процеси в організмі щурів за різних доз хрому(III) в раціоні. Матеріали XI Українського біохімічного конгресу, м. Київ, Український біохімічний журнал. 2014; 86(5): 152-153. *(Дисертантка брала участь у опрацюванні результатів і написанні та оформленні тез)*.
17. Іскра Р. Я., Слівінська О. М., Салига Н. О., Сеньків О. М. Вплив хром цитрату на показники вуглеводного обміну та антиоксидантної системи в еритроцитах та гепатоцитах щурів за експериментально індукованого діабету. Матеріали міжнародної наукової конференції: Механізми функціонування фізіологічних систем, приуроченої до 70-ліття біологічного факультету та 230-ліття фізіології у Львівському університеті, Львів; 2014: 42-43. *(Дисертантка провела дослідження активності ензимів вуглеводного обміну та АОС, опрацювала статистичні дані, оформила тези)*.
18. 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, 2015: 59. *(Дисертантка провела дослідження ензимів АОС і NO-синтазної системи, опрацювала статистичні дані, брала участь у написанні тез)*.
19. Слівінська О. М., Шатинська О. А. Вплив цитратів цинку і магнію на вуглеводний обмін у крові та тканинах щурів з експериментальним цукровим діабетом. XIV Міжнародна наукова конференція студентів, аспірантів та

- молодих вчених: Шевченківська весна: біологія, Київ; 2015: 182-184. *(Дисертантка брала участь у опрацюванні результатів і написанні тез).*
20. Климець Г. В., **Слівінська О. М.**, Іскра Р. Я. Вплив цитрату цинку на вуглеводний обмін в організмі щурів з експериментальним цукровим діабетом. Матеріали міжнародної науково-практичної конференції: Актуальні проблеми фізіології тварин, м. Одеса, 2016: 26-29. *(Дисертантка провела дослідження ензимів вуглеводного обміну, брала участь у опрацюванні результатів і написанні та оформленні тез).*
  21. Iskra R., **Slivinska O.** Influence of Zinc Citrate on Oxidative and Nitrative Stress in rats' organism with experimentally induced diabetes mellitus. Joint Annual Meeting of the German Society for Minerals and Trace Elements with Zink-UK. Achen; 2017:55. *(Дисертантка провела експериментальні дослідження, аналіз статистичних даних та оформила тези).*
  22. Іскра Р. Я., Понкало Л. І., Сушко О. О., **Слівінська О. М.**, Шатинська О. А. Вплив цитратів ванадію, цинку та магнію на стан прооксидантної системи підшлункової залози щурів за експериментального цукрового діабету. Міжнародна конференція: Бабенківські читання, Івано-Франківський національний медичний університет; 2017: 49. *(Дисертантка брала участь у опрацюванні результатів і написанні та оформленні тез).*
  23. **Слівінська О.**, Іскра Р., Приймич В. Вплив цитратів хрому та цинку на вміст мікроелементів та вуглеводний обмін в організмі щурів з експериментальним діабетом. Матеріали XVII Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих учених: Молоді учені у вирішенні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини, Львів. Біологія тварин. 2018; 20(4): 136. *(Дисертантка провела дослідження активності ензимів вуглеводного обміну та вмісту мікроелементів, опрацювала дані та оформила тези).*

## АНОТАЦІЯ

**Слівінська О. М. Вуглеводний обмін і антиоксидантна система в щурів з експериментальним цукровим діабетом та їх корекція цитратами хрому і цинку. – На правах рукопису.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04–біохімія. – Інститут біології тварин НААН, Львів, 2020.

У дисертаційній роботі представлені нові шляхи вирішення проблеми профілактики та лікування цукрового діабету внаслідок застосування цитратів хрому та цинку, синтезованих методом нанотехнології. Експериментально обґрунтовано ефективність застосування цих сполук у раціоні з метою корекції функціонування вуглеводного і мінерального обміну, стану про/антиоксидантної системи та NO-синтазної активності в організмі щурів із стрептозоточин індукованим діабетом. З'ясовані оптимальні дози цитратів хрому і цинку щодо нормалізації основних показників обмінних процесів в організмі тварин з експериментальним діабетом. Доведено, що досліджувані сполуки, синтезовані методом нанотехнології, можуть проявляти гіпоглікемічний ефект, пригнічувати анаеробний гліколіз, підвищувати концентрацію інсуліну і С-пептиду за цукрового

діабету. З'ясовано, що застосування цитратів хрому і цинку призводить до зниження індуцибельної NOS активності та вмісту продуктів пероксидного окиснення ліпідів в організмі тварин із стрептозотоциновим діабетом, що призводить до пригнічення розвитку оксидативно-нітрозативного стресу. Встановлені виражені антиоксидантні властивості досліджуваних сполук, що підтверджується нормалізацією активності антиоксидантних ензимів в крові та тканинах щурів за цукрового діабету. Результати роботи можуть стати основою для розробки нових гіпоглікемічних засобів для профілактики та лікування цукрового діабету і його ускладнень.

**Ключові слова:** щури, експериментальний цукровий діабет, хром, цинк, цитрати, вуглеводний обмін, антиоксидантна система, оксидативний стрес, NO-синтази.

## АННОТАЦІЯ

**Сливинская А. Н. Углеводный обмен и антиоксидантная система у крыс с экспериментальным сахарным диабетом и их коррекция цитратами хрома и цинка. – На правах рукописи.**

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.04–биохимия. – Институт биологии животных НААН, Львов, 2020.

В диссертационной работе представлены новые пути решения проблемы профилактики и лечения сахарного диабета в результате применения цитратов хрома и цинка, синтезированных методом нанотехнологии. Экспериментально обоснована эффективность применения этих соединений в рационе с целью коррекции функционирования углеводного и минерального обмена, состояния про / антиоксидантной системы и NO-синтазной активности в организме крыс с стрептозотин индуцированным диабетом. Определены оптимальные дозы цитратов хрома и цинка для нормализации основных показателей обменных процессов в организме животных с экспериментальным диабетом. Доказано, что исследуемые соединения, синтезированные методом нанотехнологии, могут проявлять гипогликемический эффект, подавлять анаэробный гликолиз, повышать концентрацию инсулина и С-пептида при сахарном диабете. Установлено, что применение цитратов хрома и цинка приводит к снижению индуцибельной NOS активности и содержания продуктов перекисного окисления липидов в организме животных с стрептозотоциновым диабетом, что приводит к снижению развития оксидативно-нітрозативного стресса. Установлены выраженные антиоксидантные свойства исследуемых соединений, что подтверждается нормализацией активности антиоксидантных ферментов в крови и тканях крыс при сахарном диабете. Результаты работы могут стать основой для разработки новых антидиабетических средств для профилактики и лечения сахарного диабета и его осложнений.

**Ключевые слова:** крысы, экспериментальный сахарный диабет, хром, цинк, цитраты, углеводный обмен, антиоксидантная система, оксидативный стресс, NO-синтазы.

## SUMMARY

**Slivinska O. M. Carbohydrate metabolism and antioxidant system in rats with experimental diabetes mellitus and their correction with chromium and zinc citrates. – On the manuscript.**

The thesis for the Degree of Candidate of Biological Sciences in the specialty 03.00.04 – Biochemistry. – Institute of Animal Biology of NAES, Lviv, 2020.

New ways of solving the problem of prevention and treatment of diabetes mellitus due to the use of chromium and zinc citrates synthesized by the method of nanotechnology are presented in the thesis. The effectiveness of the use of these compounds in the diet with the aim of the correction the functioning of carbohydrate and mineral metabolism, the state of the prooxidant/antioxidant system and NO-synthase activity in rats with streptozotocin-induced diabetes has been experimentally substantiated. The optimal doses of chromium and zinc citrates for normalization of the main indicators of metabolic processes in the body of animals with experimental diabetes have been determined. Optimal doses of chromium and zinc citrates for normalization of the main indicators of metabolic processes in animals' organisms with experimental diabetes have been determined.

In the blood of rats with experimentally induced diabetes persistent hyperglycemia has been found caused by increased concentrations of glucose and glycosylated hemoglobin and changes in the activity of enzymes of carbohydrate metabolism, in particular: a decrease in glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in erythrocytes, liver and skeletal muscles and an increase in lactate dehydrogenase activity in the studied tissues and erythrocytes on the background of an increase in the content of L-lactate and a decrease in pyruvate in the blood. Oral administration of chromium citrate to rats (in doses of 10 and 25  $\mu\text{g Cr}^{3+}/\text{kg}$  of body weight) and zinc citrate (in doses of 20 and 50  $\text{mg Zn}^{2+}/\text{kg}$  of body weight) both separately and compatibly prevented the development of acute hyperglycemia in rats with experimental diabetes mellitus, with probable decrease in glucose concentration and level of glycosylated hemoglobin in the blood, decrease in lactate dehydrogenase activity in erythrocytes and skeletal muscles, increase in glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in erythrocytes, liver and skeletal muscles.

Under the conditions of addition of chromium and zinc citrates to rats' diet, both separately and compatibly in rats' organisms, the state of the prooxidant/antioxidant system normalized compared to the indicators of animals with experimental diabetes mellitus which did not receive chromium and zinc citrates. It is evidenced by a probable decrease in the content of lipid hydroperoxides and TBA-active products in blood plasma and tissues, superoxide dismutase activity in erythrocytes, liver and pancreas and an increase in the content of reduced glutathione, glutathione peroxidase, glutathione reductase and catalase activity in erythrocytes and studied tissues.

In erythrocytes of animals with experimental diabetes mellitus the total and inducible NO-synthase activity was increasing, while the constitutive NO-synthase activity was not changing significantly. In animals with experimental diabetes mellitus who chromium and zinc citrates were added to drinking water, NO-synthase activity in erythrocytes normalized. In particular, under the compatible effect of the studied compounds, a probable decrease in total NO-synthase activity by 30% and inducible – by

55% compared with the animals of 2<sup>nd</sup> group with experimental diabetes mellitus was observed.

Under conditions of streptozotocin-induced diabetes mellitus in the blood of animals the concentration of insulin was decreasing by 45% and C-peptide – by 26%. However, under the conditions of compatible action of chromium and zinc citrates, a probable increase in their content was observed, which indicates the restoration of the functional state of the  $\beta$ -cell apparatus of the pancreas.

In rats with experimentally induced diabetes mellitus, a decrease in the level of Chromium and Zinc in the tissues was found. Under the influence of chromium and zinc citrates, both individually and compatibly, a probable increase in the content of these microelements in the liver and skeletal muscles of animals was observed.

Oral administration of chromium and zinc citrates in the studied doses was effective in correcting certain parts of carbohydrate metabolism, the state of the prooxidant/antioxidant system and NO-synthase activity in animals' organisms under conditions of streptozotocin diabetes. The best positive effect was observed under the combined use of chromium citrate in a dose of 25  $\mu\text{g Cr}^{3+}/\text{kg}$  of body weight and zinc citrate in a dose of 50 mg  $\text{Zn}^{2+}/\text{kg}$  of body weight. The results of the scientific work can be the basis for the development of new hypoglycemic means for the prevention and treatment of diabetes mellitus and its complications.

**Key words:** rats, experimental diabetes mellitus, Chromium, Zinc, citrates, carbohydrate metabolism, antioxidant system, oxidative stress, NO-synthase.