

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ  
ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН

**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**

Автореферат  
дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата біологічних наук

Львів – 2018

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,  
заступник директора з наукової роботи

**Офіційні опоненти:**

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

доктор біологічних наук, професор  
**Кучмеровська Тамара Муратівна,**  
Інститут біохімії імені О. В. Палладіна  
НАН України, провідний науковий  
співробітник відділу біохімії  
вітамінів і коензимів

Захист відбудеться «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2018 р. о «\_\_\_\_\_» годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 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 «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2018 р.

**Вчений секретар  
спеціалізованої вченої ради**

**О. І. Віщур**

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Цукровий діабет (ЦД) – гетерогенне захворювання, до виникнення якого призводить загальне порушення ендокринної системи, внаслідок чого змінюється гомеостаз основних метаболічних процесів організму. Основним проявом цього захворювання є гіперглікемія, яка виникає через порушення секреції та/або дії інсуліну, результатом чого є абсолютна або відносна недостатність інсуліну чи інсулінорезистентність (Silva-Sousa Y.T., 2003; Кузишин О. В., 2010; Журавльова Л. В., 2012; Forbes J. M., 2013; Atkinson M. A., 2014). Тому, підбір адекватної цукрознижувальної терапії і досягнення бажаного рівня компенсації захворювання у хворих на ЦД має певні труднощі, що обумовлено саме значною гетерогенністю цього захворювання, і, як наслідок, це утруднює пошук шляхів та методичних підходів до лікування в кожному конкретному випадку. Водночас, допомога хворим на ЦД має бути комплексною і крім глікемічного контролю потребує впровадження заходів, що спрямовані на усунення факторів ризику виникнення ЦД (Конечна Р. Т., 2008; van Dooren F. E., 2013; Червоненко Н. М., 2016).

Експериментальні дослідження показали, що деякі вітаміни (В<sub>1</sub>, В<sub>3</sub>, С, D і Е), а також макроелементи (Кальцій, Магній) та мікроелементи (Цинк, Хром, Ванадій) володіють гіпоглікемічною дією за ЦД (Anderson A., 2001; Balk M., 2007; Sarkozy M., 2014; Barbagallo M., 2015). 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 (Althuis D., 2002; Guerrero-Romero F., 2005).

Зокрема, Магній (Mg) заслуговує на увагу, оскільки залучений до різних ланок метаболізму як у нормі, так і за ЦД (Rodrigues-Moran M., 2003; Kazi G., 2008; Sivitz W., 2010; Barbagallo M., 2015), хоча не всі аспекти впливу цього елемента з'ясовані. Не виключено, що Mg може позитивно впливати на систему антиоксидантного захисту (АОЗ), яка, як відомо, пригнічується за ЦД (Chetan P., 2003). Так, окремі дослідження показали, що стан прооксидантно-антиоксидантної системи може залежати від вмісту Магнію в клітині (Szentmihalyi K., 2014). Вважають, що дефіцит Магнію в організмі може призвести до порушень як секреції інсуліну, так і реалізації його дії (Lazo-de-la-Vega M. L., 2013; Guerrero-Romero F., 2005). Деякі автори стверджують, що добавки Магнію до їжі можуть зменшити спричинені діабетом порушення ліпідного обміну (Baydas B., 2002).

Не менш важливим є Хром тривалентний (Cr), який може впливати на метаболізм вуглеводів, ліпідів і протеїнів (Balk M., 2007; Vincent J., 2015;

Costello B., 2016). Однак і досі мало відомо, які саме механізми дії цього елемента. Як стверджують наукові, 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 (Суслик А. І., 2012; Hua Y., 2012; Vincent J., 2012).

Попри все, сьогодні є недостатньо експериментально обґрунтованих доказів використання сполук Cr і Mg у профілактиці та лікуванні цукрового діабету. 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 алоксановим цукровим діабетом (ЦДА) для розробки нових підходів корекції метаболічних порушень.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити наступні завдання:

- дослідити вплив цитрату магнію окремо та сумісно з цитратом хрому на окремі ланки вуглеводного обміну в крові і тканинах щурів на тлі ЦДА;
- з'ясувати вплив цитрату магнію окремо та сумісно з цитратом хрому на певні ланки ліпідного обміну в організмі щурів на тлі ЦДА;
- оцінити стан антиоксидантної системи та вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів у крові і тканинах щурів за впливу цитрату магнію окремо та сумісно з цитратом хрому на тлі ЦДА;
- визначити вміст Mg та Cr в окремих тканинах щурів за впливу цитрату магнію окремо та сумісно з цитратом хрому на тлі ЦДА;
- визначити вміст інсуліну та С-пептиду у крові щурів за сумісного впливу цитратів магнію і хрому на тлі ЦДА;

- 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 пероксидного окиснення ліпідів 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 пірувату, продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), активність окремих ензимів вуглеводного обміну та системи АОЗ), хроматографічні (визначення вмісту загальних ліпідів, класів ліпідів), атомно-абсорбційної спектроскопії (визначення вмісту Магнію та Хрому), імуноензимні (визначення концентрації інсуліну та С-пептиду) і статистичні.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Уперше з'ясовано, що дія цитратів магнію і хрому за умов ЦДА залежить від дози і реалізується через їх вплив 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 ЦДА, 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 попередження 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 запобігання виникнення 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); II 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).

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

**Огляд літератури.** Огляд літератури складається з п'яти підрозділів, у яких проаналізовано основні уявлення про структурні та функціональні зміни в організмі за умов розвитку цукрового діабету. Висвітлено існуючі біохімічні механізми гіпоглікемічної дії Магнію і Хрому та проаналізовано їх роль у профілактиці та терапії цукрового діабету.

**Матеріали та методи досліджень.** Дослідження проводили на білих лабораторних щурах лінії Вістар масою тіла 130-150 г, у віварії Інституту біології тварин НААН за постійного температурного режиму, вологості й освітлення з дотриманням 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).

Згідно з поставленими завданнями дисертаційної роботи експериментальна частина роботи включала три етапи досліджень.

Завдання першого етапу досліджень полягало у вивченні впливу різних доз цитрату магнію (100, 250, 500 мг  $Mg^{2+}$ /кг маси тіла) на окремі показники метаболізму в крові і тканинах щурів за умов ЦДА. Для цього було підібрано п'ять груп щурів: контрольну (КГ) і чотири дослідні по 5 тварин у кожній. Тваринам другої (ДГ2), третьої (ДГ3) та четвертої (ДГ4) дослідних груп упродовж 30 діб з моменту постановки досліду разом із питною водою давали цитрат магнію 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.

Завданням другого етапу досліджень було дослідити 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 метаболізму в крові та тканинах щурів за умов ЦДА. Для виконання поставленого завдання було сформовано чотири групи тварин (контрольну і три дослідні) по 5 щурів у кожній. Тваринам другої (ДГ2) і третьої (ДГ3) дослідних груп, упродовж 30 діб експерименту до питної води сумісно додавали цитрат магнію і цитрат хрому 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).

Завданням третього етапу роботи було проаналізувати вплив лимонної кислоти на деякі метаболічні показники у крові та печінці тварин за ЦДА. Для розв'язання цього питання було сформовано три групи тварин (по п'ять щурів у

групі): контрольну і дві дослідні. Тварини другої дослідної групи (ДГ2) споживали 1,25% водний розчин лимонної кислоти.

Щури контрольної та першої дослідної групи (ДГ1) в усіх дослідженнях споживали чисту воду без добавок.

Експериментальний цукровий діабет (ЦДА) тваринам усіх дослідних груп у трьох етапах досліджень викликали на тлі 24-годинного голодування на 21-шу добу, з моменту постановки досліду, одноразовим внутрішньоочеревинним введенням розчину моногідрат алоксану ("Синбіас", Україна) з розрахунку 150 мг на 1 кг маси тіла тварини, який розводили у 0,85% фізіологічному розчині, згідно методики описаної Yanarday R. and Colak H. (1998). Для підтвердження розвитку гіперглікемії упродовж 10 діб, проводили щодобове вимірювання глюкози крові, зібраної з хвостової вени за допомогою портативного глюкометра ("Gamma-M"). Для експериментів використовували тварин із концентрацією глюкози більше 14 ммоль/л.

На 30-ту добу в першому, другому і третьому етапах досліджень тварин виводили з експерименту за легкого наркозу шляхом декапітації. Матеріалом для біохімічних досліджень слугували кров (як антикоагулянт застосовували гепарин) і тканини печінки, скелетних м'язів та підшлункової залози.

У експериментальних зразках 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. Королюк (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. Carlberg et al. (1985). Вміст відновленого глутатіону (GSH) вимірювали за методом О. Батлера зі співавт. (1982); гідропероксидів ліпідів (ГПЛ) – за методом В. В. Мірончика (1984); ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) – за методом Є. Н. Коробейнікової (1989); лактату – за методом М. В. Гончара зі співавт. (2009); пірувату – за методом В. І. Левченка зі співавт. (2002). Дослідження рівня інсуліну та С-пептиду проводили імуноферментним методом з використанням наборів фірми DRG International, Inc. (США). Вміст Хрому та Магнію в тканинах тварин визначали на атомно-абсорбційному спектрофотометрі С-115-ПК.

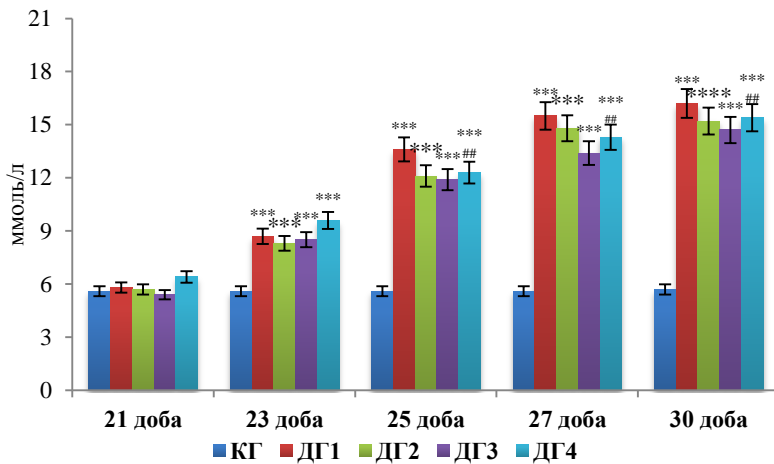
Статистичну обробку результатів дослідження здійснювали за допомогою програми Microsoft Excel і Statistica. Для оцінки кореляційних зв'язків між досліджуваними показниками застосовували коефіцієнт кореляції Пірсона. Для оцінки вірогідності різниці між статистичними характеристиками двох альтернативних сукупностей даних обчислювали коефіцієнт Стьюдента. Вірогідною вважали різницю за вірогідності  $p \geq 0,95$  (рівень значимості  $P < 0,05$ ), знайдену після обчислення  $t$  за таблицею  $t$ -розподілу Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

**Вплив цитрату магнію у дозах 100, 250 та 500 мг  $Mg^{2+}$ /кг на характерні ланки вуглеводного обміну в крові та тканинах щурів з експериментальним цукровим діабетом.** У результаті проведених досліджень виявлено, що концентрація глюкози протягом десяти діб після індукції ЦДА у крові тварин ДГ1



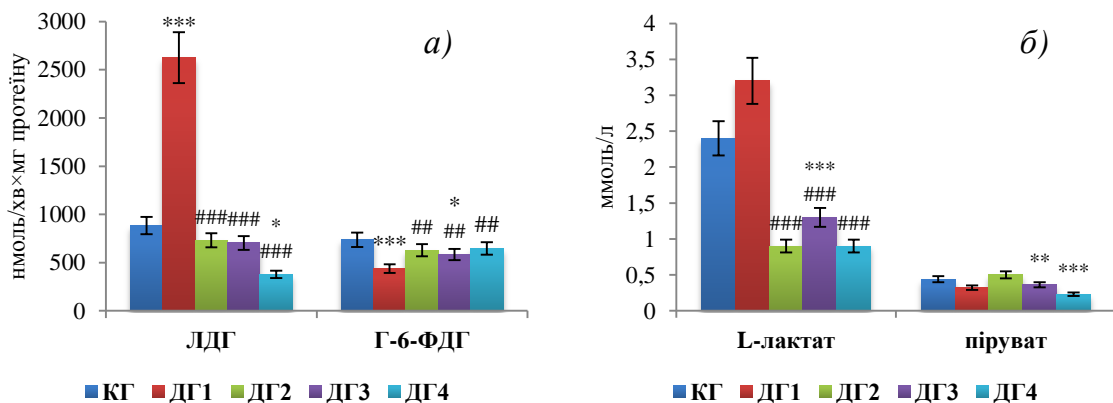
зросла з 5,5 ммоль/л до 17,0 ммоль/л і на 30-ту добу досліджень була в 2,8 разу більша порівняно із показниками тварин контрольної групи (рис. 1).



**Рис.1. Рівень глюкози в динаміці у крові щурів із ЦДА (ДГ1) та за впливу цитрату магнію у дозах 100, 250, 500 мг  $Mg^{2+}$ /кг м. т. (ДГ2-ДГ4).**

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.

Було встановлено підвищення ЛДГ-ної активності у 3 рази ( $p < 0,001$ ) та зниження Г-6-ФДГ-ної активності у 1,6 разу ( $p < 0,001$ ) в еритроцитах крові щурів з ЦДА на 30-ту добу експерименту порівняно з тваринами контрольної групи (рис. 2). За цих умов вміст L-лактату підвищувався на 33,3 %, а вміст пірувату знижувався на 27,3 % у крові щурів з ЦДА порівняно із тваринами контрольної групи, що може свідчити про інтенсифікацію анаеробного шляху обміну глюкози.



**Рис. 2. Лактатдегідрогеназна і глюкозо-6-фосфатдегідрогеназна активність (а) та вміст метаболітів (б) у крові щурів із ЦДА (ДГ1) та за впливу цитрату магнію у дозах 100, 250, 500 мг  $Mg^{2+}$ /кг м. т. (ДГ2–ДГ4).**

У результаті проведених досліджень на щурах, яким випоювали цитрат магнію у різних дозах, встановлені зміни показників вуглеводного обміну в крові тварин дослідних груп. За впливу цитрату магнію у дозах 100, 250 та 500 мг  $Mg^{2+}$ /кг вірогідно знижувалась ЛДГ-на активність у еритроцитах крові тварин на 3,5, 3,7 і 6,9 разу відповідно, що зумовлювало зниження вмісту L-лактату на 3,5, 2,4 і 3,9 разу та відзначена спрямованість до підвищення вмісту пірувату в крові тварин порівняно з відповідними показниками у тварин із ЦДА. Натомість додавання цитрату магнію у вищевказаних дозах зумовлювало зростання Г-6-ФДГ-ної активності в еритроцитах крові тварин відповідно на 44,0, 33,3 та 47,7 % порівняно з показниками у тварин з цукровим діабетом. Отримані результати

свідчать про активацію окисного шляху перетворення глюкози за дії цитрату магнію в крові щурів із цукровим діабетом (рис. 2).

У скелетних м'язах, як і в еритроцитах тварин, знижувалась Г-6-ФДГ-на та зростала ЛДГ-на активність, тоді як у печінці та підшлунковій залозі знижувалася активність обох ензимів у щурів з ЦДА. Застосування цитрату магнію дало змогу запобігти розвитку гострої гіперглікемії, з подальшим зростанням Г-6-ФДГ-ної активності в усіх досліджуваних тканинах, і ЛДГ-ної – у печінці та підшлунковій залозі, проте зі зниженням активності цього ензиму у скелетних м'язах.

Таким чином, цитрат магнію у досліджуваних дозах здійснював деякий нормалізуючий вплив на досліджувані показники вуглеводного обміну в крові і тканинах щурів із ЦДА, причому найбільш ефективною була доза 250 мг  $Mg^{2+}$ /кг маси тіла. Така дія досліджуваної сполуки найімовірніше зумовлена її впливом на стимуляцію секреції інсуліну  $\beta$ -клітинами підшлункової залози та поглинання глюкози клітинами. Також не виключено, що досліджувана сполука може впливати на регуляцію активності найважливіших ензимів гліколітичного шляху перетворення глюкози, зокрема таких як гексокіназа, фосфофруктокіназа, альдолаза, фосфогліцераткіназа та піруваткіназа.

**Вплив цитрату магнію у дозах 100, 250 та 500 мг  $Mg^{2+}$ /кг на процеси пероксидного окиснення ліпідів та активність антиоксидантної системи в крові і тканинах щурів із цукровим діабетом.** Дослідження показали, що за діабету в плазмі крові щурів спостерігалось підвищення вмісту ГПЛ на 18,3 % та ТБК-активних продуктів на 13,1 % порівняно з тваринами КГ, що свідчить про посилення прооксидантних процесів. За умов діабету на тлі посилення процесів ПОЛ знижувалася СОД-на активність на 11 % і КАТ-на – на 22,7 % щодо контрольної групи, що може бути зумовлене виснаженням активності цих ензимів системи АОЗ за оксидативного стресу. Однак, зростала активність ключових ензимів глутатіонової ланки АОЗ у крові тварин із ЦДА, зокрема, ГР-на активність – на 15,4 %, ГП-на – у 2,3 разу ( $p < 0,01$ ), що супроводжувалося зростанням (у 1,9 разу) вмісту відновленого глутатіону порівняно з показниками у тварин контрольної групи. Це свідчить про активацію глутатіонової ланки АОЗ у крові за оксидативного стресу, який виникає у тварин із ЦДА.

Водночас за додавання цитрату магнію у дозах 100, 250 та 500 мг  $Mg^{2+}$ /кг, у плазмі крові щурів знижувався вміст ГПЛ на 14,7, 5,9 і 34,6 % та ТБК-активних продуктів – на 7,3–7,7 % порівняно з відповідними показниками у тварин із ЦДА. Результати визначення активності ензимів АОЗ показали вірогідне зростання СОД-ної активності у крові тварин ДГ2 і ДГ4 на 34,8 і 33,6 % відповідно, що свідчить про активацію досліджуваного ензиму або посилення його синтезу за дії цитрату магнію. У той же час, КАТ-на активність у крові тварин ДГ2–ДГ4, порівняно з тваринами ДГ1 із ЦДА, кардинально не змінювалась. Це свідчить про те, що Mg суттєво не впливав на активність цього ензиму. В той час як активність ензимів глутатіонової ланки АОЗ у крові тварин за вживання цитрату магнію у дозах 100, 250 та 500 мг  $Mg^{2+}$ /кг знижувалася, зокрема ГП-на активність – на 59,6, 68,8 і 59,61 % відповідно та ГР-на активність у тварин ДГ2 і ДГ3 – на 46,7 і 20,0 % порівняно з тваринами ДГ1 із ЦДА. Це свідчить про стабілізацію про/антиоксидантної системи за дії цитрату магнію у крові тварин за умов ЦДА.

У тканинах тварин із ЦДА на тлі посиленого утворення АФО і процесів ПОЛ у крові, також підвищувався вміст гідропероксидів ліпідів і ТБК-активних продуктів. Супероксиддисмутазна активність за умов ЦДА знижувалась, натомість каталазна активність підвищувалась у тканинах внутрішніх органів щурів. У м'язовій тканині щурів за умов ЦДА спостерігалось підвищення активності ензимів глутатіонової ланки захисту, тоді як у печінці та підшлунковій залозі – зниження.

Застосування цитрату магнію у різних дозах дало змогу стабілізувати деякі ланки системи АОЗ із подальшою нормалізацією досліджуваних показників. Найбільш виражений оптимальний вплив цитрату магнію на активність системи АОЗ встановлено у тварин ДГЗ за дії цитрату магнію в дозі 250 мг  $Mg^{2+}$ /кг м. т.

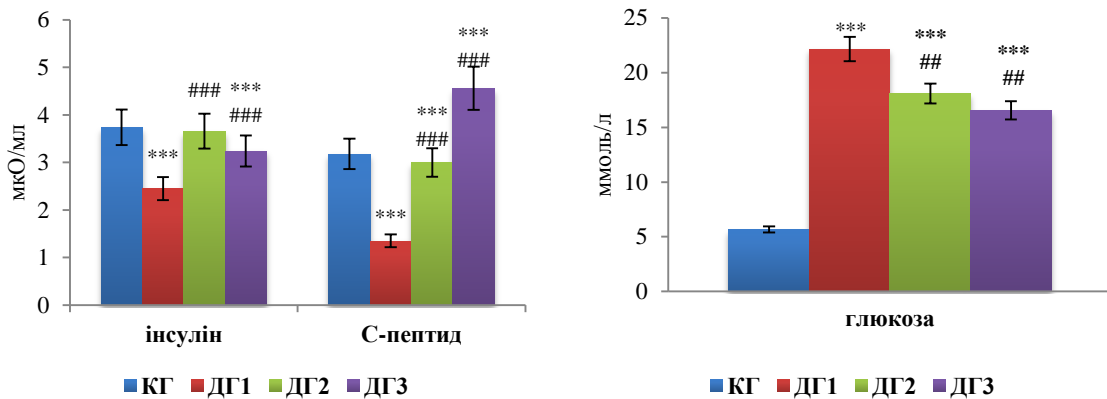
**Вплив цитрату магнію на окремі лакки ліпідного обміну в організмі щурів з цукровим діабетом.** У результаті проведених експериментальних досліджень було виявлено направленість до зростання вмісту загальних ліпідів у тварин із ЦДА на 8,7 % щодо тварин контрольної групи. У плазмі крові щурів із ЦДА було виявлено збільшення вмісту холестеролу у 2,2 разу, 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 у плазмі крові тварин КГ. Також отримані дані свідчать про те, що у крові тварин з ЦДА суттєво зросло співвідношення холестерол/фосфоліпід порівняно із тваринами контрольної групи.

У разі додавання до раціону цитрату магнію у плазмі крові тварин ДГ2 та ДГ4 зафіксовано зниження вмісту загальних ліпідів на 2,2 і 8,2 % відповідно, тоді як у крові тварин ДГЗ – зростання їх вмісту на 6,97 % порівняно з тваринами із ЦДА, що може свідчити про інтенсифікацію ліпідного обміну. Застосування цитрату магнію у досліджуваних дозах сприяло частковій нормалізації показників ліпідного обміну. Зокрема, знижувався вміст холестеролу на 17 %, вільних жирних кислот – на 1,9 %, триацилгліцеролів – на 17,8 % та ефірів холестеролу – на 33,5 %, однак підвищувався вміст фосфоліпідів на 36,6 % і діацилгліцеролів на 50,3 % у плазмі крові щурів ДГЗ порівняно з тваринами із ЦДА. Проте дія цитрату магнію у дозах 100, 250 і 500 мг  $Mg^{2+}$ /кг призводила до зменшення співвідношення холестерол/фосфоліпід у плазмі крові на 44,4, 39,7 і 65,1 % відповідно, що може свідчити про зниження ймовірності виникнення гіперхолестеролемії та розвитку атеросклерозу у тварин, а також покращення транспортної функції плазми крові щодо ліпідів на тлі ЦДА.

**Сумісний вплив цитратів магнію та хрому на концентрацію інсуліну, С-пептиду та глюкози в плазмі крові щурів за умов цукрового діабету.** У результаті проведених досліджень виявлено, що у плазмі крові тварин ДГ1 з ЦДА концентрація інсуліну та С-пептиду знижувалась на 34,5 та 64,6 % порівняно з тваринами КГ (рис.3). Це може свідчити про порушення секреції інсуліну внаслідок алоксан-індукованого руйнування  $\beta$ -клітин острівців Лангенгарса, що зумовлене посиленням утворення активних форм Оксигену та їхнього впливу на фрагментацію ДНК в  $\beta$ -клітинах підшлункової залози.

Проте за сумісного впливу цитратів магнію і хрому у дозах 250 мг  $Mg^{2+}$  та 25 мкг  $Cr^{3+}$ /кг (ДГ2) та 250 мг  $Mg^{2+}$  і 10 мкг  $Cr^{3+}$ /кг (ДГ3), спостерігали підвищення

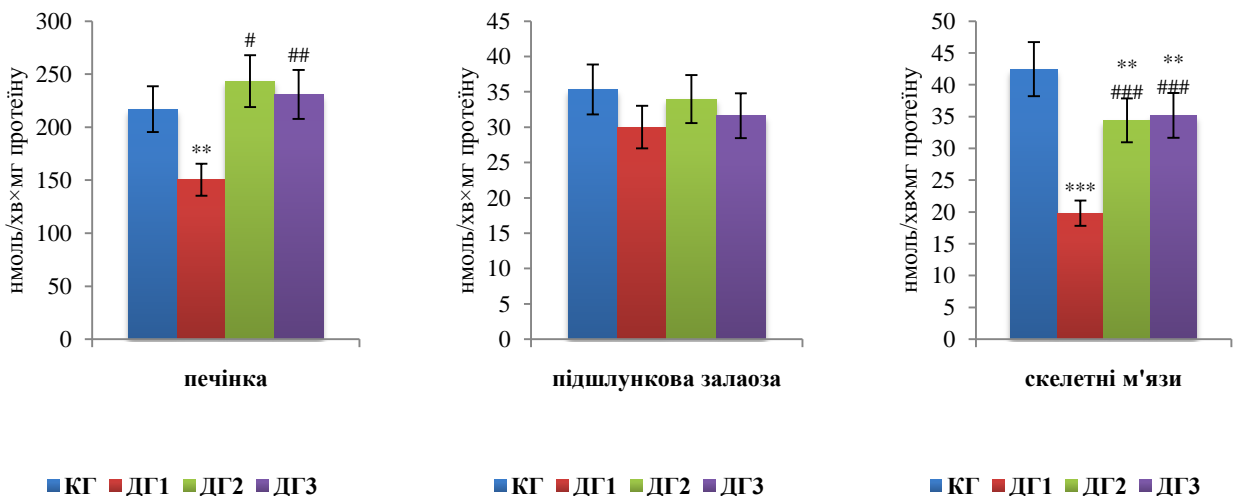
концентрації інсуліну та С-пептиду і зниження концентрації глюкози в плазмі крові порівняно з показниками тварин ДГ1 з ЦД<sub>A</sub>.



**Рис. 3.** Концентрація інсуліну, С-пептиду та глюкози в плазмі крові щурів із ЦД<sub>A</sub> (ДГ1) та за сумісного впливу цитратів магнію і хрому у дозах 250 мг Mg<sup>2+</sup> і 25 мкг Cr<sup>3+</sup>/кг (ДГ2) та 250 мг Mg<sup>2+</sup> і 10 мкг Cr<sup>3+</sup>/кг (ДГ3).

На тлі зниження концентрації інсуліну в плазмі крові тварин із ЦД<sub>A</sub> спостерігалось підвищення концентрації глюкози порівняно з тваринами КГ. Проте за сумісного додавання цитратів магнію і хрому концентрація глюкози в плазмі крові тварин ДГ2 та ДГ3 вірогідно знижувалася на 18,4 і 25,3 % відповідно, порівняно з показниками тварин ДГ1 з ЦД<sub>A</sub>, однак була вищою, ніж у тварин КГ. Це свідчить про те, що Mg<sup>2+</sup> і Cr<sup>3+</sup> позитивно впливають на секрецію інсуліну β-клітинами підшлункової залози та зниження концентрації глюкози за ЦД<sub>A</sub>.

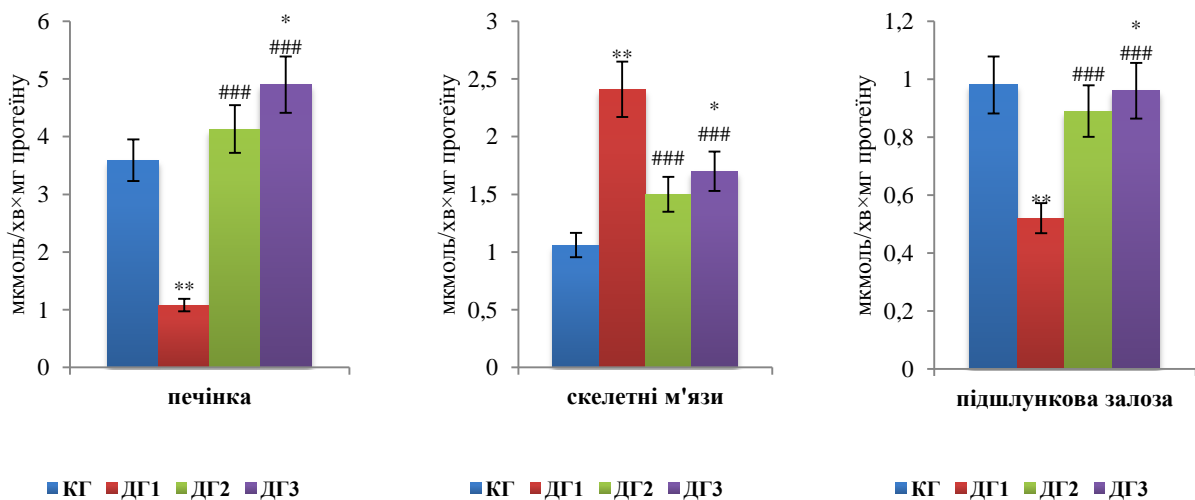
**Сумісний вплив цитратів магнію і хрому на показники вуглеводного обміну в крові і тканинах щурів із цукровим діабетом.** Досліджуючи активність ензимів вуглеводного обміну у тканинах щурів на другому етапі роботи (рис. 4), виявили зниження глюкозо-6-фосфатдегідрогеназної активності на 31,8 % у печінці, на 53,3 % – у м'язах та на 15,0 % – у підшлунковій залозі тварин ДГ1 порівняно з тваринами КГ.



**Рис. 4.** Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназна активність у тканинах щурів із ЦД<sub>A</sub> (ДГ1) та за сумісного впливу цитратів магнію і хрому у дозах 250 мг Mg<sup>2+</sup> і 25 мкг Cr<sup>3+</sup>/кг (ДГ2) та 250 мг Mg<sup>2+</sup> і 10 мкг Cr<sup>3+</sup>/кг (ДГ3).

Такі зміни, ймовірно, зумовлені неспроможністю  $\beta$ -клітин підшлункової залози в достатній кількості синтезувати інсулін. За сумісного додавання до раціону щурів 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), спостерігалось достовірне зростання  $\Gamma$ -6-ФДГ-ної активності, зокрема в печінці – на 60,0 і 53,3 %; у м'язовій тканині – на 73,7 і 77,5 %, у підшлунковій залозі – на 13,2 і 5,3 % відповідно.

Отримані під час експериментальних досліджень результати показали, що ЛДГ-на активність у тканинах тварин ДГ1 із діабетом знижувалась у печінці та підшлунковій залозі тварин (на 69,9 та 47,15 %), та підвищувалась у м'язах (у 2,3 разу) порівняно з тваринами КГ (рис. 5). Підвищення активності досліджуваного ензиму в скелетних м'язах може бути зумовлене зростанням активності ізоензимів ЛДГ4 та ЛДГ5, що переважають у цій тканині, та посиленням анаеробного метаболізму. Загалом зміни лактатдегідрогеназної активності у тканинах можуть бути зумовлені надмірною гіперглікемією, а також недостатньою дією інсуліну.



**Рис. 5. Лактатдегідрогеназна активність у тканинах щурів із ЦД<sub>A</sub> (ДГ1) та за сумісного впливу цитратів магнію і хрому у дозах 250 мг  $Mg^{2+}$  та 25 мкг  $Cr^{3+}/кг$  (ДГ2) та 250 мг  $Mg^{2+}$  та 10 мкг  $Cr^{3+}/кг$  (ДГ3).**

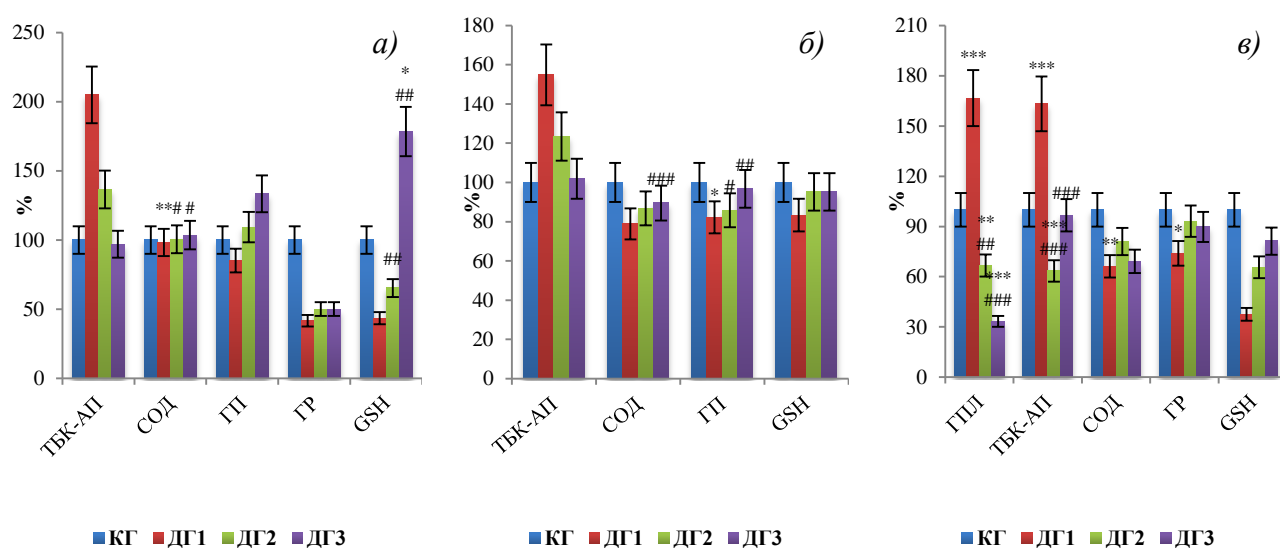
У всіх досліджуваних тканинах тварин ДГ1 із ЦД<sub>A</sub> виявлено зростання вмісту L-лактату і зниження вмісту пірувату порівняно з тваринами КГ. Це слугує підтвердженням зміни лактатдегідрогеназної активності та, ймовірно, зумовлене зниженням активності піруватдегідрогеназного комплексу і пригніченням мітохондріального дихання на тлі гіперглікемії, що розвивається при ЦД<sub>A</sub>.

За сумісного застосування цитратів магнію і хрому частково нормалізувався рівень лактатдегідрогеназної активності у тканинах тварин ДГ2 та ДГ3. Зокрема в печінці вона зростала у 3,8 і 4,5 разу, у підшлунковій залозі – на 70,8 та 86,9 %, у м'язовій тканині – знижувалась на 37,8 та 27,8 % порівняно з тваринами ДГ1 з ЦД<sub>A</sub>. Також, за сумісного застосування цих сполук вміст L-лактату знижувався, а вміст пірувату зростав у тканинах тварин ДГ2-ДГ3 порівняно із тваринами ДГ1 з ЦД<sub>A</sub>.

У крові дослідних тварин застосування цитрату магнію разом із цитратом хрому сприяло частковій нормалізації активності ензимів вуглеводної ланки метаболізму з подальшим підвищенням Г-6-ФДГ-ної активності та зниженням ЛДГ-ної на тлі ЦД<sub>A</sub>.

Нормалізацію Г-6-ФДГ-ної та ЛДГ-ної активності в організмі тварин, які отримували сполуки Магнію та Хрому, можна пояснити тим, що досліджувані макро- та мікроелементи можуть виступати в ролі активаторів клітинних мембранних рецепторів, зокрема інсуліну. Це, в свою чергу, може призводити до часткової стабілізації функціонування окремих ланок вуглеводного обміну.

**Вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів та активність ключових ензимів антиоксидантної системи в крові та тканинах щурів із цукровим діабетом та за сумісного впливу цитратів магнію і хрому.** Розвиток цукрового діабету супроводжувався підвищенням вмісту ГПЛ (в середньому в 3,7 разу) і ТБК-активних продуктів (в середньому в 2,6 разу), як у крові, так і в усіх досліджуваних тканинах внутрішніх органів дослідних тварин другого етапу досліджень. Збільшене утворення вільних радикалів у організмі за умов ЦД<sub>A</sub> зумовлює порушення про/антиоксидантного балансу, що в свою чергу, супроводжується змінами в активності ензимів АОЗ (рис. 6).



**Рис. 6. Характерні прооксидантно-оксидантні показники в печінці (а), скелетних м'язах (б) та підшлунковій залозі (в) у щурів із ЦД<sub>A</sub> (ДГ1) та за сумісного впливу цитратів магнію і хрому у дозах 250 мг Mg<sup>2+</sup> і 25 мкг Cr<sup>3+</sup>/кг (ДГ2) та 250 мг Mg<sup>2+</sup> і 10 мкг Cr<sup>3+</sup>/кг (ДГ3).**

Проведенні дослідження вказують на зниження ГП-ної та СОД-ної активності, а також вмісту GSH у тканинах печінки, скелетних м'язів та підшлункової залози, ГР-ної – у тканинах печінки та підшлункової залози тварин ДГ1 з ЦД<sub>A</sub> порівняно з тваринами КГ (рис. 6).

За сумісного застосування цитрату магнію та хрому послаблювалися процеси пероксидації ліпідів із подальшим зниженням вмісту продуктів ПОЛ та нормалізації активності ензимів АОЗ у крові та досліджуваних тканинах

дослідних тварин, із наближенням показників до відповідного рівня у тварин контрольної групи. Так, спостерігалось підвищення СОД-ної активності від 2,3 до 22,4 %, ГП-ної активності від 3,6 до 28,3 % та вмісту відновленого глутатіону від 14,3 до 75 % у всіх досліджуваних тканинах (рис. 6).

**Вплив лимонної кислоти на досліджувані показники вуглеводного обміну й антиоксидантну систему в крові та печінці щурів із цукровим діабетом.** Встановлено, що споживання 1,25 % водного розчину лимонної кислоти (1,7 г /кг маси тіла) практично не впливало на метаболічні процеси в організмі тварин із ЦДА. Натомість вміст глюкози в плазмі крові тварин ДГ2 як і в тварин ДГ1 зростав порівняно з концентрацією глюкози у тварин КГ. За цих умов спостерігалось зниження Г-6-ФДГ-ної активності, зростання вмісту продуктів ПОЛ, зниження активності ензимів глутатіонової ланки захисту та вмісту відновленого глутатіону в еритроцитах крові та печінці дослідних тварин. У тварин ДГ2 які споживали розчин лимонної кислоти, показники вуглеводного обміну та системи АОЗ суттєво не відрізнялися від показників у тварин ДГ1 із ЦДА.

Загалом дослідження, представлені у дисертації, показали, що за обраних експериментальних схем запобігання розвитку ЦДА цитратні сполуки магнію і хрому здатні проявляти виражену гіпоглікемічну дію, частковий нормалізуючий вплив на окремі показники вуглеводного та ліпідного обміну, а також на стан системи антиоксидантного захисту організму. Поєднання гіпоглікемічного та антиоксидантного ефекту, а також нормалізуючого впливу на досліджувані метаболічні процеси є підставою рекомендувати цитрати магнію і хрому, отримані методом нанотехнології, в обраних дозах, як такі, що можуть стати основою для створення нових ефективних препаратів для профілактики та терапії 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 ЦДА 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 ЦДА встановлено зниження глюкозо-6-фосфатдегідрогеназної активності. У той же час лактатдегідрогеназна активність

у тканинах скелетних м'язів тварин із ЦДА підвищувалась, а в печінці та підшлунковій залозі – знижувалась.

2. Введення щурам розчину цитратів магнію (100, 250, 500 мг  $Mg^{2+}$ /кг маси тіла) та хрому (10, 25 мкг  $Cr^{3+}$ /кг маси тіла) сприяло запобіганню розвитку гострої гіперглікемії за ЦДА, 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 ЦДА рівень С-пептиду та інсуліну знижувався. За сумісної дії цитратів магнію (250 мг  $Mg^{2+}$ /кг м.т.) та хрому (25 мкг  $Cr^{3+}$ /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 ЦДА 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 ЦДА зумовлювало зниження вмісту продуктів пероксидного окиснення ліпідів, як у крові, так і в тканинах.

5. За умов ЦДА 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 ЦДА 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 ЦДА.

8. За умов ЦДА 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  $Mg^{2+}$ /кг маси тіла та цитрату хрому у дозі 25 мкг  $Cr^{3+}$ /кг маси тіла.



## 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/антиоксидантний 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 провела дослідження активності ензимів та метаболітів вуглеводного обміну, 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 провела визначення класів ліпідів, 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 провела дослідження активність ензимів антиоксидантного захисту, 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).*

## АНОТАЦІЇ

**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 за спеціальністю 03.00.04 – біохімія. – Інститут біології тварин НААН, Львів, 2018.

Метою дисертаційної роботи було 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.

Уперше встановлено виражену антиоксидантну дію цитратів Mg і Cr за досліджуваної патології, про що свідчить зниження вмісту ТБК-активних продуктів, гідропероксидів ліпідів і деяка нормалізація активності ензимів антиоксидантного захисту в крові та тканинах тварин. З'ясовано, що гіпоглікемічна дія досліджуваних цитратних сполук може реалізуватися шляхом активації досліджуваних ензимів вуглеводного обміну, нормалізації аеробного гліколізу і, як наслідок, зниженням рівня глюкози в крові та підвищенням концентрації інсуліну та С-пептиду в плазмі крові щурів із ЦДА. Вперше показано, що досліджувані нами сполуки знижують вміст холестеролу та загальних ліпідів у плазмі крові за цукрового діабету, що може свідчити про їх антиатерогенний ефект.

На основі отриманих експериментальних даних обґрунтовано позитивний вплив цитратів магнію і хрому, синтезованих методом нанотехнології, на обмінні процеси в організмі щурів за умов ЦДА. 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.

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

**Шатинская Е. А. Биохимические процессы в организме крыс с экспериментально индуцированным диабетом при воздействии цитратов магния и хрома. – Рукопись.**

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.04 – биохимия. – Институт биологии животных НААН, Львов, 2018.

Целью диссертационной работы было выяснить влияние цитратов магния и хрома, синтезированных методом нанотехнологии, на отдельные звенья углеводного и липидного обмена, про/антиоксидантный статус в крови и тканях крыс с экспериментальным алоксановым сахарным диабетом (СДА) для разработки новых подходов коррекции метаболических нарушений.

Впервые установлено выраженное антиоксидантное воздействие цитратов Mg и Cr при исследуемой патологии, о чем свидетельствует снижение содержания ТБК-активных продуктов, гидроперекисей липидов и повышение активности ферментов антиоксидантной защиты в крови и тканях животных. Установлено, что гипогликемическое воздействие исследуемых цитратных соединений может реализовываться путем активации исследуемых ферментов углеводного обмена, нормализации аэробного гликолиза и, как следствие, снижением уровня глюкозы в крови и повышением концентрации инсулина и С-пептида в плазме крови крыс с СД. Впервые показано, что исследуемые соединения снижают содержание холестерина и общих липидов в плазме крови при сахарном диабете, что может свидетельствовать об их антиатерогенном эффекте.

На основании полученных экспериментальных данных обосновано положительное влияние цитратов магния и хрома, синтезированных методом нанотехнологии, на обменные процессы в организме крыс при СДА. Предложен метод применения разных доз цитратов магния и хрома с целью предупреждения развития и коррекции гипергликемии у животных, что может стать основой для разработки медицинских средств для профилактики и лечения сахарного диабета и его осложнений.

**Ключевые слова:** сахарный диабет, цитрат магния, цитрат хрома, инсулин, гипергликемия, углеводный обмен, липидный обмен, оксидативный стресс, система антиоксидантной защиты, крысы.

### 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 some biochemical features of the carbohydrate and lipid metabolism, antioxidant defense system in blood and tissues of rats with experimental diabetes under the influence different doses of magnesium (100, 250 and 500 mg Mg<sup>2+</sup>/kg bw) and chromium (10 and 25 µg Cr<sup>3+</sup>/kg bw) citrates and develop a new approaches of correction the metabolic disorders. Citrate compounds were synthesized by nanotechnology method.

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.

Oppression of the functional activity antioxidant defense system and intensification of the lipids peroxidation in diabetic rats were detected during experiments. It has been shown increase the content of TBA-active products, lipid oxidation products and decrease activity of the antioxidant enzymes in the rats' organism with experimental diabetes mellitus. However, pronounced antioxidant effect of magnesium and chromium citrates under the diabetes was detected. As evidence, it has been shown that oral introduction of macro- and micronutrient citrates compounds decrease the content of TBA-active products, lipid oxidation products and increase activity of the antioxidant enzymes in the rats' organism with experimental diabetes mellitus. Besides, 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  $\mu g$   $Cr^{3+}$ / kg bw) has been contributed to the improvement of the functional status of the glutathione defense system compared to these indexes in diabetic animals.

It was established significant increase glucose concentration and decreased insulin and C-peptide concentrations in blood plasma diabetic rats. Also activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase in red blood cell, liver, skeletal muscle and pancreas was decreased in diabetic rats. However, activity of the lactate dehydrogenase increased in red blood cell and skeletal muscle, but decreased in liver and pancreas in diabetic rats. Hypoglycemic action of investigated compounds was established. Activation enzymes of carbohydrate metabolism and normalization aerobic glycolysis were observed under action of citrate compounds. As a consequence, under the influence of magnesium citrate, both independently and consistently with chromium citrate, in the animals had shown significant increase insulin and C-peptide concentrations and, also, decrease glucose concentration. Preferable normalizing effect was observed when applied magnesium citrate in dose 250 mg  $Mg$ / kg bw and with chromium citrate in dose 25  $\mu g$   $Cr$ /kg bw.

The content of total lipids, phospholipids, cholesterol and free fatty acids were decreased in diabetic rats. It was shown for the first time that the studied compounds decrease the content of total lipids, phospholipids, cholesterol and free fatty acids in blood plasma of diabetic rats under influence of magnesium and chromium citrates. These data could be evidence of anti-atherogenic effects of the investigated compounds. The method of applying magnesium and chromium citrates in studied doses for prevention and correction of hyperglycemia was proposed. It could be the base for the creating a new medical remedies for the prevention and treatment of diabetes mellitus.

Effectiveness of the magnesium citrate on its own and in combination with chromium citrate on the metabolism of rats' organism with diabetes was experimentally substantiated. It was proved that complex of citrates can prevent and correct of metabolic disorders under diabetes mellitus. The obtained data broaden the understanding of the biochemical mechanisms of hypoglycemic effect of these compounds.

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