

Національний фармацевтичний університет
Міністерство охорони здоров'я України

Національний фармацевтичний університет
Міністерство охорони здоров'я України

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Анісімова Марія Сергіївна

УДК 615.243:616.33–002.44:615.451.16:665.335.82:577.352.24

ДИСЕРТАЦІЯ

**Експериментальне обґрунтування застосування фітокомпозиції на основі
сухого екстракту з листя журавлини для лікування метаболічного синдрому
та цукрового діабету 2 типу**

226 – Фармація, промислова фармація

22 – Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії.

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

М.С. Анісімова

Науковий керівник Кононенко Надія Миколаївна, доктор медичних наук,
професор

Харків – 2025

АНОТАЦІЯ

Анісімова М.С. Експериментальне обґрунтування застосування фітокомпозиції на основі сухого екстракту з листя журавлини для лікування метаболічного синдрому та цукрового діабету 2 типу.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 226 – Фармація, промислова фармація (22 – Охорона здоров'я). – Національний фармацевтичний університет, МОЗ України, Харків, 2025.

Дисертаційна робота присвячена експериментальному дослідженню антидіабетичних властивостей сухого екстракту з листя журавлини великоплідної (*Vaccinium macrocarpon*) з додаванням амінокислот, для корекції стану інсулінорезистентності (ІР) та, відповідно, як перспективних компонентів комплексної терапії цукрового діабету 2 типу (ЦД2) та метаболічного синдрому (МС). Вибір листя журавлини великоплідної як сировини для одержання поліфенольного екстракту обґрунтовано високим вмістом у ньому фенольних сполук, які відповідають за гіпоглікемічну дію, зумовлену наявністю простих фенолів (арбутин); флавоноїдів, які покращують мікроциркуляцію тканин за рахунок мембраностабілізуючої та антиоксидантної дії; аскорбінової кислоти; гідроксикоричних кислот, зокрема галової та хлорогенової кислоти. Журавлина має значну сировинну базу, розповсюджена у соснових і сосново-березових лісах, здебільшого на Поліссі. Доцільним є посилення гіпоглікемічної активності при модифікації сухого екстракту з листя журавлини амінокислотами, які при ІР значно покращують метаболічні процеси.

Тому метою цієї роботи стало експериментальне обґрунтування доцільності розробки нового лікарського засобу на основі сухого екстракту з листя журавлини, а також таблеток комбінованого складу «Фітаргін-комбі», до складу яких входять сухий екстракт з листя журавлини, L-аргінін, таурин і гліцин для попередження та лікування цукрового діабету 2 типу та метаболічного синдрому.

У першому розділі дисертації узагальнені дані літератури щодо сучасного

погляду на молекулярно-метаболичні механізми розвитку ЦД2 та МС, охарактеризована проблема лікування МС та ЦД2. Надані механізми дії сучасних лікарських засобів, які застосовуються для фармакотерапії МС, ЦД2 та його ускладнень. Проведено аналіз ролі фітотерапії в профілактиці та комплексному лікуванні МС, ЦД2 та актуалізовані перспективи створення нових андидіабетичних засобів природного походження. Обґрунтована значущість проблеми пошуку оптимальних засобів лікування та профілактики МС, ЦД2 та його ускладнень.

У другому розділі охарактеризовані об'єкти досліджень та детально описаний дизайн експерименту із пошуку найбільш ефективних доз досліджуваної субстанції. Обґрунтовано застосування експериментальних моделей МС та ЦД2 для поглибленого вивчення таблеток комбінованого складу «Фітаргін-комбі» (ФК). Наведено методи досліджень щодо вивчення гіпоглікемічної активності, методи визначення біохімічних показників, які характеризують гепатопротекторну, ліпотропну та антиоксидантну дію. Представлено комплекс морфофункціональних досліджень підшлункової залози та печінки, які були виконані з метою оцінки панкрео- та гепатопротекторної дії ФК на тлі МС та ЦД2.

У третьому розділі наведені результати та обговорення скринінгових досліджень гіпоглікемічної дії фітокомпозиції на основі екстракту з листя журавлини великоплідної та амінокислот, які були проведені на тваринах з нормальним вуглеводним гомеостазом при одноразовому та 14-денному введенні і за умов порушеної толерантності до глюкози. На першому етапі встановлено, що виражений гіпоглікемічний ефект фітокомпозиції достовірно проявляється у дозі 100 мг/кг та залишається стабільно однаковим при застосуванні вищої дози – 125 мг/кг за умови її застосування протягом 14 днів у нормоглікемічних щурів при застосуванні орального тесту толерантності до глюкози (ОТТГ). При порушеній толерантності до глюкози, яка викликана дексаметазоном, було доведено пригнічення гіперглікемії фітокомпозицією в дозах 100 і 125 мг/кг, що дозволило обрати для подальшого вивчення дозу 100 мг/кг як умовнотерапевтичну. Також на основі фітокомпозиції були розроблені нові комбіновані таблетки «Фітаргін-комбі» та підтверджена їх найбільш ефективна доза за антигіперглікемічною дією – 100

мг/кг. При дослідженні гострої токсичності нових комбінованих таблеток було доведено, що як при внутрішньошлунковому введенні, так і внутрішньоочеревинному введенні, вони відносяться до V класу «практично нетоксичні речовини» та не викликають гіпоглікемії у нормоглікемічних тварин.

У четвертому розділі обговорені результати подальшого поглибленого дослідження ФК та вивчення можливих механізмів його антидіабетичної дії. Досліджувалися гіпоглікемічна, гіполіпідемічна, антиоксидантна, панкрео- та гепатопротекторна дія ФК при експериментальному МС, викликаного високоцукровою дієтою (ВЦД) у щурів. Утримання щурів на ВЦД впродовж 8 тижнів викликало ожиріння, при цьому приріст маси тіла у щурів групи контрольної патології (КП) збільшувався на 49,8 % ($p < 0,05$) за показник інтактного контролю (ІК), збільшення приросту маси тіла тварин супроводжувалося зростанням відносної маси вісцерального жиру в 2,4 рази ($p < 0,05$). Характер розвитку глікемічних кривих, отриманих під час проведення внутрішньоочеревинного тесту толерантності до глюкози (ВЧТТГ), свідчив про розвиток у тварин порушеної толерантності до глюкози [186]. У тварин групи КП встановлено порушення в утилізації глюкози, що проявлялося підвищенням рівня глюкози в крові на 63,2 % ($p < 0,05$) порівняно з базальною глікемією на 15-й хвилині та збереженням її впродовж тесту на рівні, який значно перевищував показник ІК і не досягав фізіологічної норми на 60-й хвилині спостереження. Інтегральний показник площі під глікемічними кривими (AUC_{glu}) в 1,6 рази ($p < 0,05$) перевищував відповідний показник у групі ІК, що також підтверджує наявність інтолерантності до глюкози, яке відбувається внаслідок порушення утилізації глюкози в печінці через надлишкове споживання цукрів. За допомогою короткого інсулінового тесту підтверджено наявність інсулінорезистентності, що проявлялось суттєвим зниженням коефіцієнту чутливості до інсуліну у 3 рази ($p < 0,05$).

Порушення процесів утилізації глюкози у щурів КП супроводжувалося виснаженням запасів глікогену у печінці в 2,1 рази ($p < 0,05$), що свідчить про наявність печінкової резистентності до дії інсуліну і призводить до активізації глікогенолізу й глюконеогенезу. Спостерігалось збільшення субстрату

глюконеогенезу – піровиноградної кислоти (ПВК) у 1,7 рази ($p < 0,05$). Зниження активності сукцинатдегідрогенази (СДГ) у печінці у 2,2 рази ($p < 0,05$) вказувало на погіршення енергозабезпечення клітин печінки за умови ВЦД.

Дисліпідемія, яка супроводжувала МС, мала певні зміни ліпідного спектру: достовірно підвищувався рівень тригліцеридів (ТГ) в 2,5 рази ($p < 0,05$), холестерину (Хс) – в 2,7 рази ($p < 0,05$), вільних жирних кислот (ВЖК) – в 2,9 рази ($p < 0,05$) та ліпопротеїнів низької густини (ЛПНГ) майже удвічі порівняно з К. Вміст холестерину ліпопротеїдів високої густини (Хс-ЛПВГ) виявляв невиразну тенденцію до підвищення. Накопичення ТГ у сироватці крові щурів КП свідчить про активацію ліполізу у жировій тканині та порушення утилізації ліпідів у печінці і служить опосередкованим доказом розвитку печінкової ІР. Підвищення рівня Хс та ЛПНГ поряд з незмінним рівнем Хс-ЛПВГ вказує на початковий розвиток процесів атерогенезу у щурів з МС. Таблетки ФК достовірно сповільнювали зростання маси тіла на 40,4 % ($p < 0,05$) та запобігали розвитку вісцерального ожиріння в 1,31 рази ($p < 0,05$) на рівні метформіну та достовірно перевершували Арфазетин.

Восьмитижневе введення ФК призводило до зниження рівня глюкози в крові у щурів з ІР на 30-й хвилині ОТТГ на 93 % ($p < 0,05$) порівняно з КП, а також гальмування розвитку ІР і підвищення толерантності до глюкози. За здатністю відновлювати глікогенутворювальну функцію печінки ФК достовірно перевищував Арфазетин та діяв на рівні метформіну. За можливістю відновлювати вміст ПВК та активність СДГ у печінці ФК та метформін були на однаковому рівні. Введення ФК суттєво попереджало розвиток порушень ліпідного обміну, викликаних ВЦД: у сироватці крові спостерігали достовірне зниження вмісту Хс, ЛПНГ, ТГ, Хс-ЛПВГ та ВЖК до рівня інтактних тварин. Встановлена позитивна динаміка досліджуваних показників під дією комбінованого засобу, свідчить про виразну гіполіпідемічну та гіпохолестеринемічну дію.

Також, ФК пригнічував оксидативний стрес, що свідчить про його антиоксидантну активність. Достовірно відновлювався рівень маркерів антиоксидантного захисту: відновленого глутатіону (GSH) в гомогенатах печінки

та каталази в печінці та сироватці крові. ФК за антиоксидантними властивостями перевищував Арфазетин і метформін.

Встановлено, що при МС, індукованого ВЦД, у щурів виникають морфологічні ознаки пригнічення інсулярного апарату: підвищувалась чисельність дрібних панкреатичних островців (ПО) і зменшувалась частка середніх; посилене функціонування β -клітин приводить до гіпертрофії, дистрофії і, в кінцевому підсумку, до їхньої загибелі, що є притаманним для МС [159]. У печінці надмірне надходження вуглеводів призводило до пригнічення глікогенутворюючої функції (виснаження запасів глікогену у гепатоцитах) та розвитку стеатогепатозу (накопиченню жиру у клітинах печінкової паренхіми).

В підшлунковій залозі (ПЗ) щурів після введення ФК в ендокринній паренхімі виявлено менші деструктивно-дистрофічні прояви (не виявлено ознак гіпертрофії, дистрофії β -клітин) та підвищення морфологічно більш повноцінних інсуліноцитів. У печінці щурів після введення ФК загальна гістоархітектоніка паренхіми не змінена, відновлено накопичення глікогену та відсутність жиру в гепатоцитах. За виразністю протекторного впливу на інсулярний апарат ПЗ щурів ФК перевищував Арфазетин та не поступався метформіну, а за ступенем відновлення порушених метаболічних змін у печінці перевищував обидва.

У н'ятому розділі обговорені результати впливу ФК на показники вуглеводного, ліпідного обмінів, процеси неферментативного глікозилювання, показники перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), стан антиоксидантної системи (АОС), ендотеліальної дисфункції (ЕД), морфофункціональний стан ПЗ та печінки на моделі стрептозотоцин-нікотинамід-індукованого на тлі високожирової дієти (ВЖД) ЦД2, а також дослідження антидіабетичних властивостей таблеток комбінованого складу на моделі дексаметазон-індукованого ЦД2.

На моделі дексаметазон-індукованого ЦД2 розвивалась дієліпідемії за умов ІР, подібної до такої у хворих на ЦД2: підвищувався вміст ЗЛ і Хс у 1,7 рази ($p < 0,05$) та 1,5 рази ($p < 0,05$), відповідно, а ТГ – у 3,6 рази ($p < 0,05$), знижувався рівень Хс-ЛПВГ – в 1,6 рази ($p < 0,05$) та підвищувався Хс-ЛПНГ – в 1,5 рази ($p < 0,05$) порівняно з групою ІК. Під дією ФК рівень Хс, ЗЛ та ТГ вірогідно знижувався в

1,4, 1,8 та 3,3 рази ($p < 0,05$), відповідно, досягаючи рівня ІК. За застосування препаратів порівняння відбувалося достовірне зниження ТГ щодо значень КП, зменшувався рівень ЗЛ під дією метформіну, однак рівень Хс залишався підвищеним під впливом обох референс препаратів.

При застосуванні ФК спостерігалось підвищення концентрації Хс-ЛПВГ – в 1,4 рази ($p < 0,05$) та зниження концентрації Хс-ЛПНГ – в 1,4 рази ($p < 0,05$) відносно показників групи КП. За вираженістю гіполіпідемічної дії ФК перевищував Арфазетин і дорівнював активності метформіну.

На моделі дексаметазон-індукованого ЦД2 під впливом ФК відбувалося зменшення вмісту дієнових кон'югант (ДК) у 3,2 рази ($p < 0,05$), а тіобарбитурової кислоти активних продуктів (ТБК-АП) – в 2,5 рази ($p < 0,05$) порівняно з КП. Відбувалось підвищення рівня GSH в 1,8 рази порівняно з тваринами із експериментальним ЦД2, що свідчило про відновлення системи антиоксидантного захисту. Встановлено, що ФК має значну антигіперглікемічну дію за рахунок підвищення чутливості периферичних тканин до дії інсуліну, при цьому зменшуючи прояви ІР; покращується ЕД, що підтверджувалося зниженням вмісту оксиду азоту та цитруліну й підвищенням концентрації аргініну.

ЦД2, індукований введенням стрептозотоцину з попереднім введенням нікотинамідом на тлі ВЖД характеризувався значною гіперглікемією (підвищення рівня глюкози в 2,13 рази ($p < 0,05$) порівняно з ІК) та гіперінсулінемією (зростання рівня інсуліну у 1,68 рази ($p < 0,05$) у порівнянні з групою ІК). Уведення фітозасобу піддослідним тваринам протягом 28 діб супроводжувалося достовірним зниженням рівня глюкози на 42,3 % ($p < 0,05$), інсуліну - на 36 % ($p < 0,05$) у порівнянні з групою КП. Зменшення індексу НОМА-ІР на 45,6 % ($p < 0,05$) у тварин, які отримували ФК, свідчило про підвищення чутливості до дії інсуліну периферичних тканин.

Лікувально-профілактичне введення ФК призводило до вираженого гіполіпідемічного та гіпохолестеринемічного ефекту: вміст Хс знижувався в 2,3 рази ($p < 0,05$), ТГ – в 3,5 рази ($p < 0,05$), ЛПНГ – в 2 рази ($p < 0,05$) відносно КП. При цьому рівень антиатерогенної фракції ЛПВГ зростав, порівняно з аналогічним показником нелікованої групи, в 3,1 рази ($p < 0,05$). За здатністю пригнічувати

атерогенні процеси та активізувати механізми антиатерогенного захисту ФК значно перевищував препарати порівняння. За тривалого введення ФК рівень базальної глікемії в щурів зменшився на 42,3 % ($p < 0,05$), а вміст глікозильованого гемоглобіну – на 32 % ($p < 0,05$). Спостерігалось погіршення енергозабезпечення клітин печінки та деградація мембран гепатоцитів, про що свідчило зниження активності СДГ у 3,2 рази ($p < 0,05$) в печінці діабетичних щурів. Під впливом ФК встановлено відновлення запасів глікогену в печінці та активність СДГ до рівня ІК; нормалізувались процеси ПОЛ/АОС про що свідчило зниження $K_{\text{ПОЛ/АОС}}$ до рівня ІК і гальмування окиснювальної модифікації білків: рівень ранніх і пізніх маркерів пошкодження клітинних білків знизився у середньому на 58 % ($p < 0,05$) відносно групи КП. Арфазетин менш виражено впливав на гальмування процесів ПОЛ і не обмежував окиснювальну модифікацію білків. ФК стимулював регенераційні процеси в інсулін-продукувальному апараті ПЗ щурів і на морфологічному рівні виявив гепатопротекторні властивості, значно зменшуючи прояви токсико-дистрофічної дії діабетогенів і відновлюючи жировий і вуглеводний обмін у гепатоцитах, при цьому не поступався метформіну та перевищував Арфазетин.

Заключний розділ дисертації присвячений обговоренню та узагальненню результатів досліджень. Наводиться викладена в дисертації наукова інформація, представлені результати вирішення поставлених завдань. Відображена наукова новизна та перспективи подальшого дослідження досліджуваного засобу.

Результати дисертаційних досліджень упроваджено в навчальний процес низки закладів вищої освіти фармацевтичного (медичного) профілю України.

Ключові слова: цукровий діабет 2 типу, метаболічний синдром, інсулінорезистентність, гіпоглікемічна активність, журавлина, екстракт листя; модифікація, гепатопротекторна дія, антиоксидантна активність, ліпотропна активність, панкреопротекторна дія, L-аргінін, таурин, гліцин.

Список публікацій здобувача, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

Статті в наукових фахових виданнях

1. Кононенко Н.М., Танська М.С. Дослідження антигіперглікемічних властивостей нової фітокомпозиції на моделі цукрового діабету 2 типу. *Фітотерапія. Часопис*. 2023. № 4 (55). С. 22-26. <https://doi.org/10.32782/2522-9680-2023-4-22>. (Scopus). (Особистий внесок - проведення експериментальних досліджень, статистичної обробки результатів, узагальнення результатів, написання та оформлення статті до друку; Кононенко Н.М. – формулювання цілей та задач дослідження, допомога в проведенні дослідження та аналізі результатів).

2. Кононенко Н.М., Танська М.С. Вплив нової фітокомпозиції на процеси неферментативного глікозилювання, показники ліпідного обміну та баланс пероксидного окиснення ліпідів на моделі цукрового діабету 2 типу. *Фітотерапія. Часопис*. 2024. № 2. С. 97-103. <https://doi.org/10.32782/2522-9680-2024-2-97>. (Scopus). (Особистий внесок - проведення експериментальних досліджень, статистичної обробки результатів, узагальнення результатів, написання та оформлення статті до друку; Кононенко Н.М. – формулювання цілей та задач дослідження, допомога в проведенні дослідження та аналізі результатів).

3. Чікіткіна В., Танська М.С. Скринінгові дослідження гіпоглікемічної дії фітокомпозиції на основі поліфенольного екстракту з листя журавлини та амінокислот. *Сучасна медицина, фармація та психологічне здоров'я*. 2024. Випуск 1 (15). С. 119-125. <https://doi.org/10.32689/2663-0672-2024-1-21>. (Особистий внесок - проведення експериментальних досліджень, статистичної обробки результатів, узагальнення результатів, написання та оформлення статті до друку; Чікіткіна В. – формулювання цілей та задач дослідження, допомога в проведенні дослідження та аналізі результатів).

4. Кононенко Н.М., Танська М.С. Вплив нової фітокомпозиції на формування ендотеліальної дисфункції та глюкозний гомеостаз у щурів за експериментальної інсулінорезистентності. *Health & Education*. 2024. Вип. 3. С. 64-69. <https://doi.org/10.32782/health-2024.3.8>. (Особистий внесок - проведення експериментальних досліджень, статистичної обробки результатів, узагальнення результатів, написання та оформлення статті до друку; Кононенко Н.М. –

формулювання цілей та задач дослідження, допомога в проведенні дослідження та аналізі результатів).

5. Кононенко Н.М., Анісімова М.С. Вплив нової фітокомпозиції на основі екстракту з листя журавлини великоплідної та амінокислот на стан підшлункової залози й печінки щурів на моделі цукрового діабету 2 типу. *News of pharmacy*. 2024. №2 (108). С. 85-96. <https://doi.org/10.24959/nphj.24.149>. (Особистий внесок - проведення експериментальних досліджень, статистичної обробки результатів, узагальнення результатів, написання та оформлення статті до друку; Кононенко Н.М. – формулювання цілей та задач дослідження, допомога в проведенні дослідження та аналізі результатів).

6. Mariia Anisimova, Nadiia Kononenko, Valentyna Chikitkina. Effect of a new phytocomposition based on polyphenolic extract from cranberry leaves and amino acids on the state of the pancreas in metabolic syndrome. *Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science»*. 2024. №6 (52). Р. 47-59. DOI: 10.15587/2519-4852.2024.318509. (Scopus). (Особистий внесок - проведення експериментальних досліджень, статистичної обробки результатів, узагальнення результатів, написання та оформлення статті до друку; Кононенко Н.М. – формулювання цілей та задач дослідження, допомога в проведенні дослідження та аналізі результатів; Чікіткіна В.В. - допомога в проведенні дослідження та аналізі результатів).

Тези

1. Кононенко Н.М., Танська М.С. Перспективи створення фітокомпозиції на основі сухого екстракту з листя журавлини та амінокислот для лікування метаболічного синдрому та цукрового діабету 2 типу. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція: збірник тез IV Наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. Участю, 18 листопада 2021 р. Х.: Вид-во НФаУ, 2021. С. 145-147.*

2. Кононенко Н.М., Танська М.С. Вивчення ліпотропної активності фітокомпозиції на основі сухого екстракту з листя журавлини та амінокислот на моделі інсулінорезистентності у щурів. *Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації: збірник тез IV науково-*

практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю, 19 травня 2022 р. Х.: Вид-во НФаУ, 2022. С. 199-201.

3. Танська М.С., Кононенко Н.М. Вивчення параметрів гострої токсичності фітокомпозиції на основі сухого екстракту з листя журавлини та амінокислот. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція: збірник тез V науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю*, 17 листопада 2022 р. Х.: Вид-во НФаУ, 2022. С. 317-318.

4. Кононенко Н.М., Танська М.С. Дослідження впливу фітокомпозиції на процеси неферментативного глікозилювання, активність цитолітичних процесів, показники ліпідного обміну та баланс пероксидного окиснення ліпідів на експериментальній моделі цукрового діабету 2 типу. *Сучасні аспекти досягнень фундаментальних та прикладних медико-біологічних напрямків медичної та фармацевтичної освіти та науки: матеріали I науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю, яка присвячена до 90-ї річниці з дня народження професора Л.Т.Киричок*, 17 листопада 2022 р. Х.: ХНМУ, 2022. С. 100-104.

5. Кононенко Н. М., Танська М.С., Чікіткіна В.В. Скринінг можливої гіпоглікемічної дії фітокомпозиції на основі екстракту з листя журавлини великоплідної та амінокислот при однократному введенні нормоглікемічним щурам. *Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації: збірник тез VI науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю*, 16 травня 2024 р. Х.: Вид-во НФаУ, 2022. С. 121-122.

6. Анісімова М.С., Кононенко Н.М. Вплив фітокомпозиції на основі сухого екстракту з листя журавлини та амінокислот на стан оксидантно-прооксидантного гомеостазу підшлункової залози за експериментальної інсулінорезистентності. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція: збірник тез VII науково-практичної internet-конференції з міжнародною участю*, 14 листопада 2024 р. Х.: НФаУ, 2024. С. 85-87.

ANNOTATION

Anisimova M.S. Experimental substantiation of the use of phytocomposition based on dry extract from cranberry leaves for the treatment of metabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in specialty 226 - Pharmacy, Industrial Pharmacy (22 - Health Care) - National University of Pharmacy, Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2025.

The dissertation work is devoted to the experimental study of antidiabetic properties of the dry extract of cranberry leaves (*Vaccinium macrocarpon*) with the addition of amino acids for the correction of insulin resistance and, accordingly, as promising components of the complex therapy of type 2 diabetes mellitus and metabolic syndrome. The choice of large-fruited cranberry leaves as a raw material for the production of polyphenolic extract is justified by its high content of phenolic compounds responsible for hypoglycemic action due to the presence of simple phenols (apbitin); flavonoids, which improve tissue microcirculation due to membrane-stabilizing and antioxidant action; ascorbic acid; hydroxycinnamic acids, in particular gallic and chlorogenic acids. Cranberry has a significant raw material base, is distributed in pine and pine-birch forests, mainly in Polesie. It is reasonable to enhance hypoglycemic activity when modifying dry extract from cranberry leaves with amino acids, which significantly improve metabolic processes in insulin resistance. Therefore, the purpose of this work was to experimentally substantiate the feasibility of developing a new drug based on dry cranberry leaf extract and combined tablets "Fitargin-combi", which include dry cranberry leaf extract, L-arginine, taurine and glycine for the prevention and treatment of type 2 diabetes mellitus and metabolic syndrome.

The *first* section of the thesis summarises the data of literature concerning the modern view on molecular and metabolic mechanisms of development of type 2 diabetes mellitus and metabolic syndrome. the problem of treatment of metabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus is characterised. The mechanisms of action of modern drugs used for pharmacotherapy of type 2 diabetes mellitus, metabolic syndrome and its

complications are presented. The role of phytotherapy in the prevention and complex treatment of type 2 diabetes mellitus, metabolic syndrome is analysed and the prospects of creating new antidiabetic means of natural origin are actualised. The significance of the problem of searching for optimal means of treatment and prevention of type 2 diabetes mellitus, metabolic syndrome and its complications is substantiated.

The *second* section characterises the objects of research and describes in detail the design of the experiment to find the most effective doses of the investigated substance. The application of experimental models of metabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus for in-depth study of tablets of combined composition 'Fitargin-combi' (FC) is substantiated. Methods of research on the study of hypoglycemic activity, methods of determination of biochemical indices characterising hepatoprotective, lipotropic and antioxidant action are given. A set of morphofunctional studies of the pancreas and liver, which were performed to assess the pancreo- and hepatoprotective effect of FC against the background of metabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus, is presented.

The *third* section presents the results and discussion of screening studies of hypoglycaemic effect of the phytocomposition based on the extract of cranberry leaves and amino acids, which were conducted on animals with normal carbohydrate homeostasis at a single and 14-day administration and in conditions of impaired glucose tolerance. At the first stage it was established that the pronounced hypoglycemic effect of phytocomposition is significantly manifested at the dose of 100 mg/kg and remains stably the same at a higher dose - 125 mg/kg, provided it is applied for 14 days in normoglycemic rats in the oral glucose tolerance test (OGTT). In impaired glucose tolerance induced by dexamethasone, the suppression of hyperglycemia by phytocomposition at doses of 100 and 125 mg/kg was proved, which allowed to choose for further study the dose of 100 mg/kg as a conditionally therapeutic dose. Also on the basis of phytocomposition new combined tablets 'Fitargin-combi' (FC) were developed and their most effective dose in terms of antihyperglycaemic action - 100 mg/kg was confirmed. During acute toxicity study of new combined tablets it was proved that both at intragastric administration and intraperitoneal administration they belong to V class 'practically non-toxic substances' and do not cause hypoglycaemia in normoglycaemic animals.

The *fourth* section discusses the results of further in-depth study of FC and investigation of possible mechanisms of its antidiabetic action. The hypoglycemic, hypolipidemic, antioxidant, pancreo- and hepatoprotective effects of FC in experimental metabolic syndrome induced by high sucrose diet in rats were investigated. Keeping rats on high-saccharose diet for 8 weeks caused obesity, while body weight gain in rats of the control pathology group increased by 49,8 % ($p<0.05$) compared to the index of intact control, the increase in body weight gain of animals was accompanied by an increase in the relative mass of visceral fat in 2,4 times ($p<0.05$). The character of development of glycemic curves obtained during the intraperitoneal glucose tolerance test indicated the development of impaired glucose tolerance in animals. The animals of the control pathology group showed impaired glucose utilization, which was manifested by a 63,2 % ($p<0.05$) increase in blood glucose level compared to basal glycemia at the 15th minute and its retention during the test at a level that significantly exceeded the intact control and did not reach the physiological norm at the 60th minute of observation. The integral index of the area under glycemic curves (AUCglu) was 1,6 times ($p<0.05$) higher than the corresponding index in the intact control group, which also confirms the presence of glucose intolerance, which occurs due to impaired glucose utilization in the liver due to excessive consumption of sugars. The short insulin test confirmed the presence of insulin resistance, which was manifested by a significant decrease in the coefficient of insulin sensitivity by 3 times ($p<0.05$). Disturbance of glucose utilization processes in control pathology rats was accompanied by depletion of glycogen reserves in the liver by 2.1 times ($p<0.05$), which indicates the presence of hepatic resistance to the action of insulin and leads to activation of glycogenolysis and gluconeogenesis. There was an increase in the substrate of gluconeogenesis - pyruvic acid (PVA) in 1,7 times ($p<0.05$). Decrease of succinate dehydrogenase (SDH) activity in the liver in 2,2 times ($p<0.05$) indicated deterioration of energy supply of liver cells at high-sugar diet. Dyslipidaemia accompanying the metabolic syndrome had certain changes in the lipid spectrum: triglycerides (TG) were significantly increased 2,5-fold ($p<0.05$), cholesterol (Chs) 2,7-fold ($p<0.05$), free fatty acids (FFA) 2,9-fold ($p<0.05$) and low-density lipoproteins (LDL) almost twice as much as in IR. High-density lipoprotein cholesterol (HDL-C)

content showed an unimpressive upward trend. Accumulation of TG in serum of control pathology rats indicates activation of lipolysis in adipose tissue and impaired lipid utilisation in the liver and serves as indirect evidence for the development of hepatic insulin resistance. Increase in the level of cholesterol and LDL-C along with unchanged level of Chs-LDL-HDL indicates the initial development of atherogenesis processes in rats with metabolic syndrome.

FC tablets significantly slowed down body weight growth by 40,4 % ($p<0.05$) and prevented the development of visceral obesity by 1,31 times ($p<0.05$) at the level of Metformin tablets and significantly superior to Arfazetin collection. Eight-week administration of FC resulted in a 93 % ($p<0.05$) reduction in blood glucose levels in rats with IR at the 30th minute of the oral glucose tolerance test compared to the control, as well as inhibition of the development of insulin resistance and improvement of glucose tolerance. In terms of ability to restore glycogen-forming function of the liver FC significantly exceeded Arfazetin and acted on the level of metformin. In terms of ability to restore PBA content and ADH activity in the liver, FC and metformin were on the same level. Administration of FC significantly prevented the development of lipid metabolism disorders caused by high-sugar diet: in blood serum there was observed a significant decrease in the content of cholesterol, LDL, TG, HDL-C and HDL-C to the level of intact animals. The established positive dynamics of the studied parameters under the action of the combined remedy, indicates an expressive hypolipidemic and hypocholesterolemic action.

Also, FC suppressed oxidative stress, which indicates its antioxidant activity. The level of antioxidant defence markers was significantly restored: reduced glutathione (GSH) in liver homogenates and catalase in liver and serum. FC exceeded Arfazetin and metformin in antioxidant properties. It was found that in metabolic syndrome induced by high-saccharose diet in rats there are morphological signs of insular apparatus oppression: the number of small pancreatic islets increased and the proportion of medium islets decreased; enhanced functioning of β -cells leads to hypertrophy, dystrophy and, eventually, to their death, which is characteristic of metabolic syndrome. In the liver, excessive carbohydrate intake led to inhibition of glycogen-forming function (depletion of glycogen stores in hepatocytes) and development of steatohepatosis (accumulation of fat in the cells

of hepatic parenchyma). In the endocrine part of rat pancreas after FC administration less destructive-dystrophic manifestations (absence of signs of hypertrophy, β -cell dystrophy) and increase in the number of morphologically more complete insular cells were revealed. In rat liver after FC administration the general histoarchitectonics of parenchyma is not changed, glycogen accumulation and absence of fat in hepatocytes are restored. In terms of expression of the protective effect on the insular apparatus of the pancreas of rats, FC exceeded Arfazetin and was not inferior to metformin, and in terms of the degree of recovery of disturbed metabolic changes in the liver it exceeded both.

The *fifth* section discusses the results of the influence of FC on the indicators of carbohydrate, lipid metabolism, the processes of non-enzymatic glycosylation, the indicators of lipid oxidation, the state of the antioxidant system, endothelial dysfunction, the morphofunctional state of the pancreas and the liver on the model of streptozotocin-nicotinamide-induced against the background of a high-fat diabetes of type 2 diabetes, as well as a study of the antidiabetic properties of the combined composition tablets on the dexamethasone-induced type 2 diabetes.

In the model of dexamethasone-induced type 2 diabetes mellitus, dyslipidemia developed under conditions of insulin resistance similar to that in patients with type 2 diabetes mellitus: the content of total lipids and cholesterol increased by 1,7 ($p < 0.05$) and 1,5 times ($p < 0.05$), respectively, and triglycerides by 3,6 times ($p < 0.05$), the level of high-density lipoproteins decreased by 1,6 times ($p < 0.05$) and low-density lipoproteins increased by 1,5 times ($p < 0.05$) compared to the intact control group. Under the influence of the phytocomplex, the level of cholesterol, total lipids and triglycerides significantly decreased by 1,4, 1,8 and 3,3 times ($p < 0.05$), respectively, reaching the level of the intact control. When using comparison drugs, there was a significant decrease in triglycerides relative to the values of the control pathology, the level of total lipids decreased under the influence of metformin, but the cholesterol level remained elevated under the influence of both reference drugs. When using the phytocomplex, there was an increase in the concentration of high-density lipoproteins by 1,4 times ($p < 0.05$) and a decrease in the concentration of low-density lipoproteins by 1,4 times ($p < 0.05$) relative to the parameters of the control pathology group. In terms of the severity of the hypolipidemic effect, the

phytocomplex exceeded Arphazetin and corresponded to the activity of metformin.

In the model of dexamethasone-induced type 2 diabetes mellitus, under the influence of the phytocomplex, there was a decrease in the content of diene conjugants by 3,2 times ($p < 0.05$), and thiobarbituric acid of active products by 2,5 times ($p < 0.05$) compared to the control. There was a 1,8-fold ($p < 0.05$) increase in GSH level compared to animals with experimental type 2 diabetes mellitus, which indicated the restoration of antioxidant defense system. It was found that FC has a significant antihyperglycemic effect by increasing the sensitivity of peripheral tissues to the action of insulin, while reducing the manifestations of insulin resistance; endothelial dysfunction improved, which was confirmed by a decrease in the content of nitric oxide and citrulline and an increase in the concentration of arginine.

Type 2 diabetes mellitus induced by streptozotocin administration with preliminary administration of nicotinamide on the background of high-fat diet was characterized by significant hyperglycemia (increase in glucose level 2,13 times ($p < 0.05$) compared to intact control) and hyperinsulinemia (increase in insulin level 1,68 times ($p < 0.05$) compared to the intact control group). Administration of phytomedicine to experimental animals for 28 days was accompanied by a significant decrease in glucose level by 42,3 % ($p < 0.05$), insulin - by 36 % ($p < 0.05$) compared to the control group. Decrease of HOMA-IR index by 45,6 % ($p < 0.05$) in animals treated with FA indicated increased sensitivity to insulin action of peripheral tissues. Therapeutic and prophylactic administration of phytocomplex led to a pronounced hypolipidemic and hypocholesterolemic effect: cholesterol content decreased 2,3 times ($p < 0.05$), triglycerides – 3,5 times ($p < 0.05$), low-density lipoproteins - 2 times ($p < 0.05$) relative to the control. At the same time, the level of anti-atherogenic fraction of high-density lipoproteins increased 3,1 times ($p < 0.05$) compared to the same indicator of the untreated group. Phytocomplex significantly exceeded the comparison drugs in its ability to inhibit atherogenic processes and activate the mechanisms of antiatherogenic defence. At long-term administration of phytocomplex the level of basal glycaemia in rats with type 2 diabetes mellitus significantly decreased by 42,3 % ($p < 0.05$), and the content of glycosylated haemoglobin - by 32 % ($p < 0.05$). Deterioration of energy supply of liver

cells and degradation of hepatocyte membranes was observed, as evidenced by a 3,2-fold ($p<0.05$) decrease in succinate dehydrogenase activity in the liver of diabetic rats. Under the influence of phytocomplex the restoration of glycogen reserves in the liver and succinate dehydrogenase activity to the level of intact control was established; normalised the processes of lipid peroxidation/antioxidant system as evidenced by the decrease of lipid peroxidation/antioxidant system coefficient to the level of intact control and inhibition of oxidative modification of proteins: the level of early and late markers of cellular proteins damage was lower than in the control group on average by 58 % ($p<0.05$). Arfazetin had a less pronounced effect on the inhibition of lipid peroxidation processes and did not limit the oxidative modification of proteins. Phytocomplex stimulated regenerative processes in the insulin-producing apparatus of rat pancreas and at the morphological level showed hepatoprotective properties, significantly reducing the manifestations of toxic-dystrophic action of diabetogenes and restoring fat and carbohydrate metabolism in hepatocytes, thus was not inferior to metformin and exceeded Arfazetin.

The final section of the thesis is devoted to the discussion and generalization of the research results. The scientific information presented in the dissertation is given, the results of the solution of the set tasks are presented. The scientific novelty and prospects for further research of the investigated remedy are reflected.

The results of experimental studies have been implemented in the educational process of a number of higher education institutions of the pharmaceutical (medical) profile of Ukraine.

Key words: type 2 diabetes mellitus, metabolic syndrome, insulin resistance, hypoglycemic activity, cranberry, leaf extract, modification, hepatoprotective effect, antioxidant activity, lipotropic activity, pancreatic protective effect, L-arginine, taurine, glycine.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	23
ВСТУП.....	26
РОЗДІЛ 1 ФАРМАКОЛОГІЧНА КОРЕКЦІЯ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2 ТИПУ ТА МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ (огляд літератури).....	34
1.1 Патогенез цукрового діабету 2 типу та метаболічного синдрому.....	34
1.2 Сучасні підходи до комплексної терапії цукрового діабету 2 типу та метаболічного синдрому.....	42
1.3 Роль фітотерапії в комплексному лікуванні цукрового діабету 2 типу та метаболічного синдрому.....	50
Висновки до розділу 1.....	59
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ.....	61
РОЗДІЛ 3 СКРИНІНГОВІ ДОСЛІДЖЕННЯ ГІПОГЛІКЕМІЧНОЇ ДІЇ ФІТОКОМПОЗИЦІЇ СУХОГО ЕКСТРАКТУ З ЛИСТЯ ЖУРАВЛИНИ, L-АРГІНІНУ, ТАУРИНУ ТА ГЛІЦИНУ ТА ТАБЛЕТОК КОМБІНОВАНОГО СКЛАДУ «ФІТАРГІН-КОМБІ» НА ЇХ ОСНОВІ ТА ВИЗНАЧЕННЯ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ.....	81
3.1 Вивчення гіпоглікемічних властивостей фітокомпозиції на нормоглікемічних щурах при одноразовому введенні.....	81
3.2 Визначення умовнотерапевтичної дози фітокомпозиції на нормоглікемічних щурах при 14-денному введенні за допомогою орального тесту толерантності до глюкози.....	82
3.3 Визначення умовнотерапевтичної дози фітокомпозиції за антигіперглікемічною дією на моделі порушеної толерантності до глюкози, викликаній дексаметазоном	87
3.4. Визначення умовнотерапевтичної дози таблеток комбінованого складу «Фітаргін-комбі» за антигіперглікемічною дією на моделі порушеної толерантності до глюкози.....	91
3.5. Дослідження гострої токсичності таблеток комбінованого	

складу «Фітаргін-комбі».....	93
Висновки до розділу 3.....	95
РОЗДІЛ 4 ВИВЧЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ТАБЛЕТОК КОМБІНОВАНОГО СКЛАДУ «ФІТАРГІН-КОМБІ» НА МОДЕЛІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ, ВИКЛИКАНОГО ВИСОКОЦУКРОЗНОЮ ДІЄТОЮ.....	97
4.1. Вплив таблеток «Фітаргін-комбі» на масу тіла, показники вуглеводного та ліпідного обмінів.....	98
4.2 Вплив таблеток комбінованого складу «Фітаргін-комбі» на показники перекисного окиснення ліпідів та стан антиоксидантної системи	105
4.3 Патоморфологічне дослідження підшлункової залози та печінки щурів за умови метаболічного синдрому.....	108
Висновки до розділу 4.....	121
РОЗДІЛ 5 ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИДІАБЕТИЧНОЇ ДІЇ ТАБЛЕТОК КОМБІНОВАНОГО СКЛАДУ «ФІТАРГІН-КОМБІ».....	123
5.1 Вивчення антидіабетичних властивостей таблеток комбінованого складу «Фітаргін-комбі» на моделі дексаметазон- індукованого ЦД2.....	124
5.1.1 Вплив таблеток комбінованого складу «Фітаргін-Комбі» на показники глюкозного гомеостазу та ендотеліальної дисфункції.....	125
5.1.2 Вплив таблеток комбінованого складу «Фітаргін-Комбі» на показники ліпідного обміну.....	127
5.1.3 Вплив таблеток комбінованого складу «Фітаргін-Комбі» на показники перекисного окиснення ліпідів та стан антиоксидантної системи.....	129
5.1.4 Вивчення гепатопротекторних властивостей таблеток комбінованого складу «Фітаргін-Комбі».....	130
5.2 Вивчення антидіабетичних властивостей таблеток комбінованого складу «Фітаргін-комбі» на моделі ЦД2, індукованого	

введенням стрептозотоцину з попереднім введенням нікотінамід у на тлі високожирової дієти.....	132
5.2.1 Вплив таблеток комбінованого складу «Фітаргін-Комбі» на гліюкозний гомеостаз.....	132
5.2.2 Вплив таблеток комбінованого складу «Фітаргін-Комбі» на процес неферментативного гліюкозилювання, показники ліпідного обміну, прооксидантно-антиоксидантний баланс і ступінь окиснювальної модифікації білків.....	134
5.2.3. Патоморфологічне вивчення підшлункової залози та печінки у тварин із ЦД2.....	140
Висновки до розділу 5.....	154
АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ.....	157
ВИСНОВКИ.....	176
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	180
ДОДАТКИ.....	207

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АДФГ – альдегіддинітрофенілгідразони;
АОС – антиоксидантна система;
АЛаТ – аланінамінотрансфераза;
АсАТ – аспартатамінотрансфераза;
АТФ – аденозинтрифосфат;
АФК – активні форми кисню;
ВЖД – високажирова дієта;
ВРО – вільнорадикальне окиснення;
ВЖК – вільні жирні кислоти;
ВЧТТГ - внутрішньоочеревинний тест толерантності до глюкози;
ГГТ - гамма-глутамілтрансфераза;
ГПП-1 – глюкозозалежний інсулінотропний поліпептид 1;
ГК – галова кислота;
ГГТП – γ - глутамілтранспептидаза;
ГПП-1 – глюкагоноподібний пептид 1;
ДК – дієнові кон'югати;
ЕД – ендотеліальна дисфункція;
ЗЛ – загальні ліпіди;
ІАП-I - інгібітор активатора плазміногену I типу;
ІДПП-4 – інгібітор дипептилпептидази-4;
ІК – інтактний контроль;
ІР – інсулінорезистентність;
КАТ – каталаза;
КДФГ – кетондинітрофенілгідразони;
КП – контрольна патологія;
ЛПВГ – ліпопротеїди високої густини;
ЛПДНГ – ліпопротеїди дуже низької густини;
ЛПНГ – ліпопротеїди низької густини;

МС – метаболічний синдром;
ОМБ – окиснювальна модифікація білків;
ОТТГ – оральний тест толерантності до глюкози;
ПЗ – підшлункова залоза;
ПО – панкреатичні острівці;
ПОЛ – перекисне окиснення ліпідів;
ПР – поживні речовини;
ПСС – похідні сульфонілсечовини;
СОД – супероксиддисмутаза;
ТГ – тригліцериди;
ТФР β - трансформуючий фактор росту β ;
ТБК-АП – тіобарбитурової кислоти активні продукти;
ЦД – цукровий діабет;
ЦД2 – цукровий діабет другого типу;
ФНП- α – фактор некрозу пухлин α ;
ХГК – хлорогенова кислота;
Хс-ЛПВГ – холестерин ліпопротеїдів високої густини;
Хс-ЛПНГ – холестерин ліпопротеїдів низької густини;
ШКТ – шлунково-кишковий тракт;
AUC – площа під гіпоглікемічною кривою;
GLUT4 – ізоформи глюкозного транспортера;
GSH – відновлений глутатіон;
JNK – c-Jun N-кінцева кіназа;
IL – інтерлейкін;
МАРК – мітогенактивована кіназа;
NK - природні клітини-кілери;
NF- κ B – нуклеарний фактор каппа В;
HbA_{1c} – глікозильований гемоглобін;
НОМА-IR - індекс інсулінорезистентності;
PERCK – фосфоенолпіруваткарбоксикіназа;

RAGE - рецептор кінцевих продуктів глікозилювання;

TLRs - Toll-подібні рецептори;

WAT – біла жирова тканина

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Цукровий діабет (ЦД) є однією з найпоширеніших хронічних патологій у світі. Згідно з даними Global Burden of Diseases за 2017 рік, він займав 7-ме місце за кількістю втрачених років життя з поправкою на якість (QALY – quality adjusted life years), поступаючись лише серцево-судинним захворюванням, основним фактором ризику яких також є діабет [105, 224]. Ще у 1999 році Американська асоціація лікарів-кардіологів включила ЦД до переліку ключових факторів ризику серцевих захворювань поряд із курінням, гіпертонією та надмірною масою тіла.

Всесвітня організація охорони здоров'я відносить його до чотирьох основних неінфекційних захворювань, боротьба з якими входить до Цілей сталого розвитку ООН на період до 2030 року, що підтримує й Україна.

За оцінками Міжнародної діабетичної федерації (IDF), цукровий діабет 2 типу зустрічається у 91-96% випадків і поширений у 10 разів більше, ніж діабет 1 типу. Останніми роками захворюваність серед осіб до 40 років зростає на 9% щорічно, що призводить до значних економічних втрат через передчасне вибуття працездатного населення [105]. В Україні загальна кількість пацієнтів з ЦД оцінюється у 3,5 млн осіб, проте офіційно діагностовано лише 1,23 млн (35%) [45]. Рівень недіагностованих випадків (65%) удвічі перевищує показники Великобританії та Польщі, що пов'язано з поведінковими чинниками (страх високих витрат на лікування, недооцінка ризиків, соціальна стигматизація) та недостатньою доступністю медичних послуг (брак системи раннього виявлення, обмежене застосування HbA1C у первинній ланці медицини) [42].

Діабет викликає серйозні ускладнення, що сприяють підвищенню смертності та інвалідизації. До основних наслідків належать макроваскулярні (інфаркт, інсульт, серцева недостатність) та мікроваскулярні ураження (ампутації, нефропатія, ретинопатія) [42, 43, 45, 51, 55]. В Україні частота таких ускладнень перевищує європейські показники [2, 42].

Ключовим патогенетичним фактором цукрового діабету 2 типу (ЦД2) та

метаболічного синдрому є інсулінорезистентність (ІР), що провокує порушення обміну речовин і сприяє серцево-судинним захворюванням [48, 87, 157, 168, 172]. Тому сучасна терапія орієнтована на профілактику цих ускладнень шляхом контролю рівня глюкози, артеріального тиску, а також застосування гіполіпідемічних та антитромбоцитарних препаратів [125, 130].

Одним із основних механізмів розвитку ускладнень діабету є ендотеліальна дисфункція (ЕД), що виникає через дефіцит оксиду азоту (NO) та внутрішньоклітинний оксидативний стрес [28, 66]. NO відіграє ключову роль у регуляції судинного тону, має антитромботичні, антиоксидантні та протизапальні властивості. Відомо, що дефіцит L-аргініну, необхідного для синтезу NO, спостерігається у пацієнтів із серцево-судинними захворюваннями, діабетом, ожирінням та хронічним стресом. Його нестача спричиняє розвиток ЕД, що, у свою чергу, призводить до прогресування судинних ускладнень при ЦД [178, 195]. На сьогодні бракує доказів ефективності більшості пероральних цукрознижувальних засобів у профілактиці діабетичних ангіопатій, а їх тривале застосування може супроводжуватися побічними ефектами [7, 35, 37, 42, 48, 49, 79, 196]. Це підкреслює необхідність пошуку нових антидіабетичних препаратів, що не лише знижують рівень глюкози, а й запобігають ускладненням. Перспективним напрямом є використання L-аргініну як донора NO у терапії пацієнтів із ЦД та супутньою кардіоваскулярною патологією, що сприятиме покращенню функції ендотелію та уповільненню розвитку захворювання [145, 195].

З огляду на складний патогенез ЦД2, актуальним є застосування в комплексному лікуванні лікарських рослин, що мають антигіперглікемічні властивості. Вони підвищують чутливість тканин до інсуліну, сприяють регенерації β -клітин підшлункової залози та не викликають токсичних ефектів при тривалому прийомі [8, 14, 15, 116, 121, 146, 191]. Використання рослин із гепато-, кардіо- та нефропротекторною дією є важливим доповненням до традиційної терапії [38, 93, 119]. Хоча в народній медицині різних країн існує широкий перелік рослин для лікування діабету, офіційно зареєстрованих антидіабетичних препаратів на їх основі небагато. В Україні дозволені лише кілька фітозасобів

(«Арфазетин», «Садифіт», «Стулки квасолі», «Пагони чорниці»), що обґрунтовує необхідність розробки та дослідження нових рослинних препаратів, зокрема сухого екстракту з листя журавлини [21].

Додатковим напрямом досліджень є потенційне підсилення гіпоглікемічної активності екстракту журавлини шляхом його модифікації амінокислотами, що може покращити метаболічні процеси в умовах інсулінорезистентності [71, 145, 195]. Таким чином, пошук нових антидіабетичних засобів рослинного походження та їх комбіноване застосування з іншими терапевтичними методами є перспективним напрямом для підвищення ефективності лікування ЦД2.

У Національному фармацевтичному університеті на кафедрі фармакогнозії, під керівництвом доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Кошового отримані сухі екстракти з листя журавлини з імовірною гіпоглікемічною активністю. Таким чином, дослідження потенційних антидіабетичних засобів рослинного походження, які можливо було б застосовувати в комплексній терапії МС та ЦД2, є перспективною та актуальною темою дослідження.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційна робота виконана у межах запланованої науково-дослідної роботи Національного фармацевтичного університету «Фармакологічне вивчення біологічно активних речовин та лікарських засобів» (номер держреєстрації 0114U000956).

Мета і завдання дослідження. Мета дисертаційної роботи – експериментальне обґрунтування доцільності розробки нових комбінованих таблеток «Фітаргін-комбі» на основі сухого екстракту з листя журавлини та амінокислот – L-аргініну, таурину і гліцину для профілактики та лікування цукрового діабету 2 типу та метаболічного синдрому.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання:

1. Провести скринінг потенційних антидіабетичних фітокомпозицій різного складу за гіпоглікемічною активністю на тлі порушеної толерантності до глюкози та відібрати фітокомпозицію-лідера.
2. Визначити умовнотерапевтичну дозу таблеток комбінованого складу

«Фітаргін-комбі» на щурах за умов вуглеводних навантажень та довести релевантність отриманих результатів на тлі порушеної толерантності до глюкози.

3. Визначити гостру токсичність таблеток комбінованого складу «Фітаргін-комбі».

4. На моделі експериментального метаболічного синдрому, викликаного гіперкалорійною високофруктозною дієтою, вивчити вплив таблеток комбінованого складу «Фітаргін-комбі» на вуглеводний та ліпідний обміни, визначити антиоксидантні властивості та панкреатозахисну дію.

5. Вивчити антидіабетичні властивості таблеток комбінованого складу «Фітаргін-комбі» на моделі цукрового діабету 2 типу, викликаного дексаметазоном.

6. Здійснити гістоморфологічне вивчення тканини підшлункової залози у тварин з експериментальним метаболічним синдромом та цукровим діабетом 2 типу, викликаним дексаметазоном, під дією таблеток комбінованого складу «Фітаргін-комбі».

7. Дослідити антидіабетичні властивості таблеток комбінованого складу «Фітаргін-комбі» на моделі стрептозотоцин-нікотинамід-індукованого цукрового діабету 2 типу.

Об'єкт дослідження – оптимізація фармакотерапії цукрового діабету 2 типу та метаболічного синдрому.

Предмет дослідження – гіпоглікемічна, гепатопротекторна, антиоксидантна, гіполіпідемічна та панкреопротекторна активність комбінованих таблеток на основі сухого екстракту з листя журавлини, L-аргініну, таурину і гліцину з умовною назвою «Фітаргін-комбі».

Методи дослідження. Для виконання завдань, що поставлені у роботі, використано такі методи досліджень: загальнонаукові (аналіз, узагальнення), фармакологічні (дослідження гіпоглікемічної активності), патофізіологічні (моделювання метаболічного синдрому, викликаного високоцукровою дієтою, дексаметазон-індукованого ЦД2, ЦД2, індукованого введенням стрептозотоцину з попереднім введенням нікотінаміду на тлі високожирової дієти), біохімічні(оцінка

стану печінки за активністю маркерних ферментів цитолізу та холестазу; дослідження ліпідного профілю крові; ендотеліальної дисфункції; окиснювальної модифікації білка; активності вільнорадикального окиснення ліпідів та стану системи антиоксидантного захисту в сироватці крові та тканині печінці), токсикологічні (вивчення гострої токсичності та нешкідливості), морфологічні (гістологічне дослідження тканини підшлункової залози та печінки, морфометричний аналіз), статистичні (методи статистичного аналізу результатів).

Наукова новизна отриманих результатів. У даній роботі вперше науково обґрунтовано та експериментально підтверджено доцільність використання фітокомпозиції на основі сухого екстракту листа журавлини з додаванням амінокислот для розробки нових ефективних і безпечних антигіперглікемічних засобів, призначених для корекції інсулінорезистентності та застосування в комплексній терапії цукрового діабету 2 типу.

Вперше проведено скринінг гіпоглікемічної активності фітокомпозиції, що містить сухий екстракт листа журавлини та амінокислоти L-аргінін, таурин і гліцин, які вводилися у трикратному еквімолярному об'ємі відносно загальної кількості фенольних сполук (у перерахунку на галову кислоту). Визначена ефективна доза становить 100 мг/кг, на основі якої розроблено таблетки комбінованого складу «Фітаргін-комбі».

Вперше доведено, що на тлі експериментальної інсулінорезистентності, Фітаргін-комбі здатен зменшувати рівень глікемії у внутрішньоочеревинному тесті толерантності до глюкози через 15 хв після вуглеводного навантаження на 46,3% ($p < 0,05$) та зберігався до 60 хв тестування на рівні 27,3% ($p < 0,05$), за умов дексаметазон-індукованого ЦД2 на 48%, при ЦД2, викликаного введенням стрептозотоцину з попереднім введенням нікотінамідом на тлі ВЖД на 42,3%, що статистично достовірно відрізняється від груп контрольної патології ($p \leq 0,05$).

Вперше вивчено гіполіпідемічну активність Фітаргін-комбі та встановлена його здатність коригувати дісліпідемію, яка розвивається на тлі метаболічного синдрому та ЦД2, що підтверджено нормалізацією показників ліпідного спектру крові.

Вперше встановлено, що за умов різних моделей експериментальної інсулінорезистентності Фітаргін-комбі виявляє гепатопротекторну дію. Вперше виявлено антиоксидантні властивості Фітаргін-комбі, які були досліджені на тлі модельної інсулінорезистентності. За умов інсулінорезистентності, яка індукована високоцукровою дієтою, Фітаргін-комбі знижував вміст ТБК-реактивних в гомогенаті печінки в 2,5 рази, ДК в 2 рази та відновлював стан антиоксидантної системи за рахунок підвищення рівня відновленого глутатіону, каталази та супероксиддисмутази в 2,9, 2,1 та 2,3 рази відповідно у гомогенатах печінки ($p < 0,05$). За умов дексаметазон-індукованої інсулінорезистентності Фітаргін-комбі достовірно знижував вміст ТБК-реактивних в гомогенаті печінки в 2,6 рази, ДК – у 3,3 рази відносно групи тварин з контрольною патологією ($p \leq 0,05$). Резерв GSH зростав в 3 рази порівняно з групою контролю ($p \leq 0,05$). При ЦД2 під впливом Фітаргін-комбі рівень ТБК-Р знижувався в 2,7 рази у порівнянні з контролем, пригнічувалась ОМБ: рівень ранніх і пізніх маркерів пошкодження клітинних білків був нижчим ніж у групі контрольної патології у середньому на 58 %, підвищувався рівень антиоксидантних ферментів у гомогенаті печінки: каталази – в 1,4 рази та GSH – в 1,5 рази у порівнянні з контролем ($p \leq 0,05$).

Вперше показаний позитивний вплив Фітаргін-комбі на стан NO-синтазної системи. За умов дексаметазонавої інсулінорезистентності Фітаргін-комбі виразно зменшував рівень оксиду азоту на 33,5 % та цитруліну на 36 % і підвищував рівень аргініну на 56 % відносно групи контрольної патології ($p \leq 0,05$).

За здатністю нормалізувати вуглеводний обмін, антиоксидантні, атерогенні процеси, за вираженістю протекторного впливу на інсулярний апарат ПЗ, за ступенем відновлення порушених метаболічних змін у печінці Фітаргін-комбі значно перевищував препарати порівняння - збір «Арфазетин» та метформін.

Вперше показано, що одноразове внутрішньошлункове введення Фітаргін-комбі в дозі 5000 мг/кг не змінювало рівень глюкози у крові через 30, 60, 120 хвилин та через добу після введення, що свідчить про відсутність гіпоглікемічної дії у нормоглікемічних тварин і визначає його переваги перед синтетичними гіпоглікемічними препаратами.

Поряд з високою фармакологічною активністю, Фітаргін-комбі належить до V класу токсичності – «практично нетоксичні речовини» за класифікацією Hodge та Sterner.

Практичне значення отриманих результатів. Одержані результати обґрунтують доцільність створення нового антидіабетичного лікарського засобу на основі сухого екстракту з листя журавлини, L-аргініну, таурину і гліцину для профілактики та фармакокорекції інсулінорезистентних станів та ЦД 2 типу, як у вигляді монотерапії, так і у комплексі з пероральними цукрознижуючими засобами.

Результати експериментальних досліджень за темою дисертаційної роботи впроваджено у науково-педагогічний процес кафедри патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології Запорізького державного медико-фармацевтичного університету (протокол № 8 від 09.12.2024), фармакології та клінічної фармації Національного фармацевтичного університету (протокол № 9 від 19.12.2024), фармакології та медичної рецептури Харківського національного медичного університету (протокол № 9 від 19.12.2024) та у наукову діяльність Навчально-наукового інституту прикладної фармації Національного фармацевтичного університету (протокол № 2 від 12.12.2024).

Особистий внесок здобувача. Безпосередньо дисертантом здійснено: патентно-інформаційний пошук та аналіз літературних даних; виконання експериментів (скринінгові дослідження, моделювання інсулінорезистентності, дослідження гіпоглікемічної активності, визначення гострої токсичності, дослідження показників, які характеризують гепатопротекторну, гіполіпідемічну та антиоксидантну активність, опис та обговорення гістологічних досліджень); статистичну обробку кількісних даних результатів експериментів; систематизацію та оформлення розділів дисертаційної роботи; підготовку публікацій до друку. Визначення мети, завдань дослідження, обговорення та узагальнення результатів здійснено за участю наукового керівника. Співавторами наукових праць є науковий керівник Н.М. Кононенко та науковець, спільно з яким проведено дослідження В.В. Чікіткіна. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертанту належить фактичний матеріал та основний творчий доробок. Гістологічні дослідження

проведено на базі ЦНДЛ НФаУ за консультативної допомоги та участі к. біол.н., ст. н. сп., Ю. Б. Лар'яновської.

Апробація матеріалів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи обговорювалися на таких всеукраїнських та міжнародних наукових заходах: IV Науково-практичній інтернет-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція» (м. Харків, 18 листопада 2021 р.); V науково-практичній інтернет-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція» (м. Харків, 17 листопада 2022 р.); IV науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації» (м. Харків, 19 травня 2022 р.); I науково-практичній інтернет-конференції з міжнародною участю, яка присвячена до 90-ї річниці з дня народження професора Л.Т. Киричок «Сучасні аспекти досягнень фундаментальних та прикладних медико-біологічних напрямків медичної та фармацевтичної освіти та науки» (м. Харків, 17 листопада 2022 р.); VI науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації» (м. Харків, 16 травня 2024 р.); VII науково-практичній internet-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція» (м. Харків, 14 листопада 2024 р.).

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційна робота викладена на 218 сторінках машинописного тексту, складається з анотації, вступу, огляду літератури, матеріалів і методів, 3 розділів експериментальних досліджень, аналізу та узагальнення одержаних результатів, загальних висновків, списку використаних джерел і 2 додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 179 сторінку друкованого тексту. Робота ілюстрована 21 таблицями та 32 рисунками. Список використаних джерел містить 232 найменування, з них 45 кирилицею та 187 латиницею.

РОЗДІЛ 1

ФАРМАКОЛОГІЧНА КОРЕКЦІЯ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2 ТИПУ ТА МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ

(Огляд літератури)

1.1 Патогенез цукрового діабету 2 типу та метаболічного синдрому

Патогенез ЦД2, пов'язаний із гіперглікемією, яка виникає на тлі резистентності до інсуліну [42]. ІР – це зниження чутливості інсулінзалежних тканин, особливо м'язової, жирової тканини й печінки, до дії інсуліну за умови достатньої його концентрації в крові.

У 88 % хворих незалежно від ступеня андроїдного ожиріння має місце ІР, у той час як при гіноїдному ожирінні вона виявляється лише у 32 % хворих, причому в основному при ожирінні III-IV ступеня.

Абдомінальний жир має високу метаболічну активність, є багатим джерелом вільних жирних кислот (ВЖК), а також секретує велику кількість цитокінів, особливо ФНП- α і лептину, які надходять звідси безпосередньо до портальної системи та до печінки.

ІР характеризується такими ознаками: гіперінсулінемія та гіпоглікемія натщесерце, підвищений вміст HbA_{1c}, гіперглікемія після прийому їжі, гіперліпідемія, порушення толерантності до глюкози, порушення толерантності до інсуліну, зниження швидкості інфузії глюкози, збільшення продукції глюкози в печінці, втрата першої фази секреції інсуліну, гіпоадипонектемія та збільшення кількості запальних маркерів у плазмі [157].

В основі механізмів виникнення ІР є ожиріння, хронічне запалення низької інтенсивності, дисфункція мітохондрій, гіперінсулінемія, ліпотоксичність/гіперліпідемія, генетична схильність, стрес, старіння, оксидативний стрес (утворення активних форм кисню (АФК), RNS (Reactive nitrogen species)), ожиріння (стеатоз) печінки, гіпоксія, ліподистрофія, вагітність [54].

Зв'язок між надлишком поживних речовин (глюкоза, жирні кислоти, амінокислоти) і запаленням пояснюється хімічною природою нутрієнтів – біоенергетичних молекул, здатних брати участь у потенційно небезпечних для клітин енергоємних реакціях. Клітини розвинули захисні системи, для секвестрації та обмеження впливу цих молекул, зокрема ендоплазматичний ретикулум – комплекс органел, що контролює надходження поживних речовин (ПР) [48, 226]. Тривалий надлишок калорій спричиняє гіпертрофію білих адипоцитів разом з оксидативним стресом, активацією NLRP3 (NACHT, LRR and PYD domains-containing protein 3) – інфламмасом, що завершується апоптозом адипоцитів. Запальна реакція розвивається у відповідь на сигнали апоптотичних клітин для їхньої утилізації. Клітини, пошкоджені надлишком нутрієнтів, видаляються, обмежуючи спричинену ними травматичність і захищаючи організм загалом. Надлишок ПР – ВЖК, глюкози та їхніх метаболітів, таких як діацилгліцерин, цераміди та кінцеві продукти глікування – advanced glycation endproducts (AGE) також ініціює опосередковане лейкоцитами запалення: ВЖК є лігандами для toll-like receptors (TLRs), що експресуються на імунних клітинах і спричиняють запальні реакції через активацію нуклеарного фактора каппа В – Nuclear factor κ B (NF- κ B), тоді як AGE зв'язуються з рецепторами лейкоцитів RAGE (Receptor for advanced glycation endproducts) з тим самим ефектом. Ліганди TLRs і RAGE прямо пов'язують метаболічні процеси із запаленням. Вихід ВЖК та аберантна продукція адипокінів і хемоатрактантів адипоцитами, що дегенерують, або внаслідок IP-асоційованого ліполізу, своєю чергою, сприяють мобілізації й активації клітин як вродженого, так і набутого імунітету. Так, хемоатрактант – моноцитарний хемотаксичний протеїн 1 (Monocyte chemoattractant protein 1 – MCP-1), що секретується адипоцитами, зв'язується з рецепторами на макрофагах і Т-клітинах, ініціюючи їхню інфільтрацію в білу жирову тканину (WAT – White adipose tissue), а підвищені рівні інших запальних цитокінів (tumour necrosis factor α (TNF α), інтерлейкін 6 (IL-6), Retinol binding protein 4 (RBP4)), можуть безпосередньо активувати макрофаги, сприяючи запалення (схема) [109].

Жирова тканина виконує роль буферної системи для поживних речовин,

накопичуючи їх у вигляді ліпідів в адипоцитах. При надлишковій масі тіла та ожирінні адипоцити гіпертрофуються, що спричиняє розвиток ER-стресу. Для видалення апоптотичних адипоцитів активуються лейкоцити. В інфільтраті WAT домінують макрофаги, а також присутні Т- і В-лімфоцити, натуральні кілери (NK) та інші імунні клітини. На початкових етапах ожиріння надлишок поживних речовин, ER-стрес та запалення локалізуються в жировій тканині. Однак при подальшому прогресуванні ожиріння ємність адипоцитів перевищується, що призводить до викиду надлишкових поживних речовин і метаболітів у системний кровотік. Це викликає поширення клітинного стресу за межі жирової тканини та запуск низькорівневого запального процесу в різних органах і тканинах. ВЖК, що надходять у периферичні тканини, зокрема скелетні м'язи та печінку, спричиняють зміщення енергетичного метаболізму від утилізації глюкози до окиснення жирів. Це супроводжується зниженням експресії рецепторів інсуліну, транспортерів глюкози та сигнальних молекул інсулінового каскаду, а також підвищенням активності ферментів, що беруть участь у катаболізмі жирних кислот. Такі зміни призводять до розвитку системної гіперглікемії, на яку β -клітини підшлункової залози реагують збільшенням секреції інсуліну. Ця компенсаторна реакція є основою розвитку ІР та периферичної гіперінсулінемії - ключових ознак ожиріння [168].

Уперше участь NF- κ B у розвитку ІР і патогенезі ЦД2 встановлено після того, як виявилось, що протизапальний агент аспірин пригнічує NF- κ B, запобігаючи деградації його інгібітора – інгібітора ядерного фактора каппа В. На сьогодні доведено головну роль у патогенезі ІР та ЦД2 NF- κ B. Надекспресія І κ B кінрази 2, що призводить до тривалої активації NF- κ B, наприклад, при хронічному запаленні печінки, імітує ефект висококалорійної дієти (ВКД) або індукованої ожирінням ІР. Навпаки, зниження активності NF- κ B шляхом коекспресії І κ B α у печінці послаблює прояви ЦД2. Системна нейтралізація ІЛ-6 спричиняє значне послаблення ІР у трансгенних мишей з експресією інгібітора кінрази в печінці, а застосування інгібітора сигнального шляху інтерлейкіну 1 (ІЛ-1) зменшує гіперглікемію, спричинену запаленням. Ці результати свідчать про те, що NF- κ B та

його гени-мішені (TNF α , IL-1 та IL-6) відіграють головну роль у розвитку IP [167]. TNF α , який регулюється NF- κ B і, у свою чергу, є потужним активатором NF- κ B, індукує IP, опосередковуючи фосфорилування білків-субстратів інсулінових рецепторів [74].

Суттєвою ланкою патогенезу ЦД2 та МС, пов'язаною з метаболічною роллю вісцерального жиру, є надлишок ВЖК у крові [125, 130]. ВЖК у крові з'являються в результаті звільнення їх із адипоцитів за допомогою гормоночутливої ліпази та у зв'язку з роботою ліпопротеїнової ліпази на ендотелії капілярів легень, серця та інших внутрішніх органів. IP не дозволяє інсуліну ефективно пригнічувати ліполіз [219]. Надлишок ВЖК знижує чутливість печінки та інших тканин до інсуліну вдруge як через постачання альтернативного субстрату окиснення, так і через порушення в післярецепторній передачі інсулінового сигналу, зумовлюючи порочне коло в патогенезі МС. За надлишку ВЖК у гепатоцитах формується надлишок ацил-КоА та його похідних типу церамідів, активується N-кінцева кіназа білка передранньої реакції протоонкогена c-jun. Це порушує роботу протеїнкінази C і пострецепторне фосфорилування тирозину в субстратах інсулінового рецептора IRS-I та IRS-II, особливо - у носіїв їхніх мутантних алелей. Водночас інсуліночутливість різних пострецепторних метаболічних шляхів в одній і тій самій клітині виявляється різною. Білок SREBP-1c (білок, що зв'язує стеролчутливий елемент, важливий учасник опосередкування ефекту інсуліну на ліпогенез) зберігає чутливість до стимулювальної дії інсуліну, і ліпогенез у печінці зростає. Цьому можуть сприяти мутації SREBP.

Таким чином, ВЖК у печінці збільшують продукцію ліпопротеїдів дуже низької густини (ЛПДНГ) і збагачують тригліцеридами інші ліпопротеїди, а продукція ліпопротеїдів високої густини (ЛПВГ) гальмується. Це сприяє стеатозу печінки та дисліпемії, що призводить до посилення активності ліпопротеїнової ліпази, подальшому зростанню концентрації ВЖК та підвищенню активності системи зсідання крові (підвищення рівня фібриногену, зниження факторів фібринолізу). Наслідком цього є гіпертригліцеридемія.

При надлишку ВЖК захоплення глюкози в м'язах знижується. Цим ланкам

патогенезу МС сприяють спадкові особливості білка-переносника ВЖК і дефекти мітохондріального окиснення ВЖК у м'язах у багатьох осіб із ЦД2. Усе це спричиняє компенсаторні гіперінсулінемію та гіперлептинемію, які стимулюють симпатичну нервову систему. Інсулін посилює експресію Na^+ - H^+ -протипереносника, що сприяє затримці натрію і кальцію та розвитку артеріальної гіпертензії.

На сьогодні встановлено, що адипоцити є важливим джерелом низки сигнальних молекул паракринної та ендокринної дії, які беруть участь у патогенезі ЦД2 та МС, таких як лептин; ФНПа; інтерлейкіни-1, 6, 8 (ІЛ-1, 6, 8); інгібітор активатора плазміногену І типу (ІАП-I); білок-стимулятор ацилювання; ангіотензин II; резистин; адипсин; трансформуючий фактор росту- β (ТФР- β); адипофілін; адипонектин; периліпін.

Лептин - один із головних імунонейроендокринних регуляторів, основний сигнал для гіпоталамуса про насичення і стимулятор динамічної дії їжі, активатор диференціювання і функцій Т-хелперів 1-го типу, промотор остеогенезу. Гіперлептинемія завжди супроводжує ЦД2 та МС. Гіперлептинемія робить внесок у формування ІР, оскільки лептин гальмує експресію інсулінової м-РНК і секрецію інсуліну [112]. У печінці лептин знижує тирозин-фосфорилуючу дію інсуліну на IRS-1 і гальмує зв'язування цього важливого пострецепторного посередника інсуліну з білком GRB-2, який бере участь в анаболічних і ростових ефектах інсуліну [83].

ФНПа вивчено як гуморальний агент вторинної альтерації, цитокін-регулятор передімунної та імунної відповідей, ендогенний піроген, індуктор апоптозу і некробіозу [191]. Цей цитокін гальмує тирозин-протеїнкіназну активність рецептора інсуліну та експресію глюкозного переносника GLUT-4 у м'язах і самих адипоцитах [67, 117]. Адипоцити при ушкодженні та перевантаженні жиром секретують ФНПа разом з іншими прозапальними цитокінами - ІЛ-6, ІЛ-8 та ІЛ-1, що призводить до характерного для МС підвищення концентрації С-реактивного білка, експресії на ендотеліоцитах молекул клітинної адгезії (компонентом яких є С-реактивний білок) та зсуву співвідношення гемостатичних

та антигемостатичних механізмів у тромбофілічний, прокоагулянтний бік. ФНПа сприяє секреції лептину та гіперлептинемії.

Гіперсекреція жировою тканиною прозапальних цитокінів - характерна риса МС. Як уже було сказано вище, це відображає низькорівневий запальний процес у жировій тканині.

Інгібітор активатора плазміногену І типу (ІАП-I) необхідний для підтримання цитоархітектури пухкої сполучної, а отже, і жирової тканини, оскільки він сприяє прикріпленню ліпоцитів до міжклітинних структур. При ЦД2 та МС цей цитокін секретується адипоцитами в надлишку, і його системна дія знижує активність антигемостатичних механізмів судинної стінки та плазми.

При МС жировою тканиною в надлишку секретується білок-стимулятор ацилювання. Він сприяє захопленню глюкози адипоцитами і, можливо, гепатоцитами з перетворенням її на ліпіди. Він стимулює діацилгліцерол-ацилтрансферазу і, навпаки, гальмує гормоночутливу ліпазу [118, 179].

Резистин - пептид, що індукується під час диференціювання адипоцитів із фібробластів. У зрілих адипоцитах його експресія пригнічується [181]. За МС його концентрація підвищена. Резистин спричиняє ІР гепатоцитів і м'язових клітин *in vivo* та *in vitro* [209].

Адипсин виробляється жировою тканиною під час ліполізу і, будучи центральним антагоністом лептину, стимулює центр голоду в гіпоталамусі. В осіб із МС за харчового циклу «голод-насичення» може порушуватися нормальне чередування виділення адипоцитами лептину й адипсину [69].

Адипофілін - білок-маркер накопичення адипоцитів різної локалізації, його рівень у крові підвищений у разі МС і хвороб, для яких МС є фактором ризику [192].

Трансформуючий фактор росту β (ТФР β) – протизапальний цитокін, інгібітор колагеназ і еластаз, медіатор фіброплазії [179]. Продукція цього цитокіна стимулюється лептином, зокрема, у Т-лімфоцитах, хелперах 1-го типу. Таким чином, за МС є умови для його надлишкової продукції та участі в патогенезі.

Адипонектин – мабуть, на сьогодні – головний кандидат на роль «захисника

організму» від розвитку МС. Адипонектин секретують практично тільки адипоцити, причому в адипоцитах вісцерального (але не підшкірного) жиру його продукція в міру зростання індексу маси тіла сильно знижується. При МС його концентрація також сильно знижується зворотно пропорційно частці абдомінального жиру. Цей цитокін є протизапальним агентом, конкурентним антагоністом ФНП α , стримує активацію макрофагів, сенсibiliзує тканини до дії інсуліну, будучи, можливо, його головним пермісивним союзником. Через рецептор 1-го типу адипонектин прискорює окиснення глюкози та ВЖК у м'язах (у печінці – через рецептор 2-го типу), пригнічує глюконеогенез. Це – антиатерогенний, ліпотропний для печінки та антивазкулітний для судин фактор, член сімейства колагеноподібних білків. Він утворює мультимери і циркулює в крові в різних формах, причому найбільш високомолекулярні його комплекси тропні до гепатоцитів і судин. У міоцитах і ендотеліоцитах є ліганд адипонектину – Т-кадгерин [47].

Адипонектин і ФНП α – реципрокні антагоністи, причому дія тiazолідиндіонів, що сприяють відновленню чутливості тканин до інсуліну, опосередкована саме через індукцію першого.

Останнім часом увагу дослідників привернуто до периліпіну. Ступінь фосфорилування цього цитокіну жирової тканини пов'язаний із регуляцією швидкості ліполізу в адипоцитах, яка порушується в осіб із МС [175].

У рамках будь-якої з теорій патогенезу ЦД2 та МС велике значення мають вторинні причинно-наслідкові зв'язки та порочні кола, пов'язані із взаємним впливом його складових. Найімовірнішою є така послідовність обмінних розладів за МС: розвиток метаболічного синдрому розпочинається на тлі полігенних спадкових дефектів та аліментарно-гіподинамічного способу життя з абдомінального ожиріння, яке призводить до формування ліпотоксичного ушкодження адипоцитів, недостатності їхньої депонуючої функції та дефіциту адипонектину [227]. Це призводить до ліпокінової відповіді, описаної вище, що й сприяє подальшому нанизуванню патогенетичних ланок МС, зокрема, ІР. Так, гіперлептинемія сприяє окислювальному ушкодженню гепатоцитів і стеатозу

печінки [98,175].

Потім, на тлі порушення метаболічних функцій гепатоцитів, виникає низка порушень, що складається з гіперінсулінемії, гіпертригліцеридемії, артеріальної гіпертензії та ЦД2, що прискорює атерогенез і формує серцево-судинні та тромботичні ускладнення.

Оксидативний стрес відіграє ключову роль у розвитку метаболічних розладів, що сприяють формуванню ІР. Однак досі ведуться дискусії щодо того, чи є він лише комплексом біохімічних реакцій або ж окремою клінічною сутністю, що лежить в основі різних патофізіологічних процесів. Сучасні дослідження підтверджують, що накопичення АФК і посилене перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ) відіграють важливу роль у патогенезі ЦД2 [104, 176].

Під впливом АФК зазнають хімічних змін майже всі клітинні структури, що зрештою призводить до ПОЛ. Саме ПОЛ є головним чинником, що запускає розвиток оксидативного стресу, який, у свою чергу, сприяє формуванню патофізіологічних змін, характерних для ЦД2. Це супроводжується численними метаболічними порушеннями, включаючи дисфункцію сигнальних шляхів, що посилює гіперглікемічні ускладнення.

Гіперінсулінемія, гіпераполіпопротеїнемія-В та підвищена концентрація дрібних щільних частинок ліпопротеїдів низької щільності (ЛПНГ), які разом утворюють так звану «атерогенну метаболічну тріаду», є основою для розвитку атеросклеротичних уражень. Таким чином, ІР і гіперінсулінемія, що характерні для андроїдного ожиріння, розглядаються як фактори ризику виникнення ЦД2. Важливу роль у цьому процесі відіграє знижена чутливість інсулінових рецепторів на рівні тканин, а також порушення продукції інсуліну у відповідь на гіперглікемію [77].

Тривала гіперінсулінемія призводить до виснаження β -клітин острівців Лангерганса: їхня кількість зменшується, порушується конверсія проінсуліну в інсулін, що згодом спричиняє зниження секреції гормону. Внаслідок цього гіпоглікемія поступово переходить у знижену толерантність до вуглеводів, а надалі – у явний ЦД, у деяких випадках з необхідністю інсулінотерапії [153].

Оскільки дослідження спрямоване на експериментальне вивчення рослинного екстракту при ЦД2 і МС, доцільно розглянути сучасні антидіабетичні засоби. Це дозволить обґрунтувати необхідність створення нового препарату та визначити його потенційне місце у фармакотерапії ЦД2 і МС.

1.2 Сучасні підходи до комплексної терапії цукрового діабету 2 типу та метаболічного синдрому

Програма мереджменту ЦД2 включає такі підходи до лікування: зміна способу життя (дієта, фізична активність, зниження рівня стресу), використання цукрознижувальних препаратів, навчання та самоконтроль, а також хірургічне лікування (баріатрія) при морбідному ожирінні.

Основним завданням у терапії ЦД2 є зниження ІР. Найефективніший спосіб підвищення чутливості до інсуліну – зменшення маси тіла. Однак для більшості пацієнтів зміни в способі життя недостатні для досягнення оптимального рівня глікемічного контролю [134].

Препаратами першої лінії при ЦД2 є похідні сульфонілсечовини та бігуаніди.

Бігуаніди використовуються понад 50 років, але через ризик розвитку лактатацидозу такі засоби, як фенформін і буформін, були виключені з терапії. У 2005 році IDF, а з 2006 року Американська та Європейська асоціації діабетологів (American Diabetes Association та European Association for the Study of Diabetes) визначили метформін як основний препарат першої лінії[78]. Метформін належить до антигіперглікемічних засобів, оскільки знижує рівень глюкози в крові без впливу на секрецію інсуліну. Його дія базується на зменшенні інсулінорезистентності, підвищенні засвоєння глюкози м'язами і жировою тканиною, пригніченні синтезу глюкози в печінці та зменшенні її всмоктування у кишечнику [123,177].

Проте у випадках прогресуючого ЦД2 навіть поєднання метформіну із секретагогами (похідними сульфонілсечовини або прандіальними регуляторами) може бути недостатнім для контролю рівня глюкози [94,199].

Похідні сульфонілсечовини (ПСС) діють шляхом блокування АТФ-чутливих калієвих каналів у β -клітинах підшлункової залози, що стимулює вивільнення інсуліну. Вони також знижують метаболізм інсуліну в печінці, зменшують секрецію глюкагону та підвищують чутливість тканин до інсуліну. Основними побічними ефектами є збільшення ваги та ризик гіпоглікемії [75].

Прандіальні регулятори (глініди) забезпечують короткочасне підвищення секреції інсуліну, що дозволяє контролювати рівень глюкози після прийому їжі. Механізм дії препаратів цієї групи полягає в закритті АТФ-чутливих K^+ -каналів в клітинах ПЗ, що сприяє деполяризації і відкриттю Ca^{2+} -каналів, у зв'язку з чим збільшується надходження кальцію в β -клітини, що, у свою чергу, призводить до секреції інсуліну. Важливо відзначити, що дію глінідів на АТФ-чутливі K^+ -канали в β -клітині можна порівняти за силою дії з ПСС, але реалізують даний ефект ці дві групи препаратів через різні місця зв'язування на поверхні β -клітини [133]. Найбільш поширеним препаратом цієї групи є репаглінід (Новонорм).

Інгібітори α -глюкозидаз (міглітол, акарбоза) гальмують ферменти, що розщеплюють складні вуглеводи, знижуючи всмоктування глюкози у кишечнику. Акарбоза та міглітол оборотно інгібують α -глюкозидази та інші ферменти, що сприяє контролю рівня глюкози після їжі. Завдяки фармакокінетичним особливостям цих лікарських засобів їхня дія здебільшого відбувається у верхній частині тонкого кишечника. У дистальній його частині здатність інгібувати α -глюкозидази послаблюється, в результаті чого неперетравлені оліго- і дисахариди розщеплюються на моносахариди та всмоктуються всередину ентероцитів [49]. Отже, під дією інгібіторів α -глюкозидаз уповільнюються процеси ферментування складних вуглеводів і, як наслідок, зменшується швидкість усмоктування продуктів цього процесу (моносахаридів). Саме тому не відбувається різкого підвищення рівня глікемії після їжі. Побічні ефекти інгібіторів α -глюкозидаз не можна назвати небезпечними, однак вони досить часто є причиною відміни лікарських засобів. Унаслідок дії препарату в товстий кишечник надходить значна кількість вуглеводів. Тут вони зазнають процесів бродіння з утворенням великої кількості газів. Через це в пацієнтів часто виникають метеоризм і діарея.

Тіазолідиндіони, зокрема піоглітазон, почали застосовувати як препарати другого ряду для лікування пацієнтів із цукровим діабетом 2 типу з 1997 року. Їхньою ключовою особливістю є зниження інсулінорезистентності, головним чином у м'язових клітинах та адипоцитах. Спочатку глітазони розроблялися в Японії у 1980-х роках як антиоксиданти, однак подальші дослідження виявили їхню здатність знижувати рівень глюкози в крові, особливо у тварин із генетичною схильністю до інсулінорезистентності. Хоча ці препарати поступаються сульфонілсечовині та метформіну за цукрознижувальною активністю, вони впливають на механізми розвитку інсулінорезистентності та сприяють збереженню функції β -клітин підшлункової залози [124].

Першим схваленим для клінічного застосування препаратом цієї групи став троглітазон (резулін), однак його швидко відкликали через токсичний вплив на печінку. У 1999 році у США були схвалені розиглітазон і піоглітазон, проте на сьогодні використовується лише піоглітазон, оскільки розиглітазон був заборонений в Україні у 2010 році через підвищений ризик серцево-судинних ускладнень, зокрема серцевої недостатності.

Піоглітазон є агоністом PPAR- γ – ядерних рецепторів, що містяться у клітинах-мішенях інсуліну в жировій тканині, скелетних м'язах і печінці. Його дія сприяє підвищенню чутливості адипоцитів до інсуліну, покращенню засвоєння глюкози, її накопиченню в м'язах і жировій тканині, а також зменшенню викиду глюкози печінкою, що позитивно впливає на рівень глікемії [61]. Завдяки частковій активації PPAR- α препарат також знижує рівень тригліцеридів, підвищує концентрацію ЛПВЩ, зменшує дисліпідемію та пригнічує розвиток атеросклерозу [231].

Однак серед побічних ефектів піоглітазону відзначають збільшення маси тіла через затримку рідини та зниження щільності кісткової тканини. Також є дані про підвищений ризик розвитку раку сечового міхура при застосуванні високих доз препарату протягом двох років.

Інкретиноміметики почали застосовувати в клінічній практиці з кінця 2000-х років XXI століття як препарати, що впливають на дію гормонів інкретинів. Ці

гормони були відкриті після встановлення факту, що пероральне споживання глюкози стимулює вироблення інсуліну значно сильніше, ніж її внутрішньовенне введення. Було виявлено два природних інкретини: глюкагоноподібний пептид-1 (ГПП-1) і глюкозозалежний інсулінотропний поліпептид-1 (ГІП-1), які відіграють регулюючу роль у синтезі інсуліну [59, 147].

Натепер препарати - інкретиноміметики в Україні представлено двома підгрупами:

- аналоги ГПП-1: ексенатид (Баєта) та ліраглутид (Віктоза);
- пролонгатори дії ендogenous ГПП-1 – інгібітори дипептилпептидази-4 (ІДПП-4): ситагліптин (Янувія), вілдагліптин (Гальвус), саксагліптин (Онгліза), лінагліптин (Тражента).

Механізм дії цих препаратів (рис. 1.1) полягає у прямій чи опосередкованій активації рецепторів ГПП-1 – ендogenous гормону інкретину, що синтезується у К-клітинах слизової кишечника (переважно дванадцятипалої та тонкої кишок) у відповідь на прийом їжі [99].

Основними характеристиками цього процесу є: стимуляція β -клітин підшлункової залози до секреції інсуліну; пригнічення надмірного синтезу глюкагону, залежного від рівня глюкози; регуляція моторики шлунково-кишкового тракту; стимулюючий вплив на гіпоталамічні ядра, що беруть участь у контролі відчуття насичення [82]. Крім того, активація рецепторів ГПП-1 сприяє розмноженню β -клітин підшлункової залози, збільшенню їхньої маси та запобігає апоптозу. Також стимуляція цих рецепторів зменшує вироблення глюкози в печінці, знижує інсулінорезистентність у м'язовій і жировій тканинах, а в кістковій – перешкоджає розвитку остеопенії та остеопорозу.

Міметична дія на рецептори ГПП-1 підвищує рівень циклічного аденозинмонофосфату (цАМФ), активує протеїнкіназу А та стимулює екзоцитоз інсулінових гранул із β -клітин підшлункової залози у відповідь на підвищену концентрацію глюкози в крові [200]. Оскільки у здорових людей «інкретиновий ефект» забезпечує до 70% постпрандіальної секреції інсуліну, а у пацієнтів із цукровим діабетом 2-го типу він значно знижений, застосування

інкретиноміметиків допомагає відновити або суттєво покращити першу фазу інсулінової відповіді.

Важливо, що при розвитку гіпоглікемії секреція інсуліну автоматично знижується, але вироблення глюкагону не порушується. Таким чином, покращення глікемічного контролю за допомогою інкретиноміметиків включає: зниження загального рівня глюкози, зменшення постпрандіальної глікемії та покращення показника HbA1c. Крім того, зменшення апетиту та споживання їжі, а також зниження абсорбції глюкози сприяють зниженню маси тіла у хворих на ЦД2.



Рис. 1.1. Фармакодинаміка інкретиноміметиків (І. С. Чекман, В. В. Бондур, О. В Клименко, 2016)

Препарати першої підгрупи за хімічною структурою є амідопептидами амінокислотного походження, які частково або майже повністю імітують людський ГПП-1. Вони випускаються у формі розчинів для парентерального введення. Серед можливих побічних ефектів при їх застосуванні спостерігаються гіпоглікемія, нудота, блювання, діарея, запаморочення та головний біль, причому їх інтенсивність залежить від дози.

Оскільки необхідність парентерального введення значно обмежує зручність використання цих препаратів, були розроблені пероральні засоби, що сприяють непрямому підвищенню рівня ГПП-1 та ІДПП-4. У природних умовах ГПП-1 швидко руйнується ферментом дипептидилпептидазою 4-го типу (ДПП-4), який знаходиться на поверхні ендотеліальних клітин капілярів слизової оболонки кишечника. Цей фермент також виявляється в інших тканинах і впливає на цитокіни та нейропептиди.

На відміну від аналогів ГПП-1, інгібітори ДПП-4 менш виражено підвищують рівень ГПП-1, але сприяють зростанню концентрації ГПП-1. Вони не настільки ефективні у зниженні маси тіла, проте мають кращу переносимість і є більш зручними у застосуванні [150].

Першим препаратом цієї групи, схваленим для клінічного використання, став *ситагліптин* (Янувія) – високоселективний інгібітор ДПП-4. Його дія сприяє підвищенню рівня інкретинів, що веде до посиленого глюкозозалежного синтезу інсуліну та зниження секреції глюкагону. У пацієнтів із ЦД2 разовий прийом препарату пригнічує активність ДПП-4 протягом 24 годин. Найпоширенішими побічними ефектами є головний біль, розлади травлення (закрепи, діарея, нудота), артралгії та периферичні набряки [79].

Вільдагліптин (Гальвус) після прийому всередину швидко всмоктується, досягаючи максимальної концентрації (C_{max}) через 1,7 години. Його застосовують як у вигляді монотерапії (при непереносимості метформіну), так і в комбінації з метформіном, тіазолідиндіоном, похідними сульфонілсечовини та інсуліном.

Саксагліптин (Онгліза) також швидко всмоктується, досягаючи C_{max} у плазмі крові через 2 години, при цьому його біодоступність становить 75%.

На сьогодні клінічні дослідження не виявили значних переваг жодного з гліптинів. Відмінними особливостями окремих препаратів є найдовший період напіввиведення та тривалість пригнічення ДПП-4 у ситагліптину, а також наявність активного метаболіту у саксагліптину. Окрім монотерапевтичних засобів, в Україні зареєстровані їх комбінації з метформіном: Янумет, Гальвусмет, Комбогліза XR [126].

Щодо **інгібіторів натрій-залежного котранспортера глюкози 2-го типу**, у листопаді 2012 року Європейські регуляторні органи схвалили *дапагліфлозин* (Форксіга) як перший у Європі пероральний інгібітор SGLT-2. Попри те, що регуляторні органи США спочатку відхилили його застосування, у березні 2013 року FDA (Управління з контролю якості харчових продуктів і лікарських засобів США) схвалило використання інших препаратів цієї групи – *канагліфлозину* (Інвокана) та *емпагліфлозину* (Джардинс) для лікування ЦД2.

Також доступні комбіновані препарати, що містять інгібітори натрій-глюкозного транспортера разом з іншими активними компонентами: Інвокамет (канагліфлозин + метформін), Ксигдуо (дапагліфлозин + метформін), Синджарді (емпагліфлозин + метформін) і Гліksamбі (емпагліфлозин + ліпагліптин) [166].

Дапагліфлозин (Форксіга) – це високоефективний, селективний і зворотний інгібітор SGLT-2, який переважно експресується в нирках і не виявляється в інших тканинах. Він не пригнічує інші переносники глюкози, що відіграє важливу роль у транспортуванні глюкози до периферичних тканин. Його селективність щодо SGLT-2 перевищує аналогічний показник у понад 1400 разів, оскільки цей переносник є основним для транспортування глюкози в кишечнику [165]. Дослідження фармакодинамічної дії у пацієнтів із цукровим діабетом 2 типу показали, що прийом дапагліфлозину у дозі 10 мг на добу протягом 12 тижнів сприяє значному підвищенню виведення глюкози (до 70 г/добу, що еквівалентно 280 ккал/добу) та збільшенню об'єму сечі (375 мл/добу). При цьому спостерігалось тимчасове зростання екскреції сечової кислоти (впродовж 3-7 днів) і стабільне зниження її рівня в сироватці крові [221].

Канагліфлозин (Інвокана) швидко всмоктується, досягаючи максимальної концентрації в крові протягом 1-2 годин. Його ефективність, як і інших інгібіторів SGLT-2, була підтверджена у плацебо-контрольованих дослідженнях, де встановлено, що ці препарати сприяють значному зниженню рівня глюкози натще, постпрандіальної гіперглікемії, показника HbA1c, а також маси тіла (до 4,6 кг). Порівняльні дослідження із ситагліптином та препаратами сульфонілсечовини

засвідчили аналогічну гіпоглікемічну активність канагліфлозину, але з більш вираженим позитивним впливом на масу тіла.

Серед можливих побічних ефектів застосування інгібіторів SGLT-2 відзначають порушення функції нирок, гіперкаліємію, генітальні грибкові інфекції (особливо у жінок), збільшення частоти сечовипускання, підвищення рівня ЛПНГ а також ризик розвитку гіпоглікемії при одночасному застосуванні з інсуліном або стимуляторами секреції інсуліну. Завдяки своїм діуретичним властивостям ці препарати можуть знижувати об'єм внутрішньосудинної рідини, що іноді призводить до ортостатичної або постуральної гіпотензії. У тривалих дослідженнях (понад рік) були зафіксовані поодинокі випадки зниження мінеральної щільності кісткової тканини, що спричиняло підвищення частоти переломів стегна та поперекового відділу хребта. Достовірного підвищення ризику розвитку раку сечового міхура або молочної залози при застосуванні канагліфлозину не виявлено, однак дослідження у цьому напрямку тривають [72].

Аміноміметики включають амілін, який є гастроінтестинальним гормоном. Він виробляється β -клітинами підшлункової залози, а також ендокринними клітинами шлунка і проксимального відділу тонкої кишки. Амілін регулює травлення, сповільнюючи випорожнення шлунка і пригнічуючи секрецію глюкагону. У пацієнтів із ЦД2 поряд із дефіцитом інсуліну спостерігається і недостатність аміліну. Обидва гормони взаємодіють у процесі регуляції рівня глюкози в крові: амілін через гіпоталамічні ядра сприяє відчуттю ситості, зменшує апетит і гальмує секрецію глюкагону залежно від рівня глюкози, тоді як інсулін сприяє поглинанню глюкози м'язами та жировою тканиною. Прамлінтид, що є аналогом аміліну, застосовується для лікування інсулінозалежних хворих на ЦД2 у вигляді підшкірних ін'єкцій у комбінації з інсуліном, пероральними цукрознижувальними засобами або метформіном.

1.3 Роль фітотерапії в комплексному лікуванні цукрового діабету 2 типу та метаболічного синдрому

Неадекватний контроль рівня глюкози в крові може призвести до серйозних наслідків, що спричиняють численні ускладнення при ЦД2. Пероральні гіпоглікемічні засоби, які були розглянуті раніше, ефективно регулюють рівень глюкози, однак мають значну кількість побічних ефектів і не завжди справляються з комплексом метаболічних порушень. Лікарські рослини можуть слугувати альтернативним джерелом біологічно активних речовин із широким спектром дії. Їхній сприятливий потенціал зумовлений синергійною дією біологічно активних компонентів.

Засоби на основі лікарських рослин історично були першими препаратами для лікування ЦД і досі широко використовуються як доповнення до сучасних методів фармакотерапії. Фармацевтична промисловість випускає їх у вигляді монокомпонентних екстрактів, настоїв, відварів, продуктів глибокої переробки рослинної сировини, а також у складі багатокомпонентних фармацевтичних і парафармацевтичних засобів [187]. Вони впливають на патогенетичні механізми розвитку ЦД2, включаючи стимуляцію вироблення інсуліну β -клітинами підшлункової залози, регуляцію дії інсуліну, синтез і утилізацію глюкози в печінці та периферичних тканинах, зниження інсулінорезистентності, а також поліпшення загального стану та самопочуття пацієнтів.

Для зменшення всмоктування вуглеводів у шлунково-кишковому тракті застосовується препарат гуарем, до складу якого входить гуарова смола, отримана з ендосперму насіння *Cyamopsis tetragonolobus* (горохового дерева), що належить до родини бобових. При прийомі всередину гуарова смола у взаємодії з водою утворює в'язкий гель, який значно набухає у шлунку. Це сповільнює випорожнення шлунка, зменшує всмоктування вуглеводів і холестерину в тонкому кишечнику, стимулює секрецію жовчних кислот і прискорює метаболізм холестерину в печінці. За даними деяких досліджень, тривале застосування гуарової смоли сприяє зниженню маси тіла у людей із ожирінням, зменшенню рівня глюкози в крові на 1-2 ммоль/л, а також зниженню рівня холестерину та ЛПНГ на 10-15% від початкового рівня [135].

Стулки плодів квасолі містять такі корисні речовини, як бетаїн, аргінін, лізин,

триптофан, тирозин, лейцин, аспарагін, холін, геміцелюлозу (до 50%), а також макро- та мікроелементи (кремній, мідь, кобальт, нікель). Вживання цих компонентів сприяє покращенню обміну вуглеводів та інших речовин в організмі, а також має гіпоглікемічну, судинорозширювальну, сечогінну та антибактеріальну дію.

Пагони чорниці містять дубильні речовини пірокатехінового ряду, флавоноїди (зокрема кверцетин, кверцитрин, ізокверцитрин), тритерпенові кислоти (наприклад, урсолова), сапоніни, фенолокислоти (хінна, хлорогенова), глікозид арбутин, гідрохінон, аскорбінову кислоту та каротиноїди [142]. Вони позитивно впливають на рівень глюкози в крові, чинять протизапальну, сечогінну, жовчогінну та в'яжучу дію, а також стимулюють діяльність підшлункової залози.

Фітозбір «Арфазетин» випускається у фільтр-пакетах по 1,5 г. До його складу входять: пагони чорниці (0,2 г), стулки плодів квасолі (0,2 г), кореневища та корені елеутерококу (0,15 г), плоди шипшини (0,15 г), трава хвоща польового (0,1 г), трава звіробою (0,1 г), квітки ромашки (0,1 г). Лікувальний ефект збору зумовлений дією таких біологічно активних речовин, як флавоноїди та міртилін чорниці, тритерпенові глікозиди, робінін і рутин квасолі, органічні кислоти, каротиноїди, вітаміни С та Р, що містяться у плодах шипшини, сапоніни та кремнієва кислота хвоща, гіперіцин звіробою, а також ефірні олії та слизи ромашки. Завдяки комплексній дії цих компонентів препарат має гіпоглікемічні, ангіопротективні та імуномодулюючі властивості.

Фітозбір «Садифіт» випускається у фільтр-пакетах по 3 г. До його складу входять: бульби топінамбура (0,2 г), листя стевії (0,2 г), пагони чорниці (0,2 г), стулки плодів квасолі (0,2 г), зелений чай (0,15 г) та листя м'яти перцевої (0,05 г).

Новітні досягнення у галузі фармакології суттєво розширюють можливості вибору лікувальних засобів та їх поєднань з метою забезпечення належного глікемічного контролю та безпеки терапії при ЦД2 (рис. 1.2).



Рис. 1.2. Класифікація пероральних цукрознижувальних препаратів (І. С. Чекман, В. В. Бондур, О. В. Клименко, 2016)

Протягом останніх десятиліть активно проводяться дослідження фітохімічних сполук, що мають різноманітні антидіабетичні властивості. Наукові дані свідчать про те, що поліфеноли здатні взаємодіяти з різними молекулярними шляхами, залученими до метаболізму глюкози [53]. Багато років увага приділяється вивченню впливу різних підкласів флавоноїдів на сигнальний шлях інсуліну як у лабораторних умовах (*in vitro*), так і в експериментальних моделях на тваринах

[182]. Зокрема, встановлено, що флаваноли, флавоноли, флаванони, антоціани та ізофлавоноли, а також їх основні харчові джерела, сприяють поглинанню глюкози скелетними м'язами та жировою тканиною, а також знижують її вироблення та вивільнення печінкою. Основний механізм дії флавоноїдів пов'язаний з активацією PI3K/Akt-шляху, що стимулює транслокацію GLUT4, пригнічує глюконеогенез і підсилює синтез глікогену [173].

Рослинні поліфеноли відзначаються вираженими антиоксидантними властивостями, що значною мірою зумовлює їх потенційні антидіабетичні ефекти [80]. Флавоноїди впливають на клітинні мембрани, змінюючи фазовий стан ліпідів і структурну організацію мембран. Крім того, доведено їхню здатність впливати на експресію ядерних і цитоплазматичних білків. Важливим аспектом біологічної активності біофлавоноїдів є їхня участь у клітинних сигнальних системах [90].

Перспективною рослинною сировиною для створення антидіабетичних засобів є журавлина великоплідна (*Vaccinium macrocarpon*), представник родини Вересових (*Ericaceae*). Використання листя цієї рослини для отримання поліфенольного екстракту обґрунтоване його високим вмістом фенольних сполук, які мають гіпоглікемічні властивості. Серед них – прості феноли (арбутин), флавоноїди, що покращують мікроциркуляцію завдяки мембраностабілізуючій і антиоксидантній дії, а також аскорбінова та гідроксикоричні кислоти (галова й хлорогенова кислоти) [28].

Журавлина звичайна широко поширена в лісових екосистемах Карпат і Північної України, а площі культивування великоплідної журавлини як плодово-ягідної культури постійно зростають, забезпечуючи достатню сировинну базу. Розглянемо фенольні сполуки, наявні в листі журавлини великоплідної та відповідних екстрактах, отриманих із цієї рослинної сировини.

Арбутин, який є природним гідрохіноновим глікозидом, володіє антиоксидантною активністю та здатний нейтралізувати вільні радикали, що підтверджено в дослідженнях *in vitro* та *in vivo*. Як антиоксидант, він гальмує процеси перекисного окислення ліпідів у лізосомальних мембранах, що веде до зниження активності лізосомальних ферментів [138]. Виявлено, що арбутин чинить

захисний вплив на серцеву тканину в умовах оксидативного стресу, спричиненого ЦД2, завдяки своїм антиоксидантним властивостям. Також встановлено, що він сприяє зниженню рівня гіперглікемії, дисліпідемії та інсулінорезистентності, що пов'язано з підвищенням рівня PPAR γ у печінці. Дослідження показали, що арбутин здатний інгібувати α -глюкозидазу *in vitro*, а результати *in silico* підтвердили його взаємодію з PPAR γ , гексокіназою та α -глюкозидазою. Введення арбутину призводило до зменшення рівня тригліцеридів (ТГ), ЛПДНГ та ЛПНГ, одночасно підвищуючи рівень ЛПВГ [228].

Галова кислота (ГК) – природний фенольний компонент, широко поширений у рослинному світі, зокрема в листі великоплідної журавлини. В останні роки численні дослідження підтвердили її гіпоглікемічний ефект як *in vitro*, так і *in vivo* [93]. Введення ГК сприяло підвищенню експресії печінкових інсулінових сигнальних білків, зокрема PI3K/Akt, IRS1 і GLUT2 [173]. Додатково було встановлено, що ГК підсилює інгібуючий вплив на ферменти α -амілазу та α -глюкозидазу у щурів із ЦД2 при одночасному застосуванні з гіпоглікемічними препаратами. Крім того, ГК чинить позитивний вплив на запобігання діабетичному ураженню печінки, зокрема шляхом стимуляції експресії GLP-1 імунореактивних клітин у термінальній частині клубової кишки. Дослідження показали, що ГК може зменшити ушкодження печінки, викликане ЦД2, завдяки активації експресії мРНК GLUT-4, протоонкогену Wnt1 та бета-катеніну, а також пригнічення експресії сигнальних кіназ ERK1/2/NF- κ B.

Фенольні сполуки рослинного походження, зокрема гідроксикоричні кислоти, включають *хлорогенову кислоту* (ХГК) та її ізомери. Метаболіти ХГК, такі як кавова, ферулова, ізоферулова, дигідроферулова, ванілінова та інші кислоти, демонструють антиоксидантні властивості [140]. У досліджах на мишах C57BL/KsJ-db/db було вивчено антиоксидантну активність кавової кислоти, оцінюючи показники активності супероксиддисмутази (СОД), каталази, глутатіонпероксидази, а також концентрацію перекису водню і ТБК-активних продуктів [225]. Гіпоглікемічний ефект ХГК підтвердили дослідження південнокорейських учених на тій же лінії мишей. Встановлено, що ХГК підвищує

рівень інсуліну, С-пептиду та лептину в плазмі, одночасно знижуючи концентрацію глюкагону та глікозильованого гемоглобіну [12]. Крім того, в печінці спостерігалось зростання запасів глікогену, підвищення активності глюкокінази та зниження активності глюкозо-6-фосфатази й фосфоенолпіруват-карбоксикази. Також було виявлено, що ХГК знижує експресію транспортера глюкози GLUT-2 у печінці, водночас підвищуючи активність GLUT-4 у жировій тканині [163]. Цей механізм сприяє гальмуванню глюконеогенезу в гепатоцитах, що веде до зниження рівня глюкози в крові, покращення чутливості до інсуліну та підвищення толерантності до глюкози. ХГК також є потужним інгібітором ферментів α -амілази та α -глюкозидази [131].

У жировій тканині похідні гідроксикоричної кислоти пригнічують інфільтрацію макрофагів та активацію NF- κ B у тварин із ожирінням. Окрім цього, вони запобігають диференціації адипоцитів і нормалізують ліпідний профіль у лабораторних моделях [52].

Дослідження світового фармацевтичного ринку та аналіз медичної літератури свідчать про зростаючу зацікавленість у терапевтичному застосуванні амінокислот - як у вигляді окремих лікарських засобів, так і як складових лікарських препаратів. Серед актуальних напрямів наукових розвідок можна згадати наступні: вивчення фармакологічних властивостей фенілаланіну та аденозилметіоніну при депресивних станах; гепатопротекторна дія аденозилметіоніну; ацетилцистеїн як антиоксидант, засіб захисту печінки й нирок, а також муколітик; імуномодуючі властивості лізину та його ефективність при герпетичних інфекціях; аргінін у терапії ендотеліальної дисфункції, загоєнні шкірних виразок і зменшенні агрегації тромбоцитів; триптофан як попередник серотоніну з потенціалом у лікуванні хвороби Паркінсона; глютамін для відновлення харчового статусу; гістидин при ревматоїдному артриті та алергіях; а також роль розгалужених амінокислот (BCAA - branch chained amino acids) у підтримці пацієнтів із цирозом печінки, нирковими патологіями та тих, хто проходить діаліз.

Аргінін був обраний завдяки його здатності утворювати комплекси з

фенольними сполуками, що підвищує їх розчинність, покращує біодоступність і впливає на загальний фармакологічний ефект. Крім того, у розвитку ЦД2 важливу роль відіграють порушення функціонування судинного ендотелію. Основним фактором, що регулює тонус судин, є монооксид нітрогену (NO) — ключовий фізіологічний вазодилататор. Він синтезується з аргініну за участю Ca^{2+} -залежного ферменту NO-синтази (NOS), що й обґрунтовує вибір аргініну як комплексоутворювача. Згідно з результатами досліджень, введення аргініну може сприяти зниженню маси тіла при ожирінні, нормалізації артеріального тиску, запобіганню окисленню та покращенню функції ендотелію, що, своєю чергою, може сприяти ремісії ЦД2. Ймовірно, ці ефекти реалізуються через шлях аргінін-NO, який активує низку сигнальних білків. У пацієнтів із ЦД2 часто спостерігається ендотеліальна дисфункція (ЕД), що пов'язана з гіперхолестеринемією та дефіцитом NO (рис. 1.3).

Дослідники вважають, що аргінін може мати потенціал для профілактики та лікування ЦД2 шляхом відновлення чутливості до інсуліну. Останні дані свідчать про те, що аргінін стимулює секрецію інсуліну через вивільнення глюкагоноподібного пептиду-1 (GLP-1), а його пероральне застосування покращує толерантність до глюкози завдяки активації передачі сигналів GLP-1R. Таким чином, аргінін відіграє значну роль у регуляції глюкозного метаболізму, сприяючи вивільненню GLP-1, що може стати перспективним терапевтичним підходом до корекції метаболічних порушень [71].

Механізм дії гліцину як лікарського засобу обумовлений його функцією сигнальної молекули, яка взаємодіє з двома важливими типами рецепторів. Гліцин виступає агоністом стрихнін-чутливих гліцинових рецепторів (GlyR) та коагоністом глутаматних NMDA-рецепторів (NMDAR). Ці рецептори присутні не лише у нейронах, але й у клітинах імунної системи, ендотелії та інсулінопродукуючих клітинах підшлункової залози [59].

Крім цього, гліцин виконує значну метаболічну роль, зокрема, бере участь у синтезі глутатіону — ключового елемента антиоксидантного захисту клітин. Він запобігає глюкозозалежній активації автокаталітичних процесів, сприяючи

збільшенню секреції інсуліну та зменшенню глюконеогенезу в печінці, що є важливим для нормалізації обміну речовин на початкових стадіях захворювань (рис. 1.3).

Якщо ж патологічний процес уже розпочався, гліцин допомагає зменшити інтенсивність зворотних зв'язків, що спричиняють утворення активних форм кисню (АФК) та порушення мікроциркуляції. Він також конкурентно пригнічує глікування білків, знижуючи рівень кінцевих продуктів глікування (КПГ) та кількість агоністів RAGE-рецептора.

Гліцин значно знижує рівень окисного стресу, гальмуючи синтез АФК імунними клітинами та підтримуючи високий рівень глутатіону. Оскільки експресія гена RAGE-рецептора регулюється через NF-κB, активованого АФК, зменшення окисного стресу сприяє пригніченню синтезу цього білка. Таким чином, гліцин знижує активність RAGE-рецептора як шляхом зменшення кількості його агоністів, так і через пригнічення АФК-залежної експресії відповідного гена.

Універсальний науковий інтерес останнім часом зосередився на сірковмісній амінокислоті таурин (2-аміноетансульфонова кислота, $\text{H}_2\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{SO}_3\text{H}$). Завдяки своїм властивостям ця сполука стала основою для створення лікарських засобів, що ефективно застосовуються при захворюваннях печінки, серцево-судинної та центральної нервової систем, катаракті, ретинопатії, цукровому діабеті, метаболічному синдромі, отруєннях, а також при лікуванні наркоманії, алкоголізму та уражень, спричинених радіацією [162]. Наразі також досліджується потенціал таурину при клімактеричному синдромі, аутоімунному тиреоїдиті та неврологічних порушеннях. Встановлено, що при різних патологічних станах і порушеннях обміну речовин може спостерігатися підвищене виведення таурину з організму. Зокрема, дослідження пацієнтів із цукровим діабетом показали, що екскреція таурину з сечею перевищує показники контрольної групи, імовірно через знижену канальцеву реабсорбцію. Також виявлено зниження його всмоктування в тонкому кишечнику.

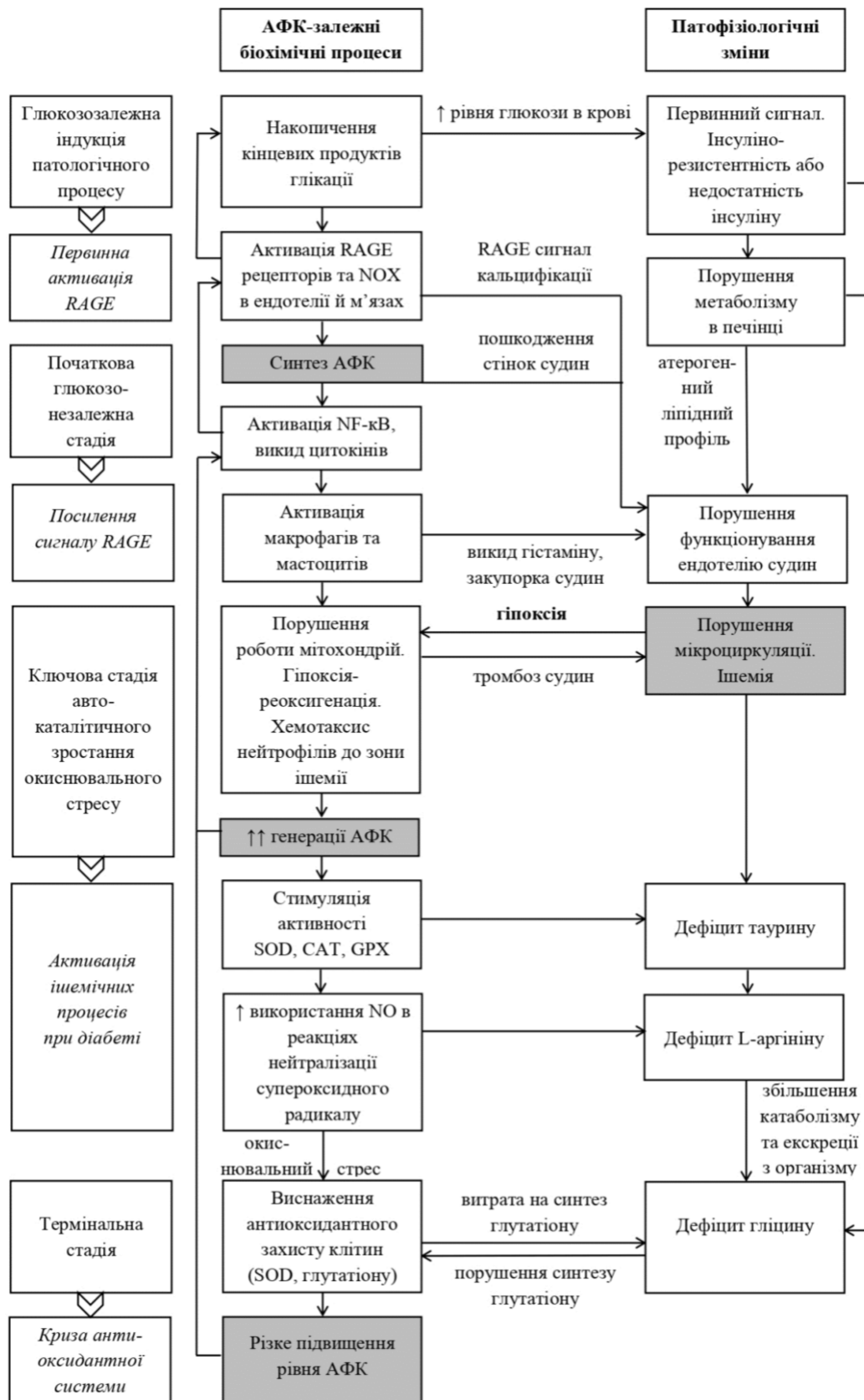


Рисунок 1.3. Розвиток оксидативного стресу при ЦД2. АФК – активні форми кисню, RAGE – рецептор кінцевих продуктів глікозилювання, NOX – NADPH-оксидази; NF-κB – нуклеарний фактор каппа В; SOD – супероксиддисмутаза; CAT – каталаза, GPX – глутатіонпероксидаза.

Науковці припускають, що при цукровому діабеті зменшується активність білка-переносника, що знижує надходження таурину в організм і сприяє його втраті. Отже, додатковий прийом таурину при ЦД2 має патогенетичне обґрунтування. Крім того, таурин проявляє антиоксидантні властивості на клітинному рівні, сприяючи роботі систем антиоксидантного захисту. Він посилює неензиматичний захист, підвищуючи рівень відновленого глутатіону та вітаміну Е, а також стимулює ензиматичні механізми, активуючи супероксиддисмутазу, каталазу та глутатіонпероксидазу (рис. 1.3). Також він чинить протизапальну дію, зумовлену утворенням тауринмонохлораміну, який суттєво знижує вироблення низки цитокінів і пригнічує апоптоз.

ЦД2 – це гетерогенне захворювання, що характеризується периферичною ІР та поступовим порушенням секреції інсуліну. Для досягнення компенсації вуглеводного обміну і метаболічних процесів загалом необхідний комплексний вплив на всі ланки патогенезу. Оскільки лікування ЦД2 винятково синтетичними гіпоглікемічними засобами не запобігає розвитку його ускладнень, доцільно використовувати фітопрепарати як доповнення.

У терапії ЦД2 застосовують як немедикаментозні, так і фармакологічні методи. Останніми роками дослідження дедалі більше зосереджені на пошуку нових препаратів, здатних безпосередньо впливати на сигнальні метаболічні шляхи та таких, що мають антиоксидантні властивості. Це пов'язано з тим, що оксидативний стрес і дефіцит амінокислот відіграють ключову роль у патогенезі ЦД2 [102].

Таким чином, розробка антигіперглікемічних препаратів, що впливають на різні механізми розвитку ЦД2, залишається актуальним завданням сучасної фармації.

Висновки до розділу 1

1. Інсулінорезистентність відіграє ключову роль у розвитку та смертності серед пацієнтів із цукровим діабетом 2 типу та метаболічним синдромом, що

підкреслює необхідність розробки нових терапевтичних підходів для підвищення ефективності лікування.

2. Для корекції інсулінорезистентності запропоновано широкий спектр природних сполук, багато з яких продемонстрували високу ефективність на етапі фундаментальних досліджень. Ці сполуки розглядаються як перспективні молекули для створення нових лікарських засобів.

3. На основі сучасних клінічних і експериментальних досліджень узагальнено значення фітохімічних речовин та амінокислот у профілактиці й лікуванні цукрового діабету 2 типу та метаболічного синдрому.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

Кононенко Н.М., Танська М.С. Перспективи створення фітокомпозиції на основі сухого екстракту з листя журавлини та амінокислот для лікування метаболічного синдрому та цукрового діабету 2 типу. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція: збірник тез IV Наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. участю 18 листопада 2021 р. Х.: Вид-во НФаУ, 2021. С. 145-147.*

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

На сьогодні існує актуальна потреба в розширенні спектру рослинних антигіперглікемічних засобів, які б одночасно забезпечували високу ефективність та безпечність. З огляду на обмежену кількість протидіабетичних препаратів, що діють на декілька патогенетичних механізмів, їхній значний потенціал побічної дії, а також численні наукові дані щодо фармакологічних властивостей і позитивного впливу фітотерапії, зокрема журавлини, при ЦД2 та МС, для дослідження було обрано сухий екстракт листя журавлини.

Сухий спиртовий екстракт з листя журавлини великоплідної з додаванням амінокислот отримано на кафедрі фармакогнозії Національного фармацевтичного університету під керівництвом професора Кошового О.М.

Підбір екстрагенту для отримання екстракту здійснювався експериментальним методом. В ході досліджень встановлено, що використання 50% спирту в співвідношенні 1:10 (з урахуванням коефіцієнта поглинання екстрагенту) забезпечує максимальний вихід сухого екстракту з листя журавлини великоплідної. Отриманий екстракт містить 12,23% гідроксикоричних кислот та 4,01% флавоноїдів, які визначають його гіпоглікемічну дію. Це співвідношення є достатнім для створення засобу, призначеного для корекції інсулінорезистентних станів, а також оптимальним з точки зору технологічного процесу виробництва та ефективного використання спирту.

Листя великоплідної журавлини подрібнювали до розміру часток 1-3 мм та піддавали триразовій екстракції 50 % етаноловим розчином у співвідношенні 1:10 при кімнатній температурі протягом 24 годин. Отримані екстракти об'єднували, очищували шляхом відстоювання при кімнатній температурі протягом доби, після чого фільтрували для відокремлення надосадкової рідини. Далі до екстракту додавали аргінін, таурин і гліцин у трикратній еквімолярній кількості відносно загальної концентрації фенольних сполук, настоювали протягом доби та випарювали до отримання сухого екстракту.

У результаті в сухому екстракті листя великоплідної журавлини міститься не менше 10 % фенольних сполук (у перерахунку на галову кислоту), не менше 5 % гідроксикоричних кислот (у перерахунку на хлорогенову кислоту) і не менше 2 % флавоноїдів (у перерахунку на рутин).

Порівняльне кількісне визначення похідних гідроксикоричної кислоти, флавоноїдів та фенольних сполук у сухому екстракті з листя журавлини великоплідної та сухому екстракті журавлини великоплідної з додаванням амінокислот (фітокомпозиції) проводили спектрофотометричним методом. Для статистичної достовірності досліди проводили не менше п'яти разів (табл. 2.1).

Таблиця 2.1

Кількісний вміст фенольних сполук у сухих екстрактах з листя журавлини великоплідної ($M \pm m$, $n=5$)

Група БАР	Використаний метод	Кількісний вміст, %	
		Сухий екстракт з листя журавлини великоплідної	Фітокомпозиція
Похідні гідроксикоричних кислот	Спектрофотометричний метод у перерахунку на ХГК ($\lambda=327$ нм)	13,52 $\pm$ 0,4	13,91 $\pm$ 0,6
Флавоноїди	Спектрофотометричний метод у перерахунку на рутин ($\lambda=417$ нм)	4,21 $\pm$ 0,1	4,53 $\pm$ 0,6
Фенольні сполуки	Спектрофотометричний метод у перерахунку на ГК ($\lambda=270$ нм)	20,13 $\pm$ 0,7	19,04 $\pm$ 0,8

Отримані результати показали, що додавання амінокислот до сухого екстракту з листя журавлини великоплідної не змінює кількісний вміст похідних гідроксикоричних кислот, флавоноїдів та фенольних сполук у його складі (табл. 2.1).

Подальші дослідження присвячені вивченню фармакологічних властивостей нової фітокомпозиції та таблеток комбінованого складу на її основі.

Дослідження проводилося у порівнянні з аналогом за фармакологічною дією – вітчизняним лікарським фітозбором «Арфазетин» (у формі розсипної пачки по 75 г, ПрАТ «Ліктрави», Україна) та антидіабетичним препаратом із групи бігуанідів – таблетками метформіну (Метформін САНДОЗ®, 500 мг, LEK, Польща).

Вибір «Арфазетину» пояснюється тим, що це єдиний рослинний лікарський засіб із доведеною антигіперглікемічною активністю, зареєстрований як препарат та схвалений для застосування в Україні у складі комплексної терапії ЦД2. До складу збору входять пагінці чорниці (20%), оболонки плодів квасолі звичайної (20%), кореневище з корінням ехінопанаксу високого (заманихи) (15%), плоди шипшини (15%), трава хвощу польового (10%), трава звіробою (10%) та квітки ромашки (10%) [8, 14, 21].

Фітозбір Арфазетин застосовували у вигляді настою, який готували за інструкцією: 5 г збору заливали 200 мл гарячою кип'яченою водою і настоювали на киплячій водяній бані 15 хв із закритою кришкою. Далі охолоджували за кімнатної температури протягом 45 хв, проціджували й доводили до первинного об'єму 200 мл кип'яченою водою. Дозу фітопрепарату добирали, спираючись на рекомендації з дозування настоек та інструкцію до медичного застосування препарату (середня терапевтична доза для людини масою тіла 70 кг складає 300 мл настою на добу: $300 \text{ мл}/70 \text{ кг} = 4,3 \text{ мл/кг}$, отже, з огляду на коефіцієнт видової чутливості доза для тварин складає: $4,3 \text{ мл/кг} - 0,45$; $X \text{ мл/кг} - 1,89$; $X = 18 \text{ мл/кг}$ настою на добу) [13].

Метформін є лікарським препаратом першого вибору, який застосовується при лікуванні ЦД2, діюча речовина – метформіну гідрохлорид [151]. Метформін застосовували дозою 60 мг/кг маси тварин, яку розраховували також за допомогою коефіцієнту видової чутливості: середня добова доза для людини масою тіла 70 кг складає 1000 мг/добу; $1000 \text{ мг}/70 \text{ кг} = 14,3 \text{ мг/кг}$ для людини. Добова доза для щурів складає: $14,3 \text{ мг/кг} - 0,45$, $X \text{ мл/кг} - 1,89$. $X = 60 \text{ мг/кг}$ метформіну на добу [15, 37, 56, 91, 151, 160, 203].

Усі речовини, які досліджувалися, вводили тваринам у шлунок за допомогою шлункового зонда, використовуючи шприц-гільзу.

Дизайн експерименту

Експериментальну частину роботи виконано на базі Центральної науково-дослідної лабораторії НФаУ (посвідчення № 058/15 від 08.12.2015 р.; чинне до 07.12.2019 р.) та кафедри нормальної та патологічної фізіології НФаУ.

Виходячи з мети і завдань дисертаційної роботи, нам видавалося доцільним побудувати дослідження за таким алгоритмом (рис. 2.1).

Дослідження антигіперглікемічних та антидіабетичних властивостей комбінованого засобу проведено відповідно до методичних рекомендацій з експериментального вивчення нових гіпоглікемічних засобів [13].

Всі дослідження проводилися на 357 білих нелінійних щурах та 30 мишах (масою 20-25 г), отриманих з розплідника віварію ЦНДЛ НФаУ. Для експерименту відбиралися самці щурів віком від 12 тижнів до 6 місяців, залежно від специфіки дослідження, з масою від 180 до 240 г.

Умови утримання передбачали розміщення 2-3 тварин у клітці розміром 425×265×180 мм. Клітки складалися з пластикового корпусу, металевої решітчастої та пластикової кришок. Маркування кліток включало номер клітки, групу, кількість і стать тварин, інформацію про лабораторні зразки, дату народження, відомості про дослідження (назва, дози, термін введення препарату), дати початку та завершення експерименту, а також дані відповідального виконавця. Тварини з різних експериментальних груп утримувалися окремо. Раціон складався з гранульованих кормів ТУ.У15.7-2123600159-001:2007. Джерелом води була відстояна водопровідна вода у поїлках (ad libitum), якщо інші умови не передбачали інше. Підстилка — тирса листяних порід дерев. Температурний режим підтримувався в межах 20-24°C, відносна вологість — 55±10%. Світловий режим складав 12 годин світла/12 годин темряви.

При роботі з тваринами дотримувався Міжнародний кодекс медичної етики (Венеція, 1983), «Європейська конвенція щодо захисту хребетних тварин, які

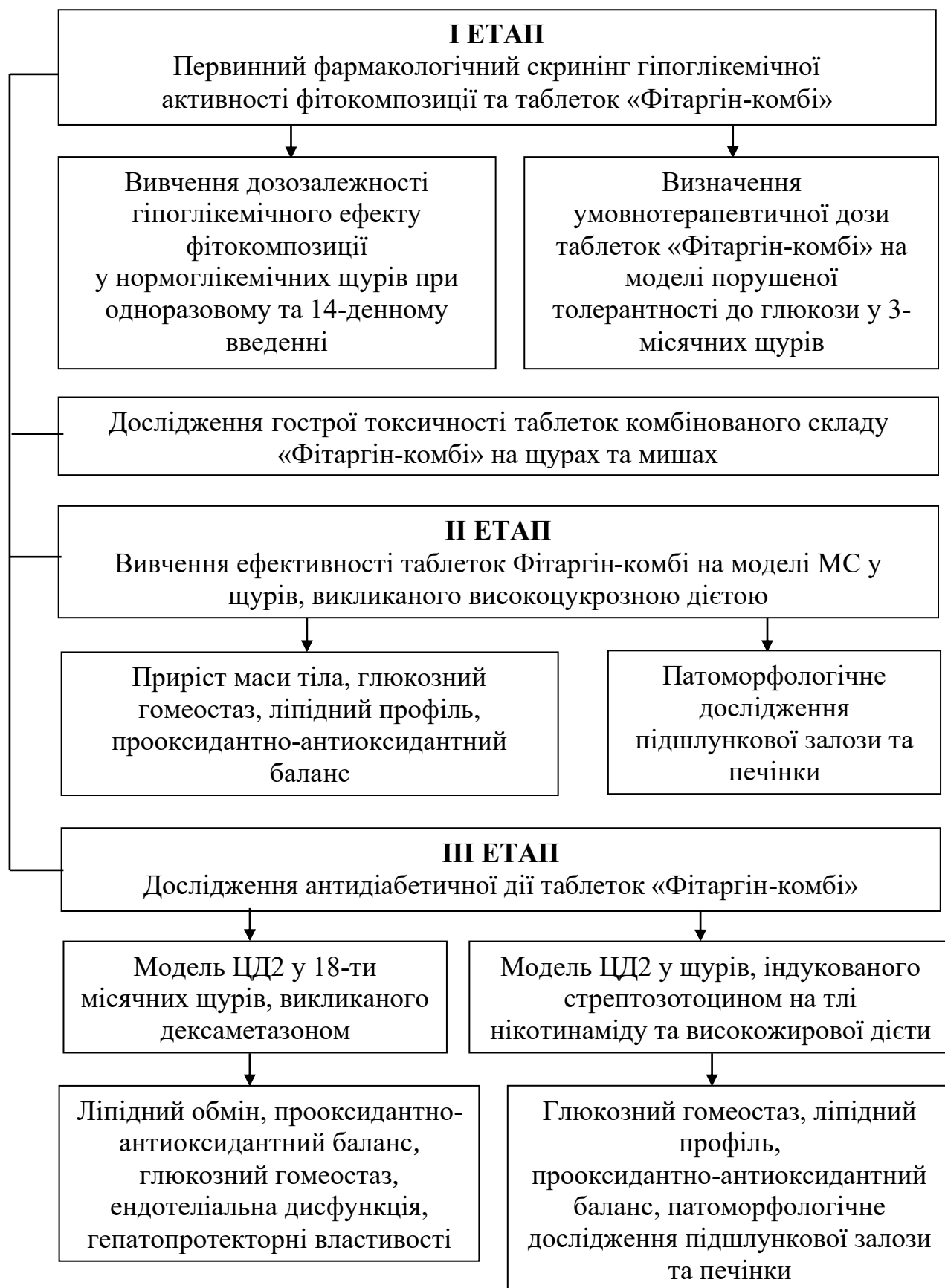


Рис. 2.1 Алгоритм фармакологічного дослідження фітокомпозиції та таблеток «Фітаргін-комбі» на її основі.

використовуються з експериментальними та іншими науковими цілями» (Страсбург, 1986), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалені Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001), Directive 2010/63/EU of European Parliament and Council on the protection of animals used for scientific purposes та законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» №3477-IV від 21.02.2006 р., «Порядок проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах» [36].

Евтаназію проводили шляхом передозування ефірного наркозу або шляхом цервікальної дислокації. Комісією з біоетики НФаУ порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено (протоколи № 7 від 01.11.2021 р., № 8 від 15.02.2023 р.).

Скринінгове визначення ефективної дози фітокомпозиції на основі екстракту з листя журавлини великоплідної та амінокислот за гіпоглікемічною дією проводили на інтактних нормоглікемічних щурах масою 180-210 г.

Враховуючи результати вивчення гепатопротекторних властивостей комбінації екстракту з листя журавлини та амінокислот, для скринінгового дослідження фітокомпозиції було обрано дози 25, 50, 75, 100 і 125 мг/кг [15].

На першому етапі необхідно було визначити можливу гіпоглікемічну дію фітокомпозиції за умови її одноразового уведення.

Досліджувану фітокомпозицію у дозах 25, 50, 75, 100 і 125 мг/кг та препарати порівняння у вигляді водної суспензії вводили щурам натще одноразово внутрішньошлунково, контрольні тварини отримували еквівалентну кількість питної води.

Гіпоглікемічну активність фітокомпозиції оцінювали за її здатністю знижувати рівень глюкози у крові через 60, 120 хвилин та через 4 години після введення. Для аналізу глюкози використовували зразки крові, відібрані з хвостової вени. Вміст глюкози визначали за допомогою глюкозооксидазного методу із застосуванням реактивів «Д-глюкоза» (виробник — «Філісіт-Діагностика», Україна) [13].

На другому етапі дослідження встановлювали орієнтовну терапевтичну дозу

фітозасобу, ґрунтуючись на його впливі на рівень глюкози у здорових щурах із нормальним глікемічним фоном. Для цього проводили оральний тест толерантності до глюкози (ОТТГ), що дозволяє оцінити постпрандіальний рівень глюкози в крові та інтенсивність її засвоєння тканинами [13]. Фітокомпозицію та препарати порівняння вводили щурам у формі водної суспензії внутрішньошлунково один раз на добу протягом 14 днів. Останнє введення проводили за годину до глюкозного навантаження. Контрольна група отримувала рівнозначний об'єм питної води.

Тварини були поділені на такі групи: 1 – позитивний контроль (глюкоза); 2–6 – групи щурів, яким вводили фітокомпозицію у дозах 25, 50, 75, 100 та 125 мг/кг; 7 – група, яка отримувала збір Арфазетин у дозі 18 мл/кг; 8 – група, що отримувала метформін у дозі 60 мг/кг.

На 14-й день дослідження проводили ОТТГ: щурам після нічного голодування (16–18 годин) внутрішньошлунково вводили розчин глюкози (3 г/кг). Забір крові для вимірювання глюкози здійснювали з хвостової вени до введення глюкози та через 30, 60 і 120 хвилин після навантаження [13]. Показником гіпоглікемічної активності фітокомпозиції вважали її здатність знижувати рівень глюкози на 30-й хвилині ОТТГ, коли зазвичай спостерігається пік глікемії у відповідь на прийом вуглеводів [68].

Крім того, за результатами ОТТГ розраховували величину інтегрального показника площини під глікемічними кривими (glycemic area under curve, AUC_{glu} (ммоль/л·хв), з використанням пакета статистичних програм «MedCalc, v. 9.3.7.0».

З метою уточнення умовнотерапевтичної дози фітокомпозиції використовували модель порушеної толерантності до глюкози у 3-місячних щурів, яку моделювали за допомогою дексаметазону [13]. Дексаметазон (Дексаметазон-KRKA, таблетки, 0,5 мг, виробництва KRKA, Словенія) вводили підшкірно дозою 0,125 мг/кг протягом 13 діб. Досліджувані засоби вводили щодня за одну годину до ін'єкції дексаметазону.

Враховуючи результати попереднього експерименту для вивчення фітокомпозиції обрали дози 75, 100 і 125 мг/кг. Тварини були розподілені на такі

групи: 1 - інтактний контроль (ІК); 2 – контрольна патологія (КП); 3-5 - групи щурів, які отримували фітокомпозицію у дозах 75, 100 і 125 мг/кг; 6 - група щурів, яким вводили збір «Арфазетин» у дозі 18 мл/кг; 7 - група щурів, яким вводили таблетки метформін у дозі 60 мг/кг.

На 14-й день у тварин вимірювали базальну глікемію та проводили ОТТГ. Гіпоглікемічну активність фітокомпозиції при проведенні ОТТГ оцінювали за здатністю досліджуваних засобів знижувати гіперглікемію та інтегральним показником глікемії – площею під глікемічними кривими.

На основі отриманих результатів щодо антигіперглікемічної дії фітокомпозиції були створені комбіновані таблетки з умовною назвою «Фітаргін-комбі». «Фітаргін-комбі» - таблетки 0,5 г, вкриті оболонкою, до складу яких входить: фітокомпозиція на основі сухого екстракту листа журавлини модифікована амінокислотами – 0,3 г, допоможні речовини – до 500,0.

Для підтвердження ефективності антигіперглікемічної дії таблеток «Фітаргін-комбі» (ФК) в дозі 100 мг/кг також використовували модель порушеної толерантності до глюкози, викликаной дексаметазоном. Умови проведення, досліджувані дози таблеток «Фітаргін-комбі» та препаратів порівняння були аналогічними попередньому експерименту.

Поряд із дослідженням фармакологічних властивостей нового препарату, обов'язковим етапом є вивчення його гострої токсичності, зокрема - визначення показника ЛД₅₀. Цей показник дає змогу оцінити рівень токсичності засобу та виявити можливу видову чутливість. Для відтворення клінічної картини гострого отруєння та визначення середньосередньосмертельної дози (ЛД₅₀) токсичність препарату вивчали відповідно до рекомендацій ДЕЦ МОЗ України [13] на двох видах тварин при введенні внутрішньошлунково та внутрішньоочеревинно.

Дослідження гострої токсичності таблеток комбінованого складу «Фітаргін-комбі» проводили на білих нелінійних щурах обох статей масою 180-220 г шляхом його внутрішлункового однократного введення у два етапи [207].

Відповідно до протоколу дослідження здорові тварини були випадково поділені на групи з 3-х тварин. Під час першої стадії 3 групам тварин вводили

відповідно 100, 600 і 1000 мг/кг таблеток комбінованого складу «Фітаргін-комбі» внутрішньошлунково і спостерігали протягом перших 4 годин і 24 годин для виявлення ознак токсичності та смертності.

Для другого етапу були обрані дози 2000, 3000 і 5000 мг/кг і 3 групи щурів після одноразового внутрішньошлункового введення спостерігали за ознаками токсичності та смертністю протягом 72 годин. Тобто, фітозасіб вводили в максимальній дозі IV класу токсичності – 5000 мг/кг.

Також на цьому етапі роботи досліджували рівень глікемії через 30 хв, 60 хв, 120 хв та 24 год у тварин, що одноразово внутрішньошлунково отримали таблетки дозою 5000 мг/кг.

Далі було проведено вивчення гострої токсичності таблеток на мишах обох статей при внутрішньошлунковому та внутрішньоочеревному введенні. Для цього тварини були розподілені на 6 груп: внутрішньошлунково в дозах 1000; 3000; 5000 мг/кг, іншим трьом – внутрішньоочеревно в дозах 300; 700; 1000 мг/кг [70]. За тваринами спостерігали протягом 14 діб. Експериментальні тварини протягом усього дослідження знаходились на звичайному харчовому режимі віварію, отримували їжу та мали вільний доступ до води. Протягом 14 діб спостерігали за загальним станом і поведінкою піддослідних тварин, включаючи зовнішній вигляд, особливості поведінки, інтенсивність та характер руху, стан шерсті. Ступінь токсичності досліджуваного засобу визначали за класифікацією Hodge H. C. та Sterner L. H. [100].

Сьогодні МС знаходиться в центрі уваги багатьох фахівців, оскільки саме він часто передуює розвитку ЦД2 та атеросклерозу – захворювань, що є одними з провідних причин смертності в сучасному світі [89, 154, 181]. Зростаючий інтерес до цієї проблеми зумовлений також тим, що МС є зворотнім станом: при своєчасному та належному лікуванні можливо значно зменшити або навіть усунути його основні прояви.

У зв'язку з цим подальші дослідження зосереджені на аналізі впливу ФК на симптоматику експериментального *метаболічного синдрому*. Модель МС створювали шляхом використання високоцукрозної дієти (ВЦД): тваринам

протягом 8 тижнів у вільному доступі надавали 30% розчин сахарози (300 г/л) замість питної води. Це призводило до збільшення маси тіла, розвитку гіперінсулінемії, гіпертригліцеридемії, а також підвищення рівнів загального холестерину та холестерину ліпопротеїнів низької щільності (Хс-ЛПНГ) у сироватці крові [10].

Досліджуваний засіб та препарати порівняння вводили одночасно з розчином цукрози внутрішньошлунково, протягом 8 тижнів.

Щури були розділені на експериментальні групи:

- інтактний контроль (ІК) – здорові тварини, що утримувались на стандартному харчовому раціоні віварію;
- контрольна патологія (КП) – тварини, яких протягом 8 тижнів утримували на ВЦД;
- група тварин, яким вводили внутрішньошлунково у вигляді водного розчину таблетки ФК дозою 100 мг/кг на фоні ВЦД (лікувально-профілактичний режим введення);
- група тварин, яким вводили внутрішньошлунково у вигляді настою збір «Арфазетин» дозою 18 мл/кг на фоні ВЦД (лікувально-профілактичний режим введення);
- група тварин, яким вводили внутрішньошлунково у вигляді водного розчину таблетки «Метформін» дозою 60 мг/кг на фоні ВЦД (лікувально-профілактичний режим введення).

На даній модельній патології було доцільним дослідити вплив нового комбінованого засобу на розвиток порушень обміну речовин, притаманних МС [31], а саме, визначити та оцінити динаміку маси тіла, показники вуглеводного, ліпідного обмінів та антиоксидантно-прооксидантний профіль.

Стан глюкозного гомеостазу тварин оцінювали за рівнем базальної глікемії. Концентрацію глюкози у крові тварин визначали натще за допомогою глюкометра «One touch ultra easy» (виробництва LifeScan, Johnson&Johnson, США).

Ступінь чутливості печінки та периферичних тканин тварин до дії інсуліну оцінювали у короткому інсуліновому тесті. Короткий інсуліновий тест проводили

через 30 хв після внутрішньоочеревинного введення екзогенного інсуліну (1 ОД/кг маси тіла, «Актрапід» («Novo Nordisk», Данія) відносно базальної глікемії (після нічного голодування) та обчислювали коефіцієнт чутливості до інсуліну [50].

Толерантність до глюкози тварин з МС визначали за допомогою внутрішньочеревного тесту толерантності до глюкози (ВЧТТГ). Для проведення ВЧТТГ щурам внутрішньочеревно вводять 2 г глюкози на кг маси тіла. Зразки крові для аналізу відбирають до та через 15, 45 і 60 хв після навантаження глюкозою.

Для більш повної характеристики стану глюкозного гомеостазу у сироватці крові визначали вміст піровиноградної кислоти (ПВК) - одного з метаболітів вуглеводного обміну, що утворюється в процесі розпаду глікогену та глюкози в тканинах - за реакцією з 2,4-дінітрофенілгідразином [4].

Активність процесів глікогенолізу оцінювали за вмістом глікогену в печінці з використанням методу, що базується на окисненні продуктів кислотного гідролізу даного полісахариду [6]. Енергозабезпечення клітин печінки визначали за активністю сукцинатдегідрогенази (СДГ) [32, 213].

З метою оцінки змін ліпідного спектра в сироватці крові тварин досліджували показники ліпідного обміну загальноприйнятими уніфікованими методами: загальні ліпіди (ЗЛ) - методом із фосфованіліновим реактивом; тригліцериди (ТГ) - ензиматичним колориметричним методом; загальний холестерол (Хс) - ензиматичним методом; холестерол ліпопротеїнів низької густини (Хс-ЛПНГ) - прямим методом «LDL-Ф»; холестерол ліпопротеїнів високої густини (Хс-ЛПВГ) - прямим методом «HDL-Ф». Для цих досліджень використовували комерційні набори ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика» (Україна) [20].

У сироватці крові також спектрофотометричним методом визначали ліпопротеїни низької густини (ЛПНГ) із застосуванням реактивів «BioSystem» (Іспанія). Концентрацію *вільних жирних кислот* у сироватці крові визначали з використанням набору реактивів компанії «Філісіт-Діагностика» (Україна) за реакцією з диетилдитіокарбаматом [4].

Враховуючи дані літератури про важливу роль активації процесів переокиснення ліпідів (ПОЛ) у розвитку інтолерантності до глюкози та ЦД [81,

215] у сироватці крові досліджували рівень показників, які служили критерієм інтенсивності процесів ПОЛ та антиоксидантного захисту. Рівень ТБК-реактантів (ТБК-Р), які є кінцевим продуктом деградації ненасичених жирних кислот мембранних фосфоліпідів, в сироватці крові визначали за реакцією з 2-тіобарбітуровою кислотою спектрофотометрично [30]. Стан антиоксидантної системи (АОС) оцінювали за рівнем відновленого глутатіону (GSH) за методом Beutler E.D. et al. з реактивом Елмана [63], активністю каталази в крові оцінювали за методом Корольок зі співавт., принцип якого ґрунтується на здатності перекису водню утворювати з молібдатом амонію стійкий забарвлений комплекс жовтого кольору.

Отримання гомогенату печінки щурів здійснювали шляхом її гомогенізації після попередньої перфузії розчином Хенкса для видалення еритроцитів. Перфузію проводили у два етапи: спочатку застосовували розчин Хенкса без етилендіамінтетраоцтової кислоти (ЕДТА), а потім – з додаванням ЕДТА, що забезпечує руйнування міжклітинних контактів.

Визначення концентрації ТБК-активних продуктів проводили за методом Buege J.A. і Aust S.D. [62]. Основний принцип полягає в утворенні кольорового триметинового комплексу при взаємодії діальдегідів з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК) у кислому середовищі при кип'ятінні. Максимум поглинання цього комплексу спостерігається при довжині хвилі 532 нм. Отримані значення виражали у нмоль на міліграм білка.

Для визначення рівня дієнових кон'югатів (ДК) застосовували методику Reg R.G. У результаті перетворення гідропероксидів поліненасичених жирних кислот утворюються ДК, які вимірювали за допомогою УФ-спектрофотометрії при 234 нм. Результати також виражали у нмоль/мг білка.

Оцінку стану антиоксидантної системи здійснювали за активністю супероксиддисмутази (СОД), каталази та рівнем відновленого глутатіону (GSH) у гомогенатах печінки [137]. Активність СОД визначали на основі її здатності конкурувати з нітросинім тетразолієм (НСТ) за супероксидні аніони, що виникають при аеробній реакції між НАДН та феназинметасульфатом (ФМС). У ході цієї

реакції відбувається відновлення НСТ до гідразинтетразолію, але в присутності СОД інтенсивність цього процесу знижується [30]. Активність ферменту виражали в одиницях активності на міліграм білка.

Активність каталази визначали за здатністю пероксиду водню формувати стійкий забарвлений комплекс із солями молібдену [206]. Інтенсивність забарвлення оцінювали за допомогою спектрофотометра при довжині хвилі 410 нм. Результати активності каталази виражали в мкмоль розкладеного H_2O_2 на хвилину на міліграм білка.

Вміст відновленого глутатіону (GSH) визначали за методом Moron M.S. et al. [148], заснованим на утворенні тіонітрофенільного аніону при взаємодії сульфгідрильних груп глутатіону з реактивом Елмана. Вимірювання проводили при довжині хвилі 412 нм, а результати виражали в нмоль на міліграм тканини.

Кількість білка у тканинних гомогенатах визначали за методом Lowry J.Y., модифікованим Miller G.L. [144], використовуючи калібрувальний розчин білка (ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика», Україна) як стандарт. Метод базується на утворенні забарвлених продуктів реакції ароматичних амінокислот із реактивом Фоліна в поєднанні з біуретовою реакцією, що відбувається на пептидних зв'язках білків.

На моделі експериментального МС були проведені *гістологічні дослідження підшлункової залози і печінки*. Після виведення всіх тварин з експерименту зразки печінки та підшлункової залози (тіло та хвостову частину – вилучали з товщі шлунково-селезінкової зв'язки) фіксували в 10% розчині формаліну, заливали у парафін. Зрізи фарбували гематоксиліном та еозином. Ідентифікацію β -клітин островкового апарату підшлункової залози проводили після фарбування зрізів альдегід-фуксином по Гоморі, який забарвлює базofilні гранули інсуліну в цитоплазмі клітин в синьо-фіолетовий колір. Застосування цього методу дає змогу визначати наявність клітин в острівках Лангерганса, в яких відбувається синтез інсуліну, таким чином оцінюючи функціональний стан β -клітин.

Проводили морфометричні виміри: на зрізах підшлункової залози (фарбування гематоксиліном та еозином) визначали оптичну щільність

панкреатичних острівців (ПО - загальну кількість їх у мікропрепараті), острівцевий профіль (кількість β -клітин у острівці). За показником острівцевого профілю проводили розподіл острівців на дрібні (до 20 β -клітин), середні (21-60 β -клітин) та великі (>61 β -клітин), визначали відсоткову частку кожної категорії ПО [9]. За виразністю фарбування альдегід-фуксином і характером розподілу базофільних гранул інсуліну в цитоплазмі інсуліноцитів за 4-х бальною системою проводили оцінку морфофункціонального стану β -клітин у ПО: 4 бали – майже всі β -клітини рівномірно заповнені виразно пофарбованими альдегід-фуксином гранулами; 3 бали – значна кількість β -клітин містять помірно пофарбовані альдегід-фуксином гранули; 2 бали – одні β -клітини заповнені помірно пофарбованими альдегід-фуксином гранулами, інші - повністю їх позбавлені; 1 бал – клітини з мінімальною кількістю помірно чи слабо пофарбованих альдегід-фуксином гранул.

На зрізах печінки становили також ШК-реакцію за Мак-Манусом для виявлення глікогену (контроль з амілазою слини). Для верифікації нейтральних жирів окремо зразки печінки після фіксації у формаліні, різали на мікротомі, що заморожує, зрізи фарбували суданом IV [114] і оцінювали ступінь стеатозу [120], де 1 бал – характер жирової дистрофії дрібно-крапельний, охоплює окремі групи гепатоцитів у печінковій часточці без порушень цілісності клітин; 2 бали – дрібно- та середньо-крапельний характер, розповсюджена на невеликих окремих зонах печінкової часточки, або дрібно-крапельний дифузний характер без порушення цілісності клітин; 3 бали – середньо- та велико-крапельний характер, розповсюджена на $\frac{1}{2}$ – $\frac{2}{3}$ печінкової часточки.

Перегляд мікропрепаратів проводили під світловим мікроскопом Granum, фотографування мікроскопічних зображень здійснювали цифровою відеокамерою Granum DCM 310. Фотознімки обробляли на комп'ютері Pentium 2,4GHz за допомогою програми Tour View.

У пошуках ефективних способів профілактики та лікування моделювання захворювань відіграє важливу роль як у вивченні механізмів розвитку патологій, так і у пошуку потенційно ефективних лікарських засобів. Зокрема, експериментальні дослідження цукрового діабету на тваринних моделях є

ключовим методом у вивченні патогенезу ЦД2. Вибір моделей, використаних у дослідженні, ґрунтується на численних наукових даних, які підтверджують, що розвиток ІР є не лише основним патогенетичним чинником ЦД2, але й головною причиною патологічних і метаболічних змін, що супроводжують це захворювання. Корекція ІР є ключовим аспектом профілактики ЦД2, оскільки сприяє підвищенню чутливості до інсуліну та покращенню метаболічних процесів. Для комплексного аналізу впливу досліджуваних таблеток були використані моделі, що за своїм механізмом відтворюють причини розвитку ЦД2 у людини [11], а саме ЦД2, індукований введенням стрептозотоцину з попереднім введенням нікотінамід у тлі високожирової дієти (ВЖД) та дексаметазон-індукована модель ЦД2.

Дексаметазон-індуковану модель ЦД2 моделювали на 50 білих 18-місячних щурах-самцях шляхом підшкірного введення синтетичного глюкокортикоїду дексаметазону (Дексаметазон-KRKA, табл., 0,5 мг, KRKA, Словенія), у дозі 0,125 мг/кг протягом 13 діб [64, 158].

Щури були розділені на експериментальні групи в залежності від мети експерименту:

- інтактний контроль (ІК) – здорові тварини, що утримувались на стандартному харчовому раціоні віварію;
- контрольна патологія (КП) – тварини, яким протягом 13 діб вводили підшкірно дексаметазон дозою 0,125 мг/кг;
- група тварин з ЦД2, яким протягом 14 діб вводили внутрішньошлунково у вигляді водного розчину ФК дозою 100 мг/кг;
- група тварин з ЦД2, яким протягом 14 діб вводили внутрішньошлунково у вигляді настою Арфазетин дозою 18 мл/кг - Арфазетин;
- група тварин з ЦД2, яким вводили внутрішньошлунково у вигляді водного розчину метформін дозою 60 мг/кг – метформін.

Стан глюкозного гомеостазу тварин на тлі модельної патології оцінювали за рівнем базальної глікемії та базальної інсулінемії, розраховували індекс НОМА-ІР [11].

Вплив ФК на показники NO-синтазної системи оцінювали за вмістом нітритів та нітратів ($\text{NO}_2 + \text{NO}_3$), аргініну, цитруліну. Вміст аргініну й цитруліну визначали фотометричними методами з використанням стандартних наборів реактивів. Для оцінки рівня ендogenous NO визначали вміст нітритів у сироватці крові спектрофотометрично [178] за допомогою реактиву Грісса.

Для оцінки функціонального стану печінки в сироватці крові визначали активність ферментів із використанням уніфікованих методів: аланінамінотрансферази (АЛАТ) і аспартатамінотрансферази (АСАТ) - кінетичним методом, лужної фосфатази (ЛФ) - кінетичним методом із використанням АМР-буфера, а також γ -глутамілтранспептидази (ГГТП) - також кінетичним методом. Для вимірювання активності зазначених ферментів застосовували реактивні набори, вироблені ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика» (Україна).

Стан ПОЛ оцінювали за рівнем ТБК-Р і ДК та АОС - за рівнем GSH в гомогенатах печінки за вищеописаними методиками [171].

Для оцінки змін у ліпідному спектрі сироватки крові тварин проводили дослідження показників ліпідного обміну з використанням загальноприйнятих уніфікованих методик, описаних раніше.

Цукровий діабет 2 типу індукували у щурів одноразовим внутрішньочеревним введенням розчину стрептозотоцину (Streptozocin, серія S0130, флакон 1,5 г, «Sigma-Aldrich Chemie GmbH», Німеччина) у дозі 65 мг/кг, попередньо (за 15 хвилин) ввівши нікотинамід (Nicotinamide, субстанція, серія 100245, Afton Pharma, Індія) у дозі 230 мг/кг також внутрішньочеревно, на тлі ожиріння, сформованого за 12 тижнів годівлею тварин висококалорійною дієтою [108]. Розчин стрептозотоцину готували безпосередньо перед введенням у цитратному буфері (pH 4,5) з огляду на його швидку деградацію до неактивних метаболітів у лужному та нейтральному середовищі, що призводить до втрати діабетогенної активності.

В основі створення даної моделі інсулінонезалежного ЦД лежить частковий захист панкреатичних β -клітин від цитотоксичної дії стрептозотоцину за допомогою відповідних доз нікотинаміду [116]. Введення нікотинаміду призводить

до помірної та стабільної базальної гіперглікемії та збереження 40 % запасів панкреатичного інсуліну. Вищезначена модель характеризується інтолерантністю до вуглеводів, відносною недостатністю секреції інсуліну у відповідь на підвищений рівень глюкози та збереженням секреторної реакції на неглюкозні секретагоги (в тому числі на сульфаніламідні препарати). Таким чином, наведена модель інсулінонезалежного діабету дозволяє відтворити патогенетичні ланки ЦД2 – помірне порушення секреції та дії інсуліну. Завдяки протективному впливу нікотинаміду, модель є значно безпечнішою для тварин порівняно з неонатальним стрептозотоциновим діабетом і має певні переваги для дослідження цукрознижуючого ефекту нових препаратів із різним механізмом дії.

З метою відтворення ознак ЦД2, характерних для «західного» типу захворювання дана модель була сполучена із 12-ти тижневою високожировою дієтою (ВЖД): дієта з надмірним вмістом насичених жирів: білки – 20,0 %, жири – 60,0 %, вуглеводи – 20,0 % від загального калоражу. Вміст ліпідів збільшували додаванням до раціону жиру тваринного походження - свинячого вісцерального жиру. Ефективність такої дієти пояснюється надмірною кількістю в ній насичених жирних кислот, які на відміну від рослинних жирів, багатих на ненасичені жирні кислоти, мають високий потенціал до індукції ІР [11]. Відомо, що за умов ВЖД стимулюється адипогенез і накопичення нейтральних ліпідів у клітинах м'язів та печінки. Підвищення внутрішньоклітинного рівня метаболітів ненестерифікованих жирних кислот, зокрема ацил-КоА і диацилгліцеролів, безпосередньо, через активацію класичних ізоформ протеїнкінази С, або за рахунок збільшення продукції АФО мітохондріями і активації фактору ІКК β та/або кіназ с-JNK призводить до посиленого фосфорилування рецептора інсуліну та його субстрату за залишками серину, що в свою чергу обумовлює гальмування РІЗК-залежного інсулінового сигналіngu [223]. Окрім того, збільшення маси жирової тканини супроводжується посиленням синтезу і секреції прозапальних цитокінів, які активують NF- κ B- та с-JNK-залежні сигнальні шляхи в периферичних тканинах, що сприяє розвитку ІР [164, 205].

Щури були розділені на експериментальні групи в залежності від мети

експерименту:

- ІК – здорові тварини, що утримувались на стандартному харчовому раціоні віварію;
- КП – щури з контрольною патологією;
- група щурів, які на тлі ЦД2 одержували ФК дозою 100 мг/кг внутрішньошлунково;
- група тварин з ЦД2, яким вводили внутрішньошлунково у вигляді настою Арфазетин дозою 18 мл/кг – Арфазетин;
- група тварин з ЦД2, яким вводили внутрішньошлунково у вигляді водного розчину метформін дозою 60 мг/кг – метформін.

ФК і референс-препарати вводили один раз на день протягом 28-ми діб. Перше введення засобів починали через 24 год після індукції діабету. Тварини групи контролю отримували відповідну кількість цитратного буфера (рН 4,5).

Стан глюкозного гомеостазу тварин на фоні модельної патології оцінювали на 30 добу експерименту за рівнем базальної глікемії та базальної інсулінемії [41].

Концентрацію глюкози у сироватці крові визначали натще з використанням глюкозооксидазного методу за допомогою глюкометра «One touch ultra easy» (виробництва LifeScan, Johnson&Johnson, США).

Концентрацію інсуліну у сироватці крові визначали натще імуноферментним методом з використанням стандартного набору реактивів «DRG», Німеччина.

Показник інсулінорезистентності (індекс НОМА-IR) розраховували виходячи з показників глюкози та інсуліну в крові тварин натще з використанням алгоритму НОМА [11].

Вміст глікозильованого гемоглобіну визначали спектрофотометричним методом, використовуючи реактиви комерційного набору («Філісіт-діагностика», Україна).

Після завершення експериментів щурам під ефірним наркозом проводили декапітацію, після чого досліджували біохімічні параметри в сироватці крові та гомогенатах печінки. Для всебічної оцінки стану глюкозного гомеостазу в сироватці крові визначали рівень піровиноградної кислоти (ПВК), активність

глікогенолізу оцінювали за вмістом глікогену в печінці, а енергетичне забезпечення клітин печінки - за активністю сукцинатдегідрогенази (СДГ), з використанням вищенаведених методик [136].

Показники ліпідного обміну в сироватці крові визначали з використанням спектрофотометричних методів згідно з раніше описаними методиками. Стан перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) оцінювали за рівнем ТБК-реактивних продуктів (у сироватці крові та гомогенатах печінки), а антиоксидантну систему (АОС) - за активністю каталази (у сироватці крові та гомогенатах печінки) та вмістом відновленого глутатіону (GSH) в гомогенатах печінки, також згідно з вищеописаними методиками [81].

Для оцінки рівноваги окисно-відновних процесів використовували коефіцієнт red/ox-балансу ($K_{red/ox}$), який визначали як співвідношення загальної кількості прооксидантів до загальної кількості антиоксидантів. Значення виражали у відносних одиницях, де вміст прооксидантів (ТБК-Р) співвідносили з добутком вмісту антиоксидантів (каталази). В якості відносної одиниці брали показники, отримані у здорових (інтактних) тварин:

$$K_{red/ox} = (ТБК-Р_{досл} / ТБК-Р_{ін}) / (Каталаза_{досл} / Каталаза_{ін}).$$

Рівень маркера довготривалої гіперглікемії – глікозильованого гемоглобіну (HbA1c) визначали спектрофотометричним методом, використовуючи набір реактивів виробництва фірми «Lachema» (Чехія). Вміст глікозильованого гемоглобіну виражали в мкмоль фруктози/г гемоглобіну.

У сироватці крові також аналізували *продукти спонтанної окислювальної модифікації білків* (ОМБ), накопичення яких за умов окисдативного стресу при ЦД2 вказує на порушення цілісності клітинних мембран. Метод ґрунтується на реакції карбонільних груп білків та шифових основ із 2,4-динітрофенілгідразином (ДНФГ), в результаті чого утворюються 2,4-динітрофенілгідразони [144]. Рівень альдегіддинітрофенілгідразонів (АДФГ) виступає як ранній маркер ушкодження та свідчить про зниження окислювального потенціалу клітини, тоді як кетондинітрофенілгідразони (КДФГ) є пізнім маркером окислювальної деградації білків [190].

Виведення всіх тварин з експерименту проводили на 30-й день після індукції діабету шляхом передозування ефірного наркозу.

Проводили патоморфологічне дослідження тканини ПЗ та печінки за методами, що описані вище.

Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням методів варіаційної статистики. Результати представляли у вигляді середнього арифметичного значення і стандартної помилки середнього. Для отримання статистичних висновків під час порівняння вибірок відносних змінних, після виявлення відмінностей між експериментальними групами за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA (або критерію Крускала-Волліса для даних, що не відповідають нормальному розподілу), застосовували параметричні критерії Ньюмена-Кейлса, t-критерій Стьюдента для множинних порівнянь, або непараметричний критерій Манна-Вітні [34, 39]. Для проведення розрахунків використовували стандартний статистичний пакет «Statistica, версія 6.0» (StatSoft Inc., США).

РОЗДІЛ 3

СКРИНІНГОВІ ДОСЛІДЖЕННЯ ГІПОГЛІКЕМІЧНОЇ ДІЇ ФІТОКОМПОЗИЦІЇ З СУХОГО ЕКСТРАКТУ З ЛИСТЯ ЖУРАВЛИНИ, L- АРГІНІНУ, ТАУРИНУ ТА ГЛІЦИНУ ТА ТАБЛЕТОК КОМБІНОВАНОГО СКЛАДУ «ФІТАРГІН-КОМБІ» НА ЇХ ОСНОВІ ТА ВИЗНАЧЕННЯ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ

В першому розділі ми детально обговорили провідні патогенетичні механізми, що обумовлюють розвиток ІР та, відповідно, МС та ЦД2. Узагальнені механізми гіпоглікемічної дії окремих компонентів або комплексів сполук рослинного походження, які на даний час використовуються як антигіперглікемічні засоби в комплексній терапії ЦД2 [146].

Метою першого етапу досліджень стало визначення умовнотерапевтичної дози досліджуваної фітокомпозиції на основі екстракту з листя журавлини з додаванням амінокислот та таблеток «Фітаргін-комбі» за гіпоглікемічною активністю і вивчення гострої токсичності для подальшого поглибленого вивчення.

3.1 Вивчення гіпоглікемічних властивостей фітокомпозиції на нормоглікемічних щурах при одноразовому введенні

На першому етапі необхідно було визначити можливу гіпоглікемічну дію фітокомпозиції за умови її одноразового уведення. Гіпоглікемічний ефект оцінювали за здатністю фітокомпозиції знижувати концентрацію глюкози у крові через 60, 120 хвилин та 4 години після її внутрішньошлункового уведення натще у дозах 25, 50, 75, 100 і 125 мг/кг, які описані в літературі, як такі, що чинять гепатопротекторну дію [15,33]. Встановлено, що одноразове введення фітокомпозиції в усіх досліджуваних дозах не впливало на рівень глюкози у крові, відсоток зниження глікемії в усі терміни спостереження майже не відрізнявся від вихідних даних та значень інтактного контролю в усіх часових термінах

дослідження.

Максимальний гіпоглікемічний ефект спостерігали після введення фітокомпозиції в дозах 100 і 125 мг/кг через 2 години, коли ступінь зниження рівня глюкози в крові дорівнював 7,7 і 8,2 % відповідно і майже не змінювався через 4 години, досягаючи 7,9 і 8,1 % (табл. 3.1) [29].

Слід зазначити, що однократне уведення Арфазетину також суттєво не змінювало концентрацію глюкози у крові, достовірний гіпоглікемічний ефект метформіну проявлявся на 2-й годині експерименту зниженням глюкози крові на 25,1 %, через 4 години реєстрували статистично недостовірне зниження на 19,4 %.

Отже, за даними експерименту за умови нормального глюкозного гомеостазу фітокомпозиція на основі екстракту з листя журавлини великоплідної та амінокислот не проявляє гіпоглікемічних властивостей. Враховуючи, що є протидіабетичні засоби, яким притаманна виключно антигіперглікемічна активність, зокрема, тiazолідиндіони, які проявляють гіпоглікемічні властивості тільки за умови гіперглікемії, отримані результати дозволяють припускати можливу антигіперглікемічну дію досліджуваного засобу.

3.2 Визначення умовнотерапевтичної дози фітокомпозиції на нормоглікемічних щурах при 14-ти денному введенні за допомогою орального тесту толерантності до глюкози

Враховуючи отримані результати завданням наступного етапу роботи було виявлення антигіперглікемічної дії фітокомпозиції та встановлення дозозалежного ефекту при її багаторазовому введенні.

Антигіперглікемічну дію фітокомпозиції досліджували за умови 14-денного введення за допомогою навантажувального ОТТГ, який відображає рівновагу між надходженням екзогенної глюкози у кров і процесами її утилізації та дозволяє оцінити антигіперглікемічні властивості засобів, що досліджуються. Результати проведеного ОТТГ на тлі 14-денного введення фітокомпозиції наведено в табл. 3.2.

Таблиця 3.1

Результати вивчення гіпоглікемічної дії фітокомпозиції при одноразовому введенні нормоглікемічним щурам, ($M \pm m$, $n = 7$)

Групи тварин	Рівень глікемії (ммоль/л)						
	вихідні дані	60 хв	% зниження	120 хв	% зниження	4 год	% зниження
ІК	4,67±0,42	4,61±0,49	1,3	4,55±0,36	2,6	4,51±0,48	3,4
Фіто-композиція, 25 мг/кг	4,58±0,43	4,53±0,37	1,1	4,48±0,41	2,2	4,42±0,45	3,5
Фіто-композиція, 50 мг/кг	4,62±0,46	4,57±0,51	1,1	4,52±0,42	2,2	4,45±0,47	3,7
Фіто-композиція, 75 мг/кг	4,54±0,39	4,46±0,42	1,8	4,41±0,37	2,9	4,34±0,43	4,4
Фіто-композиція, 100 мг/кг	4,57±0,43	4,43±0,44	3,1	4,22±0,41	7,7	4,21±0,56	7,9
Фіто-композиція, 125 мг/кг	4,62±0,47	4,47±0,42	3,2	4,24±0,38	8,2	4,25±0,49	8,1
Арфазетин	4,58±0,37	4,51±0,45	1,5	4,43±0,35	3,3	4,32±0,40	5,7
Метформін	4,55±0,44	4,31±0,42	5,3	3,41±0,45	25,1	3,67±0,48	19,4

Як свідчать отримані результати внутрішньошлункове введення глюкози щурам групи позитивного контролю викликало максимальне статистично значуще підвищення рівня ендогенної глюкози на 30-й хвилині (пік гіперглікемії) ОТТГ в 2,2 рази ($p < 0,001$) відносно вихідних даних. У подальші терміни спостереження

впродовж 2-х годин у тварин цієї групи відзначали поступове зниження рівня глюкози у крові. Так, на 60-й хвилині реєстрували достовірне зменшення гіперглікемії на 33,9 % ($p < 0,001$) порівняно з 30-ю хвилиною тестування, через 120 хвилин – нормалізацію глікемії до вихідних даних (табл. 3.2).

Таблиця 3.2

Динаміка глікемії під час ОТТГ у нормоглікемічних щурів, які отримували фітокомпозицію протягом 14-ти днів, ($M \pm m$), $n = 7$

Групи тварин	Рівень глікемії (ммоль/л)			
	вихідні дані	30 хв	60 хв	120 хв
Позитивний контроль	4,35±0,18	9,74±0,52*	6,44±0,25*	4,45±0,22
Фітокомпозиція, 25 мг/кг	4,31±0,16	9,05± 0,41*	6,23±0,33*	4,22±0,25
Фітокомпозиція, 50 мг/кг	4,37±0,20	8,58±0,49*	5,76±0,31	4,40±0,22
Фітокомпозиція, 75 мг/кг	4,40±0,21	8,33±0,40*	5,59±0,38	4,38±0,24
Фітокомпозиція, 100 мг/кг	4,36±0,18	7,69±0,39*/**	5,38±0,32**	4,27±0,18
Фітокомпозиція, 125 мг/кг	4,28±0,22	7,58±0,37*/**	5,31±0,27**	4,32±0,25
Арфазетин	4,43±0,15	8,63±0,35*	5,94±0,28	4,56±0,19
Метформін	4,35±0,21	6,32±0,42*/**	5,03±0,30**	4,21±0,26

Примітки:

1. * – відмінності статистично значущі щодо вихідних даних, $p < 0,05$;
2. ** – відмінності статистично значущі щодо позитивного контролю, $p < 0,05$.

У групах тварин, які отримували фітокомпозицію виявлено дозозалежний гіпоглікемічний ефект різного ступеня вираженості в усіх досліджуваних дозах.

Зокрема, при застосуванні фітокомпозиції в дозах 25, 50 і 75 мг/кг встановлено тільки позитивну тенденцію до зниження рівня глюкози в крові порівняно з позитивним контролем через 30 хвилин після вуглеводного навантаження на 7,1%, 12,9 %, 14,5 % відповідно. Аналогічну динаміку спостерігали на 60-й хвилині спостереження (табл. 3.2).

Порівнюючи значення площі під глікемічними кривими при введенні фітокомпозиції в дозах 25 та 50 мг/кг з групою позитивного контролю статистично значущих відмінностей не виявлено. Рівень AUCglu у групі тварин, що отримували комбінований засіб в дозі 75 мг/кг був достовірно меншим за показник позитивного контролю, проте поступався за виразністю таблеткам метформіну на 15,5 % ($p < 0,05$) (рис. 3.1).

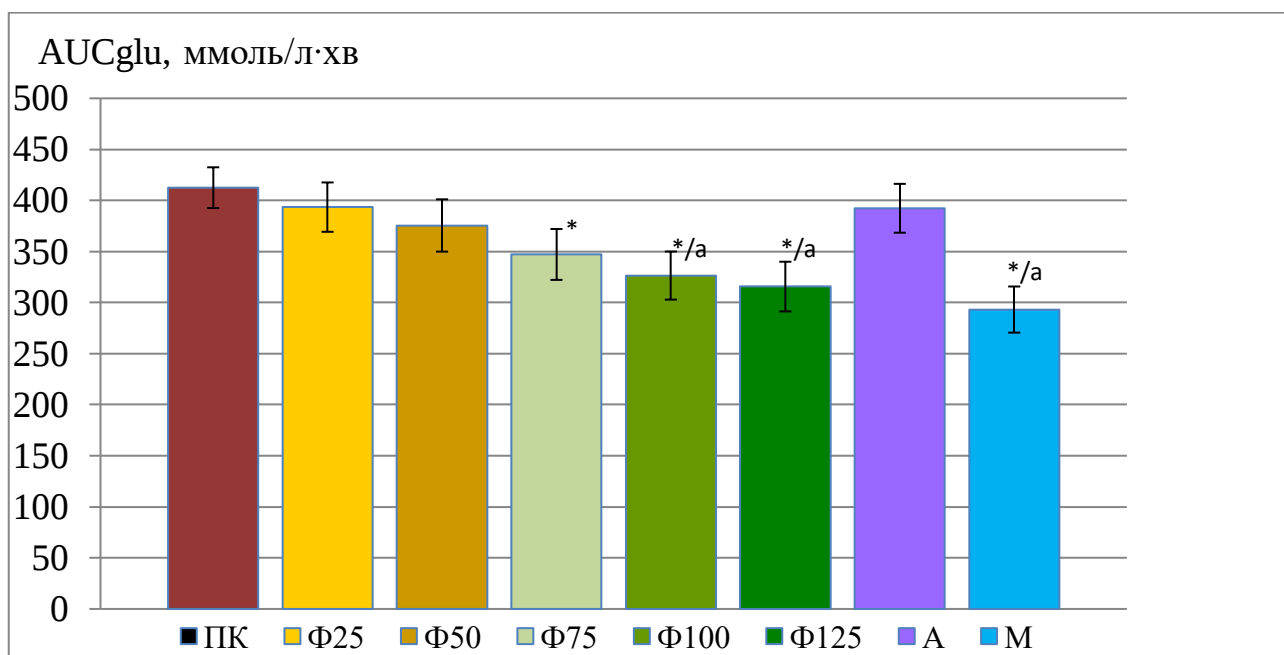


Рис. 3.1. Вплив фітокомпозиції на площі під глікемічними кривими під час ОТТГ після 14-денного введення нормоглікемічним щурам ($M \pm m$, $n=7$). ПК – позитивний контроль; Ф25, Ф50, Ф75, Ф100, Ф125 – фітокомпозиція в дозах 25, 50, 75, 100 і 125 мг/кг; А – збір «Арфазетин»; М – таблетки «Метформін».

Примітки:

1. * – відмінності статистично значущі щодо позитивного контролю, $p < 0,05$;
2. а – відмінності статистично значущі щодо арфазетину, $p < 0,05$.

Отже, фітокомпозиція у дозах 25, 50 і 75 мг/кг чинить низьку та помірну

гіпоглікемічну дію, оскільки, відповідно до вимог до первинного фармакологічного скринінгу мінімальний гіпоглікемічний ефект потенційних засобів має бути не нижчим за 10 % порівняно з вихідним рівнем та контрольною групою [13].

Підвищення дози фітокомпозиції до 100 та 125 мг/кг показало виражений гіпоглікемічний ефект, який проявився достовірним, близьким за значеннями, зменшенням аліментарної гіперглікемії щодо значень позитивного контролю на 30-й хвилині спостереження на 21,0 % ($p < 0,01$) та 22,2 % ($p < 0,01$) відповідно.

За виразністю гіпоглікемічної дії комбінований засіб у дозах 100 і 125 мг/кг не поступався препарату порівняння таблеток метформіну, який на 30-й хвилині експерименту виявив зниження глікемії на 35,1 % ($p < 0,001$). Ефективність збору «Арфазетин» (зниження глікемії на 11,4 %) була нижчою за дію фітокомпозиції у дозах 100 та 125 мг/кг на 9,6 % та 13,8 %, проте відмінності не були достовірними.

Проведене тестування через 60 хвилин продемонструвало аналогічні зміни глікемії, які були достовірними тільки в групах щурів, що отримували фітокомпозицію в дозах 100 та 125 мг/кг і таблетки метформіну (табл. 3.2).

За інтегральним показником глікемії – площами під глікемічними кривими, отриманими під час проведення ОТТГ, фітокомпозиція в дозах 100 та 125 мг/кг не тільки не поступається препарату порівняння метформіну, а й перевищує збір «Арфазетин», що свідчить про виражені гіпоглікемічні властивості комбінованого засобу (рис. 3.1).

Отже, узагальнюючи отримані дані можна зробити попередній висновок про те, що виражений гіпоглікемічний ефект фітокомпозиції за умови її застосування протягом 14 днів у нормоглікемічних щурів починає достовірно проявлятися у дозі 100 мг/кг та залишається стабільно однаковим при застосуванні вищої дози – 125 мг/кг. Згідно з результатами дослідження подальше підвищення дози фітокомпозиції було недоцільним.

3.3 Визначення умовнотерапевтичної дози фітокомпозиції за антигіперглікемічною дією на моделі порушеної толерантності до глюкози, викликаної дексаметазоном

Порушену толерантність до глюкози сьогодні вважають одним із надійних прогностичних маркерів розвитку ЦД2, вона свідчить про те, що ступінь ІР та інсулінової секреції знаходяться в стані ненадійного балансу. Подальше погіршення резистентності до інсуліну або зниження його секреції призводить до прогресування гіперглікемії та розвитку ЦД [1].

Тому на наступному етапі з метою остаточного висновку щодо умовнотерапевтичної дози фітокомпозиції вивчали її антигіперглікемічні властивості на моделі порушеної толерантності до глюкози, яку відтворювали підшкірними ін'єкціями дексаметазону 3-місячним щурам, що призводить до розвитку інтолерантності до глюкози, ІР, але не викликає змін в базальній глікемії, тобто відтворює стан переддіабету [1]. В межах даного фрагменту скринінгового дослідження вивчали ефективність фітокомпозиції у дозах 75, 100 і 125 мг/кг, оскільки важливим було оцінити можливість застосування комбінованого засобу в меншій дозі.

Згідно з отриманими даними рівень базальної глікемії у щурів групи КП на 14-ту добу достовірно не відрізнявся від такого у тварин з групи ІК (рис. 3.2).

При проведенні ОТТГ встановлено суттєве порушення толерантності до глюкози у щурів групи КП, що проявлялося різким підвищенням рівня глюкози в 2,8 рази ($14,36 \pm 0,71$ ммоль/л) порівняно з базальною глікемією ($5,19 \pm 0,23$ ммоль/л) на 30-й хвилині та збереженням її протягом всього тесту на рівні, який значно перевищує показник інтактного контролю і не досягає фізіологічної норми на 120-й хвилині спостереження (рис. 3.2).

Така динаміка глікемії у крові тварин КП протягом тесту відображалася статистично достовірним збільшенням AUC_{glu} щодо значення інтактних тварин на 98,8 % ($p < 0,001$) (табл. 3.3).

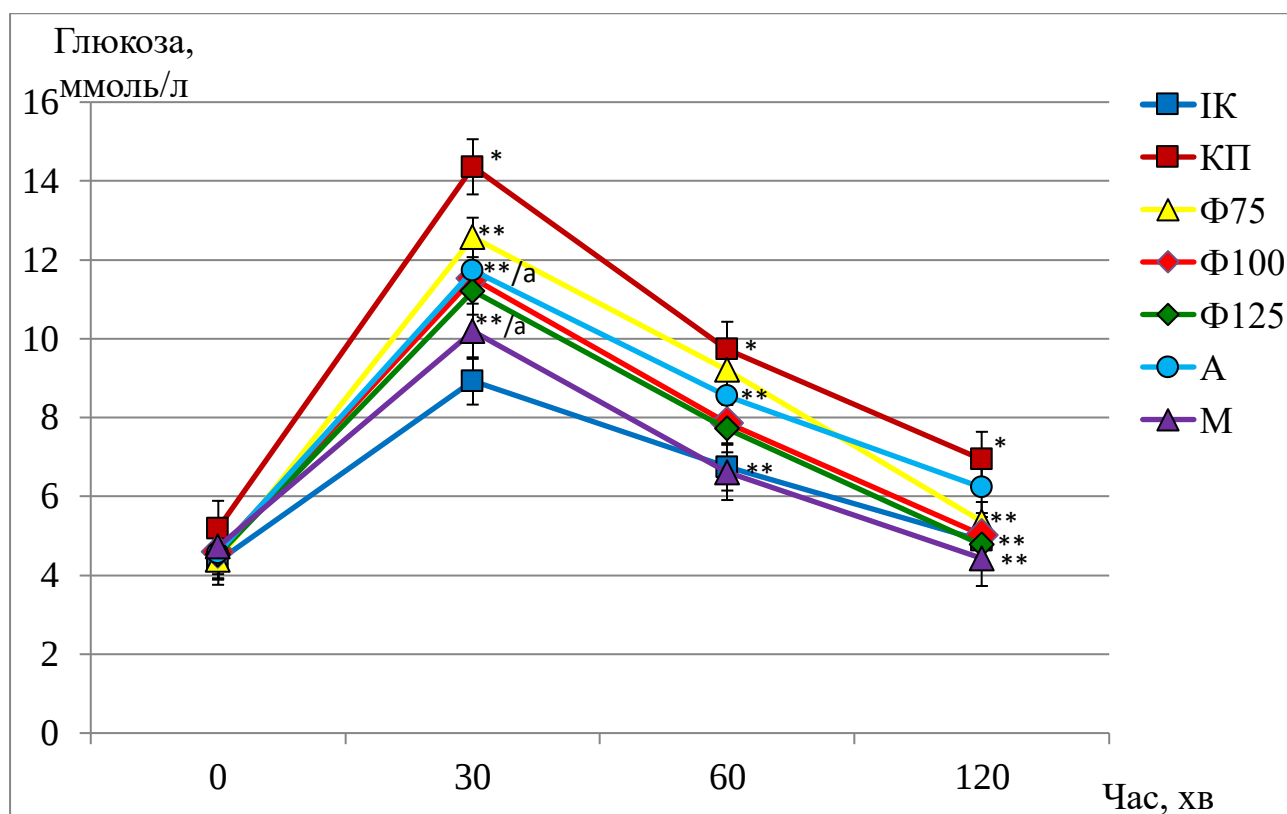


Рис. 3.2. Динаміка глікемії під час ОТТГ у щурів з порушеною толерантністю до глюкози, викликаною дексаметазоном ($M \pm m$), $n = 7$. ІК – інтактний контроль; КП – контрольна патологія; Ф75, Ф100, Ф125 – фітокомпозиція в дозах 75, 100 і 125 мг/кг; А – збір «Арфазетин»; М – таблетки метформін.

Примітки:

1. * – відмінності статистично значущі щодо ІК, $p < 0,05$;
2. ** – відмінності статистично значущі щодо КП, $p < 0,05$;
3. а – відмінності статистично значущі щодо арфазетину, $p < 0,05$.

Отже, вказані зміни засвідчили погіршення утилізації глюкози периферичними тканинами у щурів КП, що обумовлено здатністю глюкокортикоїду дексаметазону при тривалому введенні пригнічувати експресію транспортерів глюкози – GLUT1 та GLUT4 [].

За умови застосування фітокомпозиції у дозах 75, 100, 125 мг/кг та препаратів порівняння спостерігали поліпшення толерантності до глюкози у щурів дослідних груп, але не в однаковому ступені.

Таблиця 3.3

Вплив фітокомпозиції на площу під глікемічними кривими під час ОТТГ у щурів з порушеною толерантністю до глюкози, викликану дескаметазоном (M±m, n=7)

Групи тварин	AUCglu, ммоль/л·хв
ІК	375,13±29,84
КП	745,81±39,31*
Фітокомпозиція, 75 мг/кг	509,62±32,91**
Фітокомпозиція, 100 мг/кг	412,67±26,08**/a#
Фітокомпозиція, 125 мг/кг	404,58±33,19**/a#
Арфазетин	566,29±34,56**
Метформін	388,24±27,53**/a#

Примітки:

1. * – відмінності статистично значущі щодо ІК, $p<0,05$;
2. ** – відмінності статистично значущі щодо КП, $p<0,05$;
3. а – відмінності статистично значущі щодо арфазетину, $p<0,05$;
4. # – відмінності статистично значущі щодо фітокомпозиції в дозі 75 мг/кг, $p<0,05$.

У групі тварин, що отримували фітокомпозицію в дозі 75 мг/кг, на 30-й хвилині ОТТГ ступінь виразності гіперглікемії був найвищим серед усіх досліджуваних засобів ($12,30\pm0,56$ ммоль/л), проте достовірно нижчим від показника КП на 14,1 % ($p<0,05$), далі нормалізація глікемії відбувалася повільно, через 2 години рівень глюкози в крові не відновився повністю і перевищував базальну глікемію на 22 % ($p<0,05$) (рис. 3.2).

За інтегральним показником площею під глікемічною кривою встановлено суттєві відмінності. Так, відносно значення групи КП AUCglu фітокомпозиції в дозі 75 мг/кг була достовірно меншою на 31,7 % ($p<0,001$), але поряд із цим була статистично значуще більшою за AUCglu груп фітокомпозиції в дозах 100 і 125

мг/кг на 23,5 % ($p<0,05$) та 25,0 % ($p<0,05$) відповідно. Крім того за AUC_{glu} фітокомпозиція в дозі 75 мг/кг достовірно поступалася препарату порівняння таблеткам метформіну на 31,3 % ($p<0,05$) (табл. 3.3).

Отже, аналізуючи отримані дані можна заключити, що фітокомпозиція в дозі 75 мг/кг певною мірою покращує толерантність до глюкози, проте антигіперглікемічна дія є недостатньою для нормалізації рівня постпрандіальної глікемії, яка виникає при вуглеводному навантаженні і, за даними літератури є предиктором підвищеного серцево-судинного ризику в осіб з переддіабетом [113].

Проведення ОТТГ у групах щурів, яким вводили фітокомпозицію в дозах 100 і 125 мг/кг показало, що динаміка глікемії на фоні глюкозного навантаження була практично однаковою в усі часові проміжки. Так, покращення толерантності до глюкози під впливом фітокомпозиції у зазначених дозах характеризувалося більш повільним зростанням рівня глюкози в крові порівняно з КП на 30-й хвилині тесту ($11,53\pm0,48$ та $11,21\pm0,33$) на 24,5 % ($p<0,05$) та 28,1 % ($p<0,05$) відповідно. В наступні терміни дослідження рівень глюкози крові повільно знижувався і через 120 хвилин відновлювався до значень базальної глікемії (рис. 3.2).

Слід зазначити, що під дією фітокомпозиції в дозах 100 і 125 мг/кг, як і в попередньому експерименті, показник AUC_{glu} був достовірно нижчим ніж у групі тварин КП на 44,7 % ($p<0,001$) та 45,8 % ($p<0,001$) і наближався до рівня ІК. При цьому антигіперглікемічна дія фітокомпозиції у зазначених дозах за AUC_{glu} був співставною з такою метформіну (зменшення AUC_{glu} на 47,9 % ($p<0,001$)) та достовірно вищою за вплив збору «Арфазетин» на 37,2 % ($p<0,01$) та 39,9 % ($p<0,01$), що вказує на виражену ефективність фітокомпозиції у дозах 100 і 125 мг/кг на даній моделі (табл. 3.3).

Виходячи з патогенезу інтолерантності, яка розвинулась у щурів на фоні введення дексаметазону, антигіперглікемічний ефект нової фітокомпозиції може бути пов'язаний з її здатністю посилювати утилізацію глюкози периферичними тканинами, яка є основним механізмом підвищення рівня глюкози в крові після вживання їжі [212].

Отже, на моделі порушеної толерантності до глюкози фітокомпозиція в дозах

100 та 125 мг/кг чинить виражену антигіперглікемічну дію, є ефективнішою порівняно з Арфазетином і не поступається метформіну.

Оскільки на обох етапах дослідження при вивченні фітокомпозиції на основі поліфенольного екстракту з листя журавлини великоплідної та амінокислот в дозах 100 і 125 мг/кг під час ОТТГ встановлено практично однакове пригнічення гіперглікемії у нормоглікемічних тварин та на фоні порушеної толерантності до глюкози, у подальших дослідженнях доцільним є застосування дози 100 мг/кг як умовнотерапевтичної [44].

3.4 Визначення умовнотерапевтичної дози таблеток комбінованого складу «Фітаргін-комбі» за антигіперглікемічною дією на моделі порушеної толерантності до глюкози

Враховуючи результати попередніх експериментів на даному етапі необхідно було в фармакологічному скринінгу підтвердити антигіперглікемічну дію таблеток «Фітаргін-комбі» (ФК), які було розроблено на основі фітокомпозиції.

Скринінгове дослідження проводили на моделі порушеної толерантності до глюкози у щурів, викликаній дексаметазоном на тлі 14-денного введення таблеток ФК у дозах 75, 100 та 125 мг/кг та препаратів порівняння - Арфазетину та метформіну. Антигіперглікемічний ефект оцінювали під час проведення ОТТГ за здатністю досліджуваного засобу зменшувати інтолерантність до глюкози.

У щурів групи КП на 14-й день експерименту реєстрували погіршення утилізації глюкози периферичними тканинами під час проведення ОТТГ, що характеризувалося достовірним підвищенням рівня глюкози в крові в 2,3 рази ($p < 0,001$) порівняно з базальною глікемією на 30-й хвилині ОТТГ. Показник не знижувався до вихідного значення у наступні терміни спостереження (рис. 3.3).

Під впливом таблеток ФК відбувалося покращення толерантності до глюкози, яке за виразністю було аналогічним ефекту фітокомпозиції у вказаних дозах у попередньому досліді.

Проведення ОТТГ після тривалого уведення таблеток у дозах 100 та 125 мг/кг на 30-й хвилині тестування показало достовірний антигіперглікемічний ефект на

рівні 36 % та 37 %, за яким ФК статистично значуще перевершував фітозбір «Арфазетин» та не поступався метформіну, про що свідчать дані глікемії в усі часові проміжки тестування.

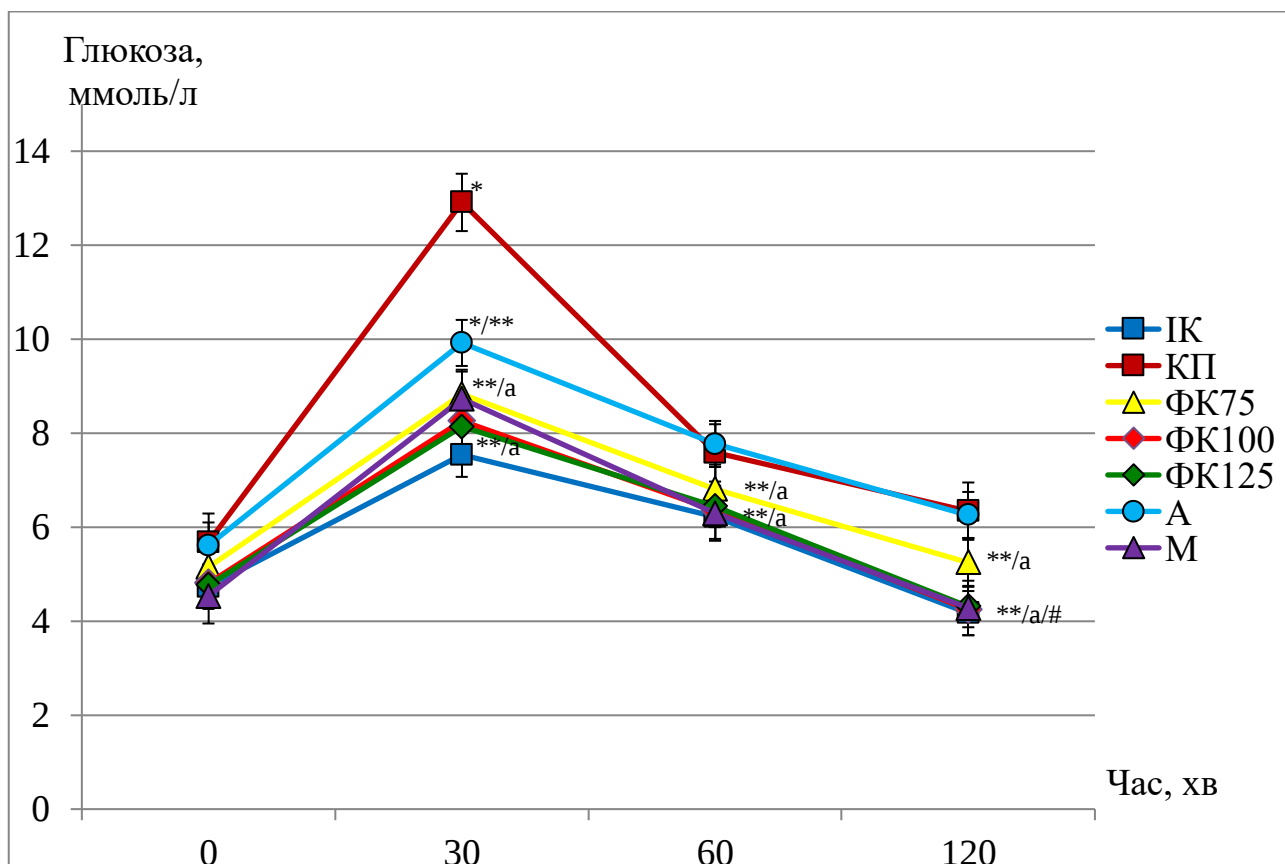


Рис. 3.3. Динаміка глікемії під час ОТТГ у щурів з порушеною толерантністю до глюкози, викликаною дексаметазоном ($M \pm m$), $n = 7$. ІК – інтактний контроль; КП – контрольна патологія; ФК75, ФК100, ФК125 – таблетки «Фітаргін-комбі» в дозах 75, 100 і 125 мг/кг; А – збір «Арфазетин»; М – таблетки «Метформін».

Примітки:

1. * – відмінності статистично значущі щодо ІК, $p < 0,05$;
2. ** – відмінності статистично значущі щодо КП, $p < 0,05$;
3. а – відмінності статистично значущі щодо арфазетину, $p < 0,05$;
4. # – відмінності статистично значущі щодо ФК в дозі 75 мг/кг, $p < 0,05$.

Застосування ФК у дозі 75 мг/кг викликало суттєве зменшення гіперглікемії порівняно з КП тільки на 30-й хвилині спостереження на 32 % ($p < 0,001$), проте відновлення глікемії у подальшому відбувалося повільно й через 120 хвилин рівень глюкози в крові повністю не нормалізувався та був достовірно вищим за значення

ІК (рис. 3.3).

Таким чином, отримані результати підтвердили збереження антигіперглікемічних властивостей у таблеток ФК на основі фітокомпозиції у мінімальній дозі 100 мг/кг, яка чинить максимальний ефект і дозволили застосовувати у подальших експериментах вказану дозу як умовнотерапевтичну.

3.5. Дослідження гострої токсичності таблеток комбінованого складу «Фітаргін-комбі»

Безпечність лікарських засобів є однією з найважливіших умов їхнього застосування в медичній практиці. Тому експериментальна фармакологія спрямована на створення засобів, що забезпечують виразний терапевтичний ефект і одночасно виявляють мінімальний негативний вплив на організм. Визначення параметрів гострої токсичності нових засобів складає обов'язковий етап досліджень їхніх фармакологічних властивостей. Дослідження гострої токсичності таблеток комбінованого складу ФК проводили на щурах шляхом його внутрішньолушкового однократного введення у два етапи [6]. Під час першого етапу тваринам вводили 100, 600 і 1000 мг/кг ФК внутрішньолушково і спостерігали протягом 24 годин для виявлення ознак токсичності та смертності. Для другого етапу були обрані дози 2000, 3000 і 5000 мг/кг після одноразового внутрішньолушкового введення і спостерігали за ознаками токсичності та смертністю протягом 72 годин. Встановлено, що при введенні даних доз загибелі тварин не спостерігалось. Об'єм рідини, що вводився тваринам, не перевищував допустимі, які визначені методичними вказівками, тому подальше збільшення дози було неможливим. Хоча визначити середньолетальні дози досліджуваних таблеток не вдалося, нами було встановлено, вони перевищують 5000 мг/кг, що дозволяє віднести ФК до класу V – «практично нетоксичні речовини» при внутрішньолушковому введенні.

Результати вивчення глікемії у тварин, що одноразово отримали таблетки дозою 5000 мг/кг показали незначне недостовірне коливання глікемії у бік

зменшення у всіх експериментальних тварин, яке знаходилося у межах фізіологічної норми (табл. 3.4).

Таблиця 3.4

Показники глікемії у крові щурів під час вивчення гострої токсичності таблеток «Фітаргін-комбі» при внутрішньошлунковому введенні, $M \pm m$

Групи тварин	Рівень глікемії через ... хвилин, (ммоль/л)				
	вихідні дані	30 хв	60 хв	120 хв	24 год
Самці (n=6)	4,57±0,21	4,36±0,39	4,25±0,22	4,08±0,26	4,35±0,23
Самки (n=6)	4,73±0,32	4,55±0,27	4,34±0,35	4,20±0,31	4,59±0,34

Далі було проведено вивчення гострої токсичності таблеток на мишах обох статей при внутрішньошлунковому та внутрішньоочеревному введенні.

Для цього тварини були розподілені на шість груп: внутрішньошлунково в дозах 1000; 3000; 5000 мг/кг, іншим трьом – внутрішньоочеревинно в дозах 300; 700; 1000 мг/кг [40]. Реєстрували летальність протягом двох тижнів. Результати наведено в табл. 3.5.

Згідно з даними, представленими в табл. 3.5, протягом двох тижнів проведення експерименту в жодній із груп не було зафіксовано випадків загибелі тварин, у зв'язку з чим визначити показник LD_{50} не є можливим. Під час спостережень також оцінювали загальний фізичний статус тварин, стан шкіри та слизових оболонок, температуру тіла, зміну положення тіла, наявність судом, а також процеси дефекації та сечовипускання. Впродовж усього періоду спостереження у тварин, які отримували досліджувані таблетки, не відзначалося порушень фізіологічного стану. Показники частоти дихання, ритму серцевих скорочень, реакцій на больові та звукові стимули, а також координації рухів не відрізнялися від контрольних тварин.

Таблиця 3.5

Вивчення гострої токсичності таблеток «Фітаргін-комбі» на мишах (n=5)

Шлях введення	Доза, мг/кг	Ефект, який спостерігався:
---------------	-------------	----------------------------

		летальність /кількість тварин
внутрішньошлунково	1000	0/5
	3000	0/5
	5000	0/5
внутрішньоочеревинно	300	0/5
	700	0/5
	1000	0/5

Згідно з отриманими даними, таблетки «Фітаргін-комбі» класифікуються як речовини класу V - «практично нетоксичні» при внутрішньошлунковому та внутрішньоочеревинному введенні [207]. Це дає змогу вважати їх безпечними і використовувати у широкому діапазоні доз.

Висновки до розділу 3

1. На моделі порушення толерантності до глюкози у щурів, викликаній дексаметазоном, встановлені виражені антигіперглікемічні властивості таблеток комбінованого складу «Фітаргін-комбі» у дозі 100 мг/кг, яка була застосована у подальших експериментах як умовнотерапевтична.

2. Результати токсикологічних досліджень дозволяють зробити висновки про низьку токсичність таблеток «Фітаргін-комбі» і віднести їх до V класу – «практично нетоксичні» речовини.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Чікіткіна В., Танська М.С. Скринінгові дослідження гіпоглікемічної дії фітокомпозиції на основі поліфенольного екстракту з листя журавлини та амінокислот. *Сучасна медицина, фармація та психологічне здоров'я*. 2024. Випуск 1 (15). С. 119-125. <https://doi.org/10.32689/2663-0672-2024-1-21>. (Особисто

здобувачем виконано експериментальне дослідження, проведено статистичну обробку результатів, узагальнені результати, підготовлено статтю до друку).

2. Танська М.С., Кононенко Н.М. Вивчення параметрів гострої токсичності фітокомпозиції на основі сухого екстракту з листя журавлини та амінокислот. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція*: збірник тез V науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю, 17 листопада 2022 р. Х.: Вид-во НФаУ, 2022. С. 317-318.

3. Кононенко Н. М., Танська М.С., Чікіткіна В.В. Скринінг можливої гіпоглікемічної дії фітокомпозиції на основі екстракту з листя журавлини великоплідної та амінокислот при однократному введенні нормоглікемічним щурам. *Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації*: збірник тез VI науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю, 16 травня 2024 р. Х.: Вид-во НФаУ, 2022. С. 121-122.

РОЗДІЛ 4

ВИВЧЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ТАБЛЕТОК КОМБІНОВАНОГО СКЛАДУ «ФІТАРГІН-КОМБІ» НА МОДЕЛІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ, ВИКЛИКАНОГО ВИСОКОЦУКРОЗНОЮ ДІЄТОЮ

Для вивчення механізмів порушення обміну речовин, пов'язаних із МС, широко використовується моделювання цього стану в тварин шляхом введення в їх раціон вуглеводів – фруктози або цукрози.

Цукроза – органічна сполука, утворена залишками двох моносахаридів глюкози й фруктози. Цей дисахарид здатний викликати підвищення маси тіла, ожиріння, збільшення секреції інсуліну β -клітинами ПЗ, порушення толерантності до глюкози, розвиток ІР, дисліпідемію (підвищення рівнів тригліцеридів, ліпопротеїнів дуже низької щільності, загального холестерину), артеріальну гіпертензію, зростання маркерів функціонального стану печінки (аланінамінотрансферази та аспартатамінотрансферази) і зміну показників оксидативного стресу (малонового діальдегіду, супероксиддисмутази та глутатіону) в цій тканині [156].

На відміну від фруктози, цукроза спричиняє більш серйозні порушення структурних змін у печінці. У дослідженнях Corona-Pérez A. et al. показано, що введення 30% розчину цукрози щурам протягом 8 тижнів призводило до порушення толерантності до глюкози, наявності ІР, підвищення рівня тригліцеридів у крові та структурних змін печінки - розвитку стеатозу з ознаками помірного фіброзу [73].

Таким чином, цукроза є ефективним індуктором розвитку МС у гризунів.

Тому, індукована споживанням цукрози ІР у щурів вважається гарною моделлю для доклінічного дослідження засобів, націлених на лікування МС, і широко використовується. Ця модель широко використовується для оцінки *in vivo* антигіперглікемічного потенціалу різних агентів.

В цьому розділі ми обговорюємо та наводимо результати експерименту з вивчення гіпоглікемічної, гепатопротекторної, антиоксидантної та гіполіпідемічної дії таблеток ФК за умов експериментального МС, індукованого високоцукровою дієтою (ВЦД) у щурів [16].

4.1. Вплив таблеток «Фітаргін-комбі» на масу тіла, показники вуглеводного та ліпідного обмінів

Відомо, що споживання висококалорійної їжі призводить до ожиріння, яке щільно пов'язане з ризиком розвитку МС та ЦД2 [1,229]. Утримання щурів на гіперкалорійній високоцукровій дієті протягом 8 тижнів призводило до ожиріння, оскільки приріст маси тіла у щурів КП став достовірно на 49,8 % ($p < 0,01$) більшим за показник групи ІК (рис. 4.1).

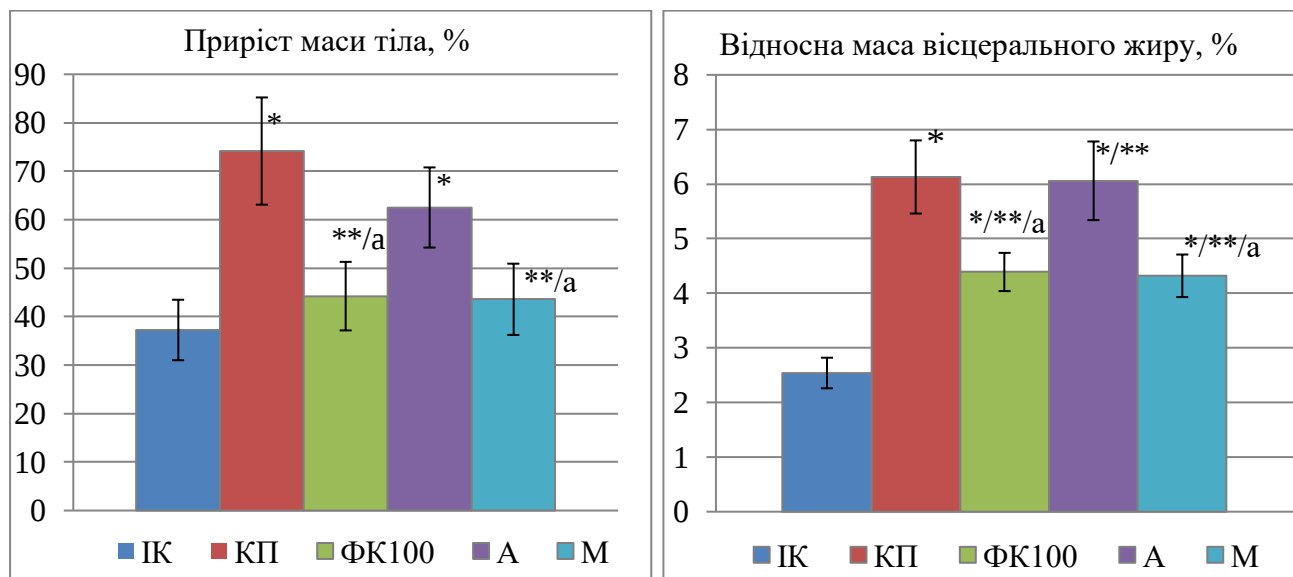


Рис. 4.1. Вплив Фітаргін-комбі на приріст маси тіла та відносну масу вісцерального жиру у щурів за умов МС, індукованого ВЦД, ($M \pm m$), $n = 7$. ІК – інтактний контроль; КП – контрольна патологія; ФК – таблетки «Фітаргін-комбі» в дозі 100 мг/кг; А – Арфазетин; М – Метформін

Примітки:

1. * – відмінності статистично значущі щодо ІК, $p < 0,05$;
2. ** – відмінності статистично значущі щодо КП, $p < 0,05$;
3. а – відмінності статистично значущі щодо арфазетину, $p < 0,05$.

Збільшення приросту маси тіла тварин супроводжувалося зростанням відносної маси вісцерального жиру в 2,4 рази ($p < 0,01$) порівняно з ІК (рис. 4.1).

Досліджуваний ФК запобігав розвитку ожиріння, викликаного ВЦД у тварин. Так, встановлено достовірне сповільнювання зростання маси тіла порівняно з тваринами групи КП на 40,4 % ($p < 0,05$), що призводило до вірогідного зниження відносної маси вісцерального жиру більш в 1,31 рази ($p < 0,05$) відносно КП. Слід зазначити, що вказані зміни співпадали з природнім приростом маси тіла у інтактних тварин (рис. 4.1).

Отримані дані практично не відрізнялися від масових показників щурів групи препарату порівняння метформіну, який спричиняв зниження приросту маси тіла тварин на 41,2 % ($p < 0,05$) на тлі зменшення вісцерального жиру в 1,42 рази ($p < 0,05$).

Фітозбір «Арфазетин» незважаючи на тривале введення незначно обмежував збільшення маси тіла тварин (за 8 тижнів приріст маси тіла був нижчим за групу КП лише на 15,7 %, а відносна маса вісцерального жиру співпадала з показником нелікованих щурів).

Отже, таблетки ФК достовірно запобігали розвитку вісцерального ожиріння, яке відіграє значну роль в генезі МС, на рівні таблеток метформіну – антигіперглікемічного препарату першої лінії у хворих з надмірною масою тіла та ожирінням, і достовірно перевершували рослинний антидіабетичний збір «Арфазетин».

Антигіперглікемічну дію таблеток ФК вивчали за умови внутрішньоочеревинного тесту толерантності до глюкози (ВЧТТГ), коли вуглевод потрапляє у кров минаючи ШКТ та прямо стимулює секрецію інсуліну.

Відповідно до отриманих даних тривале утримання тварин на ВЦД не призводило до зміни базальної глікемії (рис. 4.2, табл. 4.1).

Проте, характер розвитку глікемічних кривих, отриманих під час проведення ВЧТТГ, свідчив про наявність у тварин порушеної толерантності до глюкози.

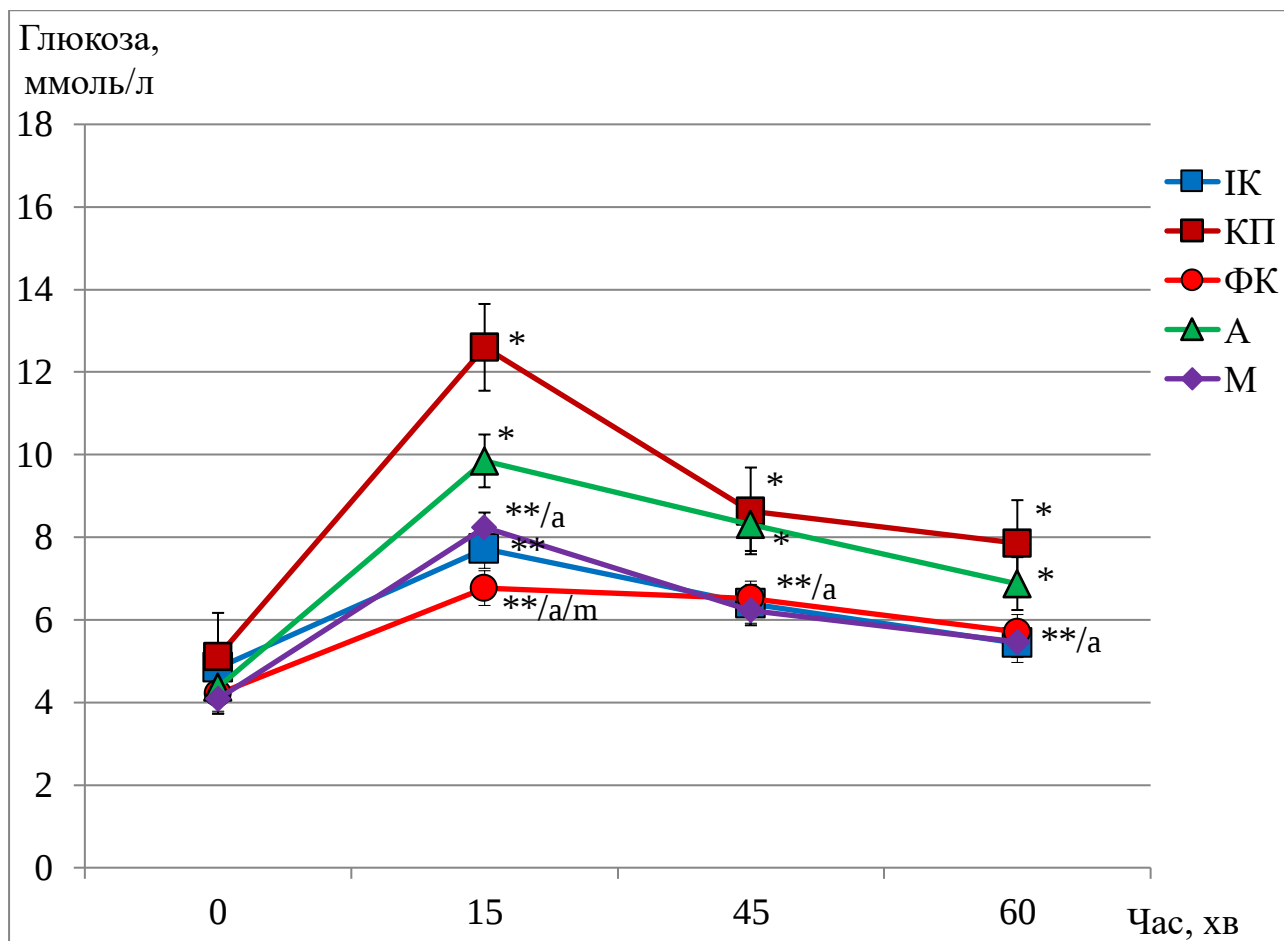


Рис. 4.2. Вплив таблеток «Фітаргін-комбі» на динаміку глікемії під час ВЧТТГ у щурів за умов МС, індукованого ВЦД, ($M \pm m$), $n = 7$. ІК – інтактний контроль; КП – контрольна патологія; ФК – таблетки Фітаргін-комбі в дозі 100 мг/кг; А – Арфазетин; М – Метформін

Примітки:

1. * – відмінності статистично значущі щодо ІК, $p < 0,05$;
2. ** – відмінності статистично значущі щодо КП, $p < 0,05$;
3. а – відмінності статистично значущі щодо арфазетину, $p < 0,05$;
4. m – відмінності статистично значущі щодо метформіну, $p < 0,05$.

Навантаження вуглеводами викликало різкий підйом рівня глюкози у крові тварин групи КП на 15-й хвилині тесту в 1,5 рази ($p < 0,01$) порівняно з ІК, зазначені зміни були достовірно вищими за вихідні дані та значення ІК в усі наступні терміни спостереження (рис. 4.2). Інтегральний показник площі під глікемічними кривими (AUC_{glu}) в 1,6 рази перевищував відповідний показник у групі ІК (табл. 4.1), що

також підтверджує наявність інтолерантності до глюкози у тварин КП, яке відбувається внаслідок порушення утилізації глюкози в печінці через надлишкове споживання цукрів.

Таблиця 4.1

**Вплив Фітаргін-комбі на показники вуглеводного обміну у щурів за умов
МС, індукованого ВЦД, ($M \pm m$), $n = 7$**

Групи тварин	Показники		
	Базальна глікемія, ммоль/л	AUK _{glu} , ммоль/л·хв (ВЧТТГ)	КЧІ, %
ІК	4,84±0,8	783,62±10,51	51,4±0,7
КП	5,12±0,7	1290,24±15,02*	17,2±0,3*
Фітаргін-комбі	4,21±0,3	731,15±6,32**/a/m	49,6±0,7**
Арфазетин	4,37±0,5	960,21±8,43**	35,3±0,4**
Метформін	4,09±0,7	875,13±10,33**	38,9±0,8**

Примітки:

1. * – відмінності статистично значущі щодо ІК, $p < 0,05$;
2. ** – відмінності статистично значущі щодо КП, $p < 0,05$;
3. а – відмінності статистично значущі щодо арфазетину, $p < 0,05$;
4. m – відмінності статистично значущі щодо метформіну, $p < 0,05$.

Як показало подальше тестування утримання тварин на ВЦД призводило до розвитку ІР. За допомогою короткого інсулінового тесту у тварин КП виявлено суттєве зниження чутливості периферичних тканин до дії інсуліну (табл. 4.1). Коефіцієнт чутливості до інсуліну (КЧІ) у групі КП був нижчим у 3 рази порівняно з ІК (табл. 4.1). Аналізуючи отримані дані можна заключити, що тривале утримання тварин на ВЦД в поєднанні з гіподинамією призводило до розвитку інтолерантності до глюкози та ІР. Крім того, незмінений рівень базальної глікемії у тварин цієї групи дає можливість заключити про наявність компенсаторної гіперінсулінемії. Завдяки останній рівень базальної глікемії у тварин контрольної патології зберігається на фізіологічному рівні (табл. 4.1).

Порушення процесів утилізації глюкози у щурів КП супроводжувалося зниженням запасів глікогену у печінці в 2,1 рази, що підтверджує наявність печінкової резистентності до дії інсуліну, внаслідок чого активуються процеси глікогенолізу та глюконеогенезу (табл. 4.2). В нашому експерименті спостерігалось збільшення субстрату глюконеогенезу – піровиноградної кислоти (ПВК) у 1,7 рази. Зниження активності сукцинатдегідрогенази (СДГ) у печінці у 2,2 рази вказувало на погіршення енергозабезпечення клітин печінки за умови ВЦД.

Таблиця 4.2

Вплив Фітаргін-комбі на біохімічні показники вуглеводного обміну в печінці щурів за умов МС, індукованого ВЦД, ($M \pm m$) $n = 7$

Групи тварин	Показники		
	ПВК, ммоль/л	СДГ, ммоль/л	Глікоген, мг/100г тканини
ІК	0,155±0,006	0,219±0,03	2414,4±13,26
КП	0,261±0,03*	0,101±0,01*	1169,5±19,25*
Фітаргін-комбі	0,157±0,004**	0,222±0,01**	2628,4±24,70**/a
Арфазетин	0,178±0,005**	0,124±0,02**	1634,0±19,12*
Метформін	0,161±0,006**	0,216±0,01**	2560,7±17,30**/a

Примітки:

1. * – відмінності статистично значущі щодо ІК, $p < 0,05$;
2. ** – відмінності статистично значущі щодо КП, $p < 0,05$;
3. a – відмінності статистично значущі щодо арфазетину, $p < 0,05$.

Не менш важливою й актуальною, ніж нормалізація вуглеводного обміну, є корекція дисліпідемічних порушень, які визначають високий атерогенний потенціал МС [152].

Дисліпідемія, яка супроводжує МС має певні зміни ліпідного спектру. Основні ознаки дисліпідемії визначаються гіпертригліцеридемією, низькими рівнями холестерину ЛПВГ і трохи високими або нормальними рівнями холестерину ЛПНГ із зміненим складом. Загальновідомо, що інсулін не пригнічує

синтез часточок ЛПДНГ. ІР значною мірою пов'язана зі збільшенням синтезу ліпідів у печінці, збільшенням надходження ВЖК до печінки [107].

ВЦД призводила до достовірного підвищення рівня тригліцеридів (ТГ) в 2,5 рази, холестерину (Хс) – в 2,7 рази, вільних жирних кислот (ВЖК) – в 2,9 рази та ліпопротеїнів низької густини (ЛПНГ) майже удвічі порівняно з ІК (табл. 4.3).

Таблиця 4.3

Вплив Фітаргін-комбі на показники ліпідного обміну в сироватці крові щурів за умов МС, індукованого ВЦД, ($M \pm m$) $n = 7$

Групи тварин	Показники				
	Хс, ммоль/л	Хс-ЛПВГ, ммоль/л	ЛПНГ, г/л	ТГ, ммоль/л	ВЖК, ммоль/л
ІК	0,81±0,04	0,71±0,05	6,71±0,52	1,15±0,10	0,678±0,002
КП	2,17±0,13*	0,92±0,11	13,15±0,35*	2,93±0,25*	1,956±0,013*
Фітаргін-комбі	0,91±0,10**/m	0,64±0,03**	6,70±0,33**	1,18±0,12**	0,702±0,008**
Арфазетин	1,91±0,02*	0,69±0,07	7,74±0,36*	1,65±0,10**	1,584±0,021*
Метформін	1,68±0,17*	0,65±0,02**	6,71±0,53**	1,48±0,10**	0,813±0,029**

Примітки:

1. * – відмінності статистично значущі щодо ІК, $p < 0,05$;
2. ** – відмінності статистично значущі щодо КП, $p < 0,05$;
3. m – відмінності статистично значущі щодо метформіну, $p < 0,05$.

Вміст Хс-ЛПВГ виявляв невиразну тенденцію до підвищення. Накопичення ТГ у сироватці крові щурів з групи КП свідчить про активацію ліполізу у жировій тканині та порушення утилізації ліпідів у печінці і служить опосередкованим доказом розвитку печінкової ІР [96]. Підвищення рівня Хс та ЛПНГ поряд з незмінним рівнем Хс-ЛПВГ вказує на початковий розвиток процесів атерогенезу у щурів з МС.

ІР спричиняє зниження активності ліпопротеїнової ліпази та призводить до надмірного надходження ВЖК в кров із жирової клітковини. З іншого боку,

компенсаторна гіперінсулінемія та ІР стимулюють синтез ТГ із фруктози в печінці і знижують синтез фосфоліпідів, через що накопичуються атерогенні ЛПНГ [97].

Отже, утримання щурів на ВЦД призводило до порушення ліпідного профілю. Саме такий комплекс порушень характерний для МС та початку ЦД2 і вважається атерогенним [92,232].

ФК на тлі ВЦД чинив протекторну дію щодо порушень вуглеводного обміну та енергетичного обмінів. Під дією досліджуваного засобу відбувалося підвищення толерантності до глюкози та зниження ІР (див. рис.4.2, табл. 4.1). Зокрема, на 15-й хвилині ВЧТТГ встановлено достовірне зниження рівня глюкози крові порівняно з КП на 46,3% ($p<0,05$), причому показник мав статистично значущі відмінності щодо обох препаратів порівняння, що свідчило про виражені переваги досліджуваного засобу. У наступні часові проміжки тесту таблетки «Фітаргін-комбі» продемонстрували виражений антигіперглікемічний ефект (на 60 хв зниження глікемії на 27,3% ($p<0,05$), на рівні метформіну та перевершували дію Арфазетину (див. рис. 4.2).

Підтвердженням ефективності таблеток Фітаргін-комбі були і результати порівняльного аналізу площ під глікемічними кривими AUCglu. Значення AUCglu у групі тварин, яким вводили досліджуваний засіб були достовірно меншими за показник групи КП на 43,3 % ($p<0,001$), збору «Арфазетин» – на 23,9 % ($p<0,001$), метформіну – на 16,5 % ($p<0,001$) (див. табл. 4.1).

За здатністю відновлювати глікогенутворювальну функцію печінки Фітаргін-комбі достовірно переважав Арфазетин та діяв на рівні метформіну. За можливістю відновлювати вміст ПБК та активність СДГ у печінці Фітаргін-комбі та метформін були на однаковому рівні (див. табл. 4.2).

Введення Фітаргін-комбі протягом 8 тижнів суттєво попереджало розвиток порушень ліпідного обміну, викликаних ВЦД: у сироватці крові спостерігали достовірне зниження вмісту Хс, ВЖК, ЛПНГ та ТГ до рівня інтактних тварин (див. табл. 4.3). Вміст Хс-ЛПВГ також відповідав значенням інтактних тварин (див. табл. 4.3). Встановлена позитивна динаміка досліджуваних показників під дією комбінованого засобу, свідчить про виразну гіполіпідемічну та

гіпохолестеринемічну дію. За впливом на окремі показники ліпідного обміну Фітаргін-комбі не поступається препаратам порівняння, але переважає метформін за здатністю нормалізувати рівень Хс.

Таким чином, на моделі МС, викликаного ВЦД у щурів комбінований засіб Фітаргін-комбі виявив здатність підвищувати толерантність до вуглеводів, знижувати ІР, відновлювати ліпідний спектр. За впливом на всі досліджувані показники Фітаргін-комбі перевершував препарат порівняння – Арфазетин та окремі показники - метформін.

4.2 Вплив таблеток комбінованого складу «Фітаргін-комбі» на показники перекисного окиснення ліпідів та стан антиоксидантної системи

Як відомо, гіперглікемія викликає збільшену продукцію вільних радикалів у плазмі, особливо активних форм кисню (АФК) [174]. Продукування вільних радикалів, яке викликається неконтрольованою гіперглікемією, може відбуватися за допомогою декількох шляхів: посилення гліколізу; міжклітинної активації сорбітолового (поліолового) шляху; аутоокиснення глюкози; активації NADPH-оксидаз, що залежить від протеїнкінази С; підвищеного утворення внутрішньоклітинних продуктів кінцевої глікації; неензиматичного глікозилювання протеїнів [111]. Надлишкове накопичення вільних радикалів, яке призводить до розвитку оксидативного стресу, відбувається на тлі зниження активності АОС.

Тобто за перебігу МС порушуються механізми антиоксидативного захисту з відповідним гіпероксидативним стресом. МС індукує зміни в діяльності антиоксидантних ензимів в різних тканинах.

Враховуючи вищезазначене, метою наступного фрагменту роботи стало вивчення впливу Фітаргін-комбі на стан процесів ПОЛ/АОС у сироватці крові та печінці за умови МС, модельованого ВЦД у щурів.

Відповідно до отриманих даних у групі тварин КП спостерігали активацію процесів пероксидації ліпідів, яке характеризувалося достовірним підвищенням вмісту ТБК-реактивів в 2,3 рази на тлі зниження активності каталази у сироватці

крові щурів з МС у 1,4 рази (табл. 4.4).

Таблиця 4.4

Вплив Фітаргін-комбі на показники ПОЛ/АОС у сироватці крові щурів з МС, індукованим ВІД, ($M \pm m$) $n = 7$

Групи тварин	Показники	
	ТБК-Р, мкмоль/л	Каталаза, ммкат/л
ІК	0,60 $\pm$ 0,04	70,08 $\pm$ 2,28
КП	1,38 $\pm$ 0,11*	51,12 $\pm$ 2,04
Фітаргін-комбі	0,53 $\pm$ 0,04**/a	74,65 $\pm$ 1,18**
Арфазетин	0,90 $\pm$ 0,06**	68,82 $\pm$ 4,32
Метформін	0,63 $\pm$ 0,03**	70,46 $\pm$ 4,18

Примітки:

1. * – відмінності статистично значущі щодо ІК, $p < 0,05$;
2. ** – відмінності статистично значущі щодо КП, $p < 0,05$;
3. a – відмінності статистично значущі щодо арфазетину, $p < 0,05$.

Більш виразний дисбаланс у системі ПОЛ/АОС спостерігався у печінці, де відбувалося достовірне збільшення вмісту ТБК-Р в 2,6 рази та ДК 2 рази та виснаження захисних механізмів АОС організму тварин. Про це свідчило вірогідне зниження в 2,7 рази GSH, в 2,5 рази СОД та каталази в 2,2 рази, що пояснюється великим навантаженням на печінку через надмірне надходження вуглеводів (табл. 4.5).

Застосування ФК сприяло нормалізації балансу у системі ПОЛ/АОС: динаміка всіх досліджуваних показників як у сироватці крові так і у печінці прямувала до значень інтактного контролю. ФК достовірно відновлював рівень маркера антиоксидантного захисту – GSH в гомогенатах печінки, що можна вважати проявом ефективної антиоксидантної активності.

Таблиця 4.5

Вплив Фітаргін-комбі на показники ПОЛ/АОС у печінці щурів з МС,

індукованим ВЦД ($M \pm m$, $n = 7$)

Групи тварин	Показники				
	ТБК-Р, нмоль/ мг білка	ДК, нмоль/мг білка	GSH, нмоль/мг тканини	КАТ, μмоль/мг білка	СОД, ОД/мг білка
ІК	119,67±5,73	90,2±6,3	85,3±3,2	2,91±0,06	91,5±1,5
КП	313,28±3,91*	181,9±5,6*	31,2±3,4*	1,30±0,09*	37,1±0,9*
Фітаргін-комбі	126,14±3,20 ^{**/a}	90,8±4,5 ^{**/a}	89,4±2,5 ^{**/a}	2,68±0,08 ^{**/a}	87,0±0,7 ^{**}
Арфазетин	235,13±3,76 ^{**}	127,3±7,6*	46,7±2,1*	1,95±0,09*	65,9±1,9 ^{**}
Метформін	171,18±4,68 ^{**}	94,9±4,2 ^{**}	74,7±1,3 ^{**/a}	2,04±0,07*	76,1±1,9 ^{**}

Примітки:

1. * – відмінності статистично значущі щодо ІК;
2. ** – відмінності статистично значущі щодо КП;
3. a – відмінності статистично значущі щодо арфазетину, $p < 0,05$.

За даними табл. 4.4, достовірне відновлення активності каталази в сироватці крові спостерігалось винятково в групі, яка отримувала ФК. Слід підкреслити, що цей комбінований препарат продемонстрував більш виражені антиоксидантні властивості порівняно з Арфазетином і метформіном. Це свідчить про синергетичний ефект його фармакологічної дії, зумовлений наявністю у складі арбутину, ХГК та таурину - сполук із вираженою антиоксидантною активністю, а також аргініну та гліцину, які сприяють зниженню постпрандіальної гіперглікемії та корекції ендотеліальної дисфункції. Ефективність застосування ФК, встановлена за результатами біохімічних досліджень гомеостазу у тварин, була додатково підтверджена морфологічними аналізами тканин підшлункової залози та печінки.

4.3 Патоморфологічне дослідження підшлункової залози та печінки щурів за умови метаболічного синдрому

У інтактних щурів на мікропрепаратах видна залозиста тканина, що

складалася з помірних за розміром часточок та системи міжчасточкових та внутрішньочасточкових вивідних протоків; артерій та вен різних калібрів. Сполучнотканинні перетинки між часточками виражені помірно. У часточках видно чіткий розподіл тканини на екзо- та ендокринну складові. Ендокринна складова залози подана ПО, більшість яких чітко відмежована від оточуючої екзокринної паренхіми, мала округлу чи овальну форму. Основну масу клітин у острівцях складали β -клітини, які доволі щільно та рівномірно розподілені у центральній частині. Між тяжами клітин у ряді острівців видні поширені синусоїдальні капіляри. При фарбуванні альдегід-фуксином цитоплазма β -клітин рівномірно пофарбована у синьо-фіолетовий колір, що свідчить про нормальний рівень функціональної активності їх. По периферії острівців ланцюжком розташовані α -клітини (рис. 4.3).

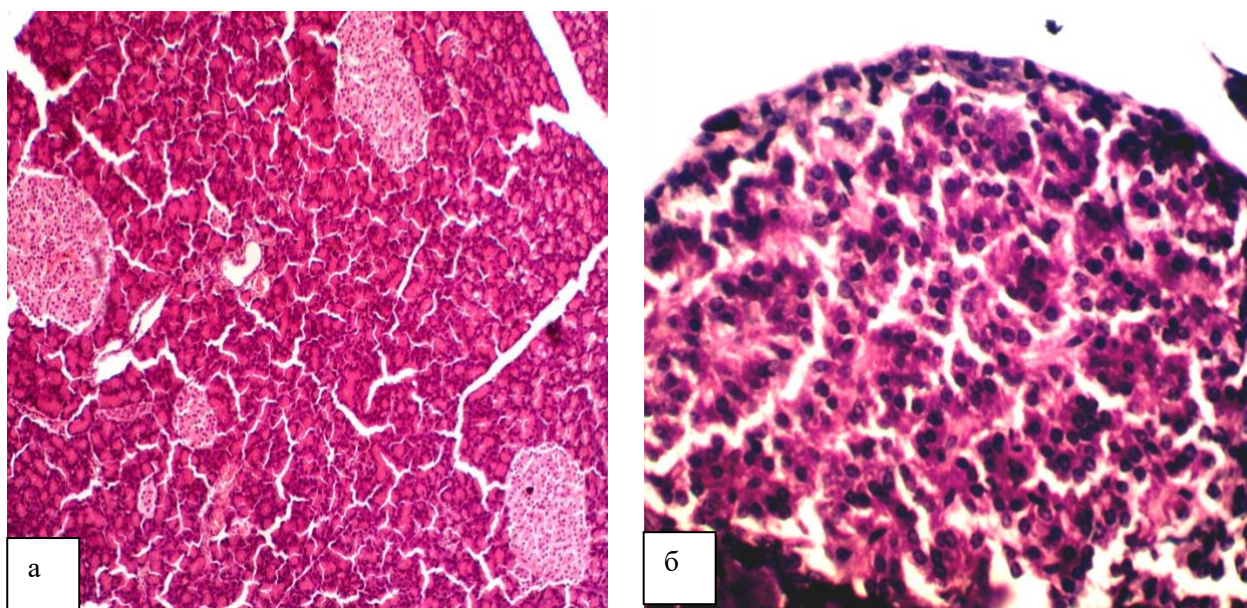


Рис. 4.3. Підшлункова залоза інтактного щура: а - різні за розміром панкреатичні острівці серед щільно розташованих ацинусів рівномірно заповнені бета-клітинами (гематоксилін-еозин. x200); б – інтенсивне фіолетове фарбування β -клітин (альдегід-фуксин по Гоморі, x250).

Оптична щільність ПО була на рівні 23,6 одиниць. Основна маса острівців містила 21-60 β -клітин, це середні острівці. Частка їх складала 55,1%. На долю дрібних острівців, що містили до 20 бета-клітин, приходилося 29,66%, а великих

(>60 β -клітин) – 15,2%. Виразність альдегід-фуксинофільного фарбування β -клітин становила 3,4 бала (табл. 4.6).

Таблиця 4.6

**Вплив Фітаргін-комбі на стан інкреторного апарату щурів за умов МС,
індукованого ВЦД у щурів (Me (Q25; Q75))**

Група тварин	Оптична щільність ПО (кількість у мікропрепараті)	Розмір ПО (за чисельністю β -клітин)			Виразність альдегід-фуксинофільної забарвленості β -клітин ПО (бали)
		Дрібні (до 20), %	Середні (21-60), %	Великі (>60), %	
ІК	23,7 $\pm$ 0,42 [22; 25] 100 %	7,0 $\pm$ 0,26 [6; 8] 29,67 %	13,0 $\pm$ 0,26 [12; 14] 55,1 %	3,7 $\pm$ 0,67 [2; 6] 15,2 %	3,3 $\pm$ 0,21 [3; 4]
КП	23,3 $\pm$ 0,49 [22; 25] 100 %	10,2 $\pm$ 0,48* [9; 12] 44 %	7,0 $\pm$ 0,26* [6; 8] 30,2 %	6,0 $\pm$ 0,26** [6; 7] 25,8 %	2,3 $\pm$ 0,21** [2; 3]
Фітаргін-комбі	22,5 $\pm$ 0,43 [21; 24] 100 %	7,2 $\pm$ 0,17 ^a [7; 8] 32,14 %	12,0 $\pm$ 0,26 ^{#/aa} [11; 13] 53,57 %	3,3 $\pm$ 0,21 ^{aa} [3; 4] 15,17 %	3,0 $\pm$ 0,26 [2; 4]
Арфазетин	22,2 $\pm$ 0,54 [20; 24] 100 %	7,8 $\pm$ 0,17 [#] [7; 8] 35,1 %	9,2 $\pm$ 0,17 ^{# #} [9; 10] 41,44 %	5,2 $\pm$ 0,31 [4; 6] 23,42 %	2,5 $\pm$ 0,22 [2; 3]
Метформін	23,0 $\pm$ 0,58 [21; 25] 100 %	7,2 $\pm$ 0,31 ^a [6; 8] 31,3 %	12,5 $\pm$ 0,43 ^{aa} [11; 14] 54,35 %	3,2 $\pm$ 0,54 ^{aaa} [1; 5] 13,91 %	2,8 $\pm$ 0,31 [2; 4]

Примітки:

1. * $p < 0,001$, ** $p < 0,01$ – відмінності статистично значущі щодо ІК;
2. [#] $p < 0,05$, ^{##} $p < 0,001$ – відмінності статистично значущі щодо КП;
3. ^a $p < 0,05$, ^{aa} $p < 0,001$, ^{aaa} $p < 0,01$ – відмінності статистично значущі щодо арфазетину, $p < 0,05$.

Екзокринну паренхіму залози складали кінцеві секреторні відділи залоз – ацинуси з високою щільністю розташування. Ацинуси склалися з одного шару залозистих клітин, для яких характерно розподіл на дві по різному профарбовані зони: базальну базофільну зону, де містилося округле, щільне ядро, та

еозинофільну центральну зону, що містила дрібні зерна зимогену. Співвідношення зон коливалося у межах 1:1,5 – 1:2,5. Просвіт ацинусів невеликий. Епітелій більшості протоків звичайний, у поодиноких – у стані помірної проліферації. В залежності від калібру вивідного протока (в основному міжчасточкового) різна виразність і перидуктальної строми, іноді в ній виявлені поодинокі дрібні лімфогістіоцитарні скупчення. Просвіт протоків часто поширено, де-не де видно грудки згущеного еозинофільного секрету. Стан артерій та вен звичайний, частина з них повнокровна.

Гістологічна будова печінки щурів групи інтактного контролю відповідала нормі. Часточковий малюнок тканини не виразний. Печінкові часточки склалися з тяжів гепатоцитів, які мали доволі чітку радіальну спрямованість. Межі часточок визначали за триадами. Зони триад вузькі.

Стан епітелію кровоносних судин у триадах та у других судин у межах норми. Внутрішньочасточкові синусоїдальні гемокапіляри помірно розширені, містили помірну кількість лімфоїдних клітин. Клітини Купфера (зоряні ретикулоендотеліоцити) звичайні. Гепатоцити мали характерну форму та розмір, цитоплазма рівномірно профарбована, оптично щільна, не містила включень, які б були видні при світловій мікроскопії. Ядра гепатоцитів нормохромні, центрально розташовані, містили 1, іноді 2 ядерця. Пул двоядерних клітин достатній. ІШК-реакція показала, що цитоплазма гепатоцитів рівномірно та щільно заповнена дрібними гранулами глікогену, фарбування суданом не виявило накопичення жиру у клітинах (рис. 4.4).

Двомісячне утримання щурів на ВЦД не викликало помітних змін у об'ємній щільності острівців, але візуально помітно побільшало дрібних острівців, зменшилося середніх ПО. На тлі на погляд незмінених острівців виявлені острівці з «розрідженням» у розташуванні β -клітин різного ступеня виразності.

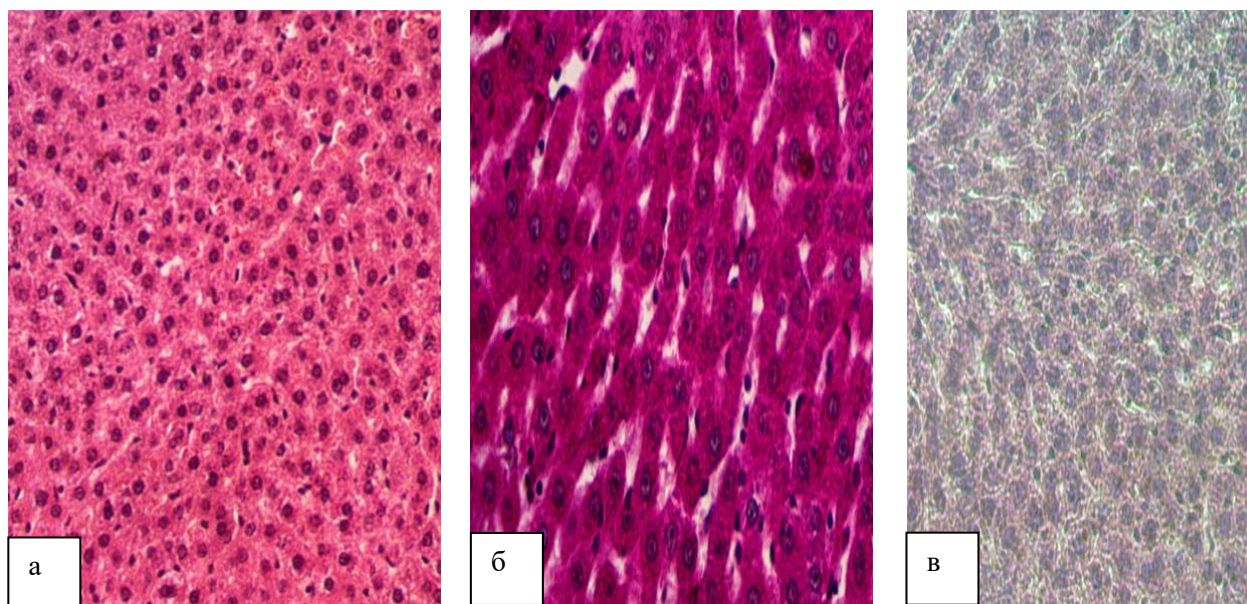


Рис. 4.4. Печінка інтактного щура: а - нормальна морфологічна будова тканини (гематоксилін-еозин. x200); б - рівномірне заповнення цитоплазми гепатоцитів гранулами глікогену (ШІК-реакція за Мак Манусом, x250); в – відсутність накопичення жиру у клітинах (заморожений зріз, судан IV. x250).

Серед зорово нормальних β -клітин видно клітини з гіпертрофією ядер та з нечіткими блідими ядрами (можливо на якійсь стадії лізису); простежена вакуолізація β -клітин. Звертає на себе увагу поява великих «розгалужених» островків, які немов би «розтікалися» у ширину або довжину. Між собою такі «розгалужені» сегменти острівця розділялися дуже скудними прошарками сполучної тканини або одним шаром ацинусів (рис. 4.5).

Морфометричний аналіз довів, що оптична щільність ПО була на рівні інтактного контролю (23,2 одиниці), втім відбулися зміни у відсотковому розподілі острівців за вмістом β -клітин. Частка дрібних острівців збільшилася у 1,48 раза. При цьому, простежено появу дуже дрібних острівців, що містили всього 2-4 β -клітини. Частка середніх острівців зменшилася у 1,8 раза, великих – у 1,6 раза. Інтенсивність фарбування альдегід-фуксином β -клітин у острівцях оцінювалася у 2,2 бала (рис. 4.6, табл. 4.6). Змін у стані екзокринної паренхіми не відмічено.

У печінці щурів, яких утримували на ВЦД, цитоплазма багатьох гепатоцитів ставала оптично пустою, не фарбувалася або дуже слабо фарбувалася еозином.

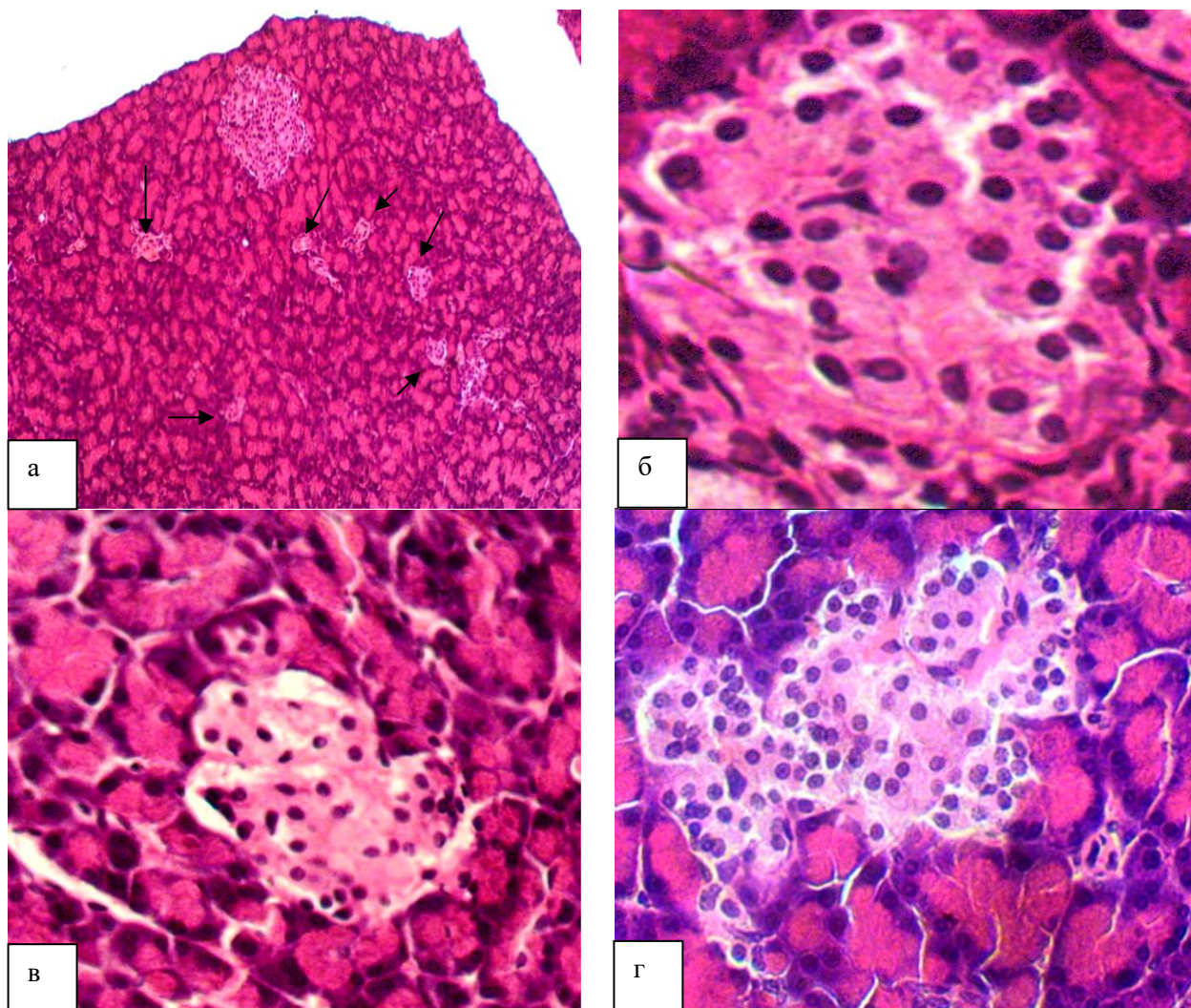


Рис. 4.5. Підшлункова залоза щура після двомісячного утримання на ВЦД: а – виразне збільшення дрібних острівців (x100); б – гіпертрофія, пікноз частини ядер β -клітин (x400); в - спустошення, вакуолізація β -клітин (x250); б – нерівномірне розташування β -клітин у острівці, нетипова форма острівця (x250). Гематоксилін-еозин.

Локалізація таких гепатоцитів та виразність ознаки у різних щурів варіювала. У одних зміни зачіпали гепатоцити переважно перипортальних зон, у інших зміни були більш дифузні або, навпаки, вогнищеві.

У всіх таких зонах радіальна спрямованість тяжів клітин не простежувалася, клітинні межі були нечіткі. При постановці ШІК-реакції простежено значне зменшення насиченості глікогеном таких клітин або відсутність його. Фарбування суданом IV виявило наявність дрібних крапель жиру у цитоплазмі багатьох клітин (рис. 4.7).

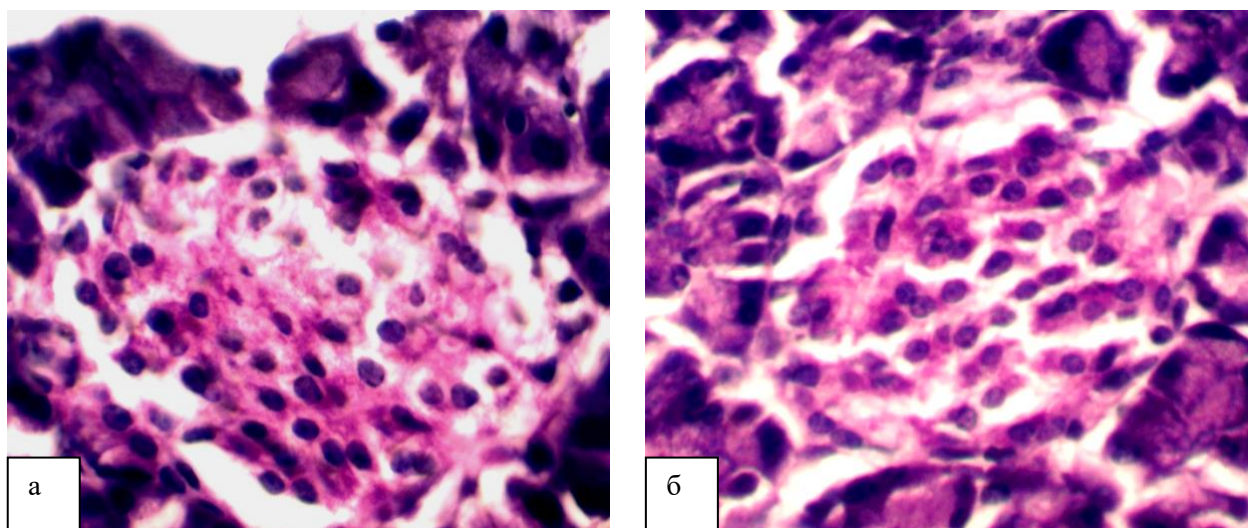


Рис. 4.6. Підшлункова залоза щура після двомісячного утримання на ВЦД. Нерівномірність забарвленості цитоплазми β -клітин острівців (а-б). Альдегід-фуксин по Гоморі-гематоксилін, $\times 400$.

Одночасне двомісячне споживання 30% розчину цукрози з введенням Фітаргін-комбі позитивно вплинуло на морфологічний стан інсулярного апарату щурів. По-перше, візуалізувалося значно менше дрібних ПО (рис. 4.8).

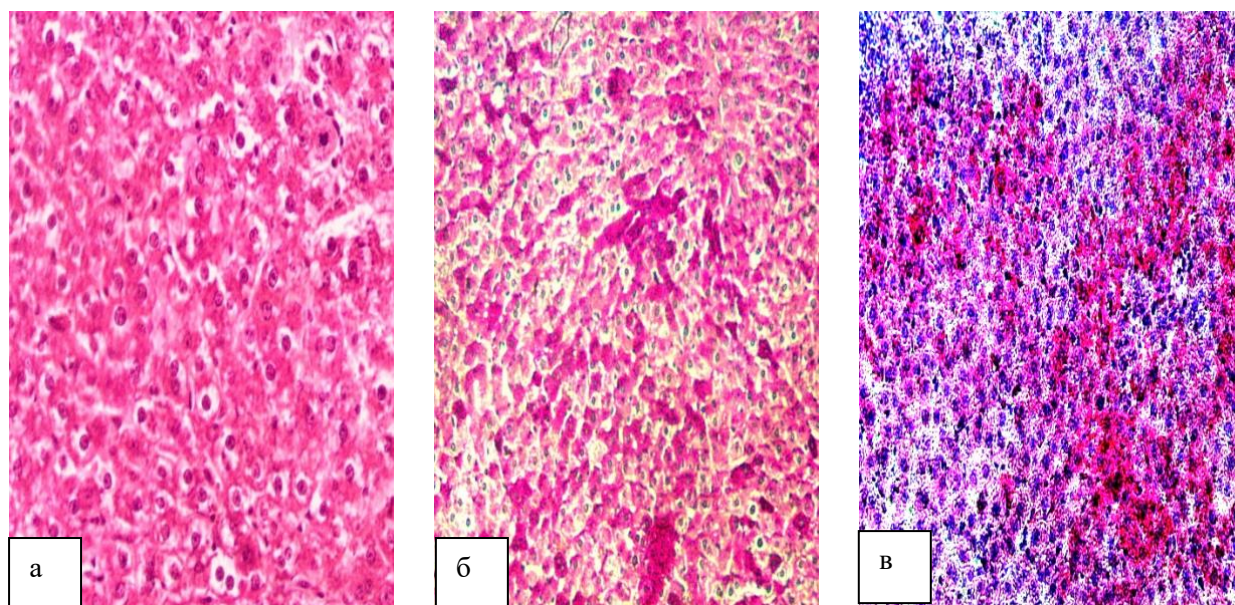


Рис. 4.7. Печінка щура після двомісячного утримання на ВЦД: а – гепатоцити з оптично пустою цитоплазмою, нечіткість балкового рисунку (гематоксилін-еозин. $\times 250$); б - зменшення вмісту глікогену у гепатоцитах (ШК-реакція за Мак Манусом. $\times 200$); в – накопичення жиру у цитоплазмі гепатоцитів. (заморожений зріз, судан IV. $\times 200$).

Фарбування альдегід-фуксином показало насиченість цитоплазми більшості β -клітин у ПО специфічним синьо-фіолетовим кольором, що свідчило про достатню наявність гранул інсуліну (рис. 4.8). Змін у стані екзокринної паренхіми залозистої тканини не помічено.

Як показала морфометрія, об'ємна щільність ПО не змінилася і була на рівні 22,4 одиниць. Чисельність дрібних острівців зменшилася відносно контрольної патології у 1,37 рази, при цьому значно менше стало дуже дрібних острівців (до 4 β -клітин). Наявність середніх острівців ставала у 1,77 рази більше. Частка великих острівців зменшилася у 1,7 раза. Інтенсивність альдегід-фуксинофільної пофарбованості β -клітин становила 3 бала (табл. 4.6).

У печінці щурів після лікувально-профілактичного введення Фітаргін-комбі загальна гістоархітектоніка паренхіми не змінена. У більшості тварин спостерігали дуже дрібну вакуолізацію окремих груп гепатоцитів, що, в цілому, майже не впливало на загальну картину накопичення глікогену. Вміст нейтральних жирів у цитоплазмі більшості клітин мінімальний.

У деяких - простежені помірні за розміром осередки гепатоцитів з оптично пустою цитоплазмою, яка слабо фарбувалася еозином (локалізація таких осередків в основному перипортально). ШІК-реакція показала значне зменшення насиченості глікогеном таких клітин, а фарбування суданом IV виявило наявність жиру у їх цитоплазмі (рис. 4.9).

Після двомісячного утримання щурів на ВЦД паралельно з введенням збору «Арфазетин» простежена доволі помітна розбіжність у стані ПО: різного виду спустошеність, нерівномірність у розташуванні, вакуолізація цитоплазми та дегенеративні зміни β -клітин в одних, морфологічна повноцінність інших. За виразністю альдегід-фуксинофільної пофарбованості коливався і вміст специфічних гранул інсуліну у β -клітинах (рис. 4.10).

За даними морфометрії у тварин, яким вводили на тлі цукрози збір «Арфазетин», у 1,25 рази зменшилася частка дрібних острівців, у 1,37 рази збільшилася частка середніх острівців.

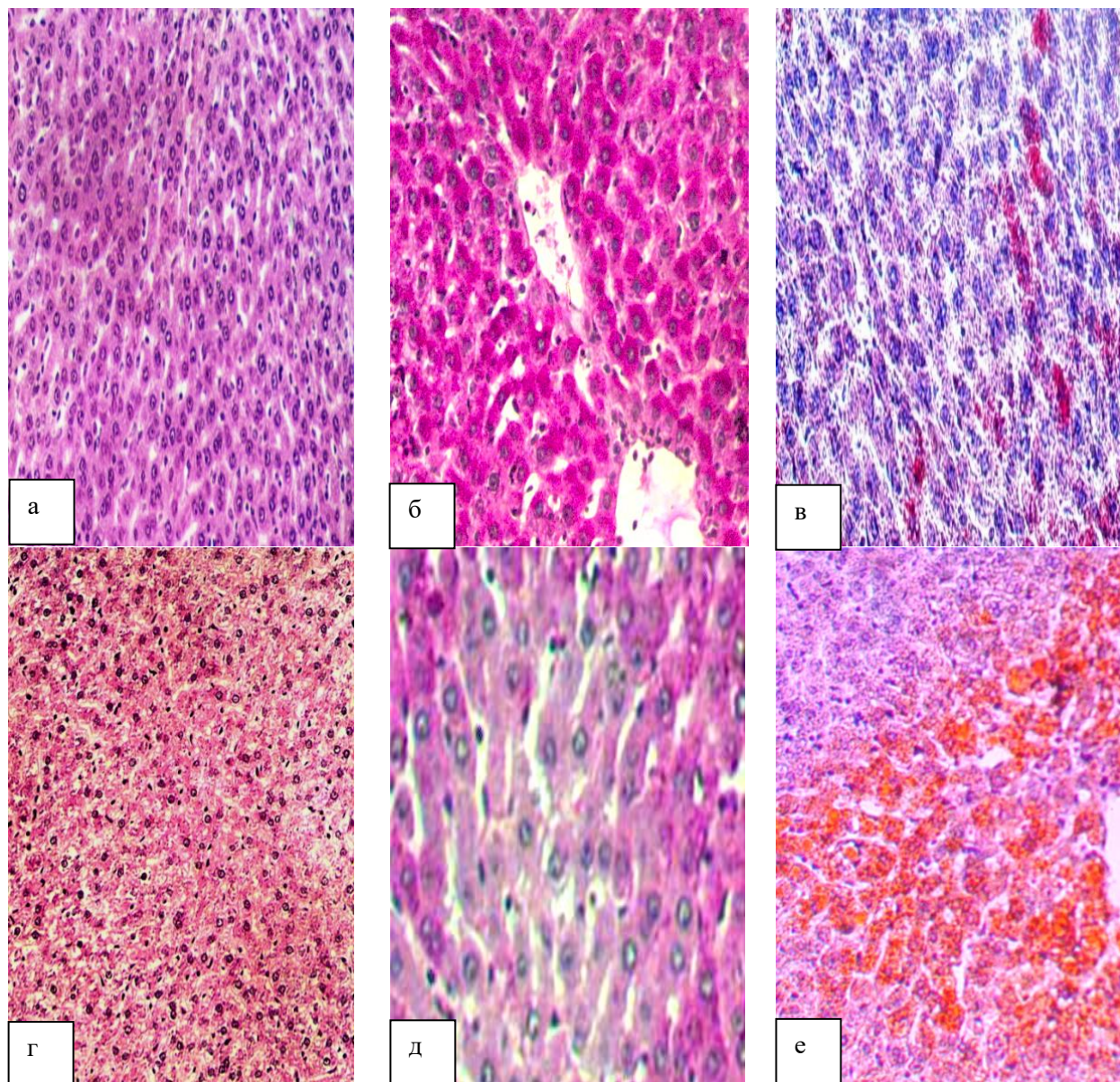


Рис. 4.9. Печінка щура після одночасного двомісячного утримання на ВЦД та отримання Фітаргін-комбі: а – дрібна вакуолізацію окремих груп гепатоцитів; б – відновлення накопичення глікогену; в – відсутність жирових крапель у гепатоцитах; г – гепатоцити з оптично пустою цитоплазмою; д – виразне зниження вмісту глікогену; е – жир у цитоплазмі гепатоцитів перипортальних зон. а, г – гематоксилін-еозин; б, д – ШПК-реакція за Мак-Манусом; в, е – заморожений зріз, судан IV. а,б,г,д, – х250, в,е – х200.

Оптична щільність ПО при цьому залишалася достатньою – 22,2 одиниці у мікропрепараті. Інтенсивність альдегід-фуксинофільного забарвлення інсуліноцитів оцінювалася у 2,6 бали (табл. 4.6).

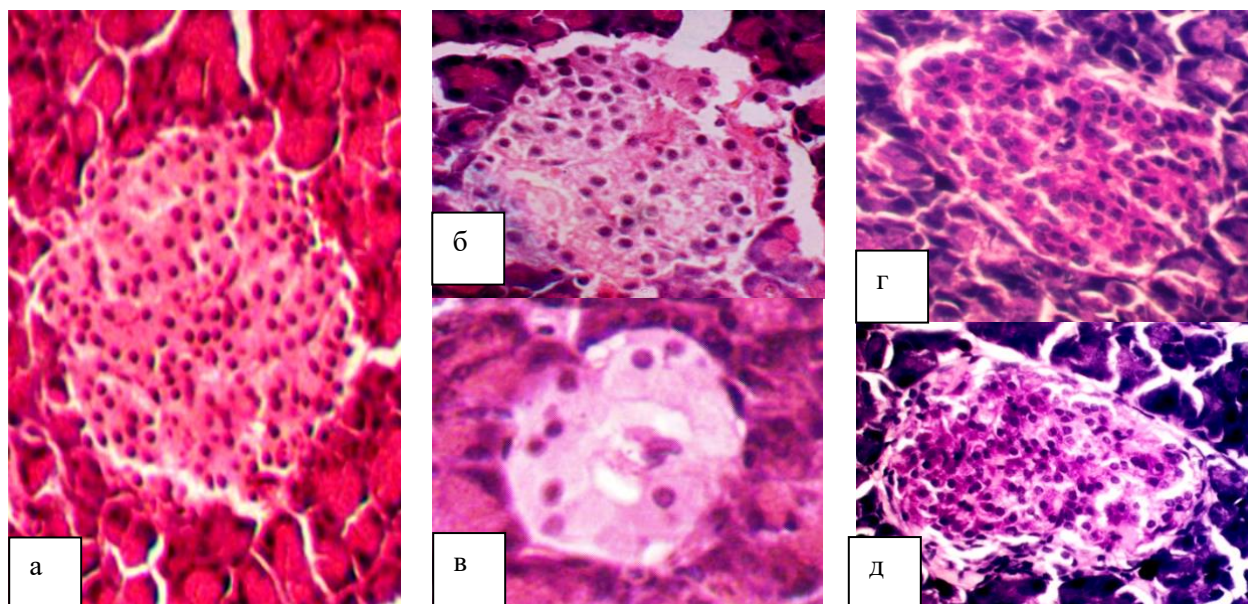


Рис. 4.10. Підшлункова залоза щура після одночасного двомісячного утримання на ВІД та отримання збору «Арфазетин»: а – незмінений острівець (x200); б – гніздове спустошення, вакуолізація β -клітин (x250); в – тотальне спустошення острівця (x400); г - відновлення інтенсивності специфічного фарбування альдегід-фуксином інсуліноцитів (x250); д – нерівномірне фарбування альдегід-фуксином β -клітин (x200). а-в – гематоксилін-еозин, г-д - альдегід-фуксин по Гоморі-гематоксилін.

У печінці всіх щурів цієї групи вакуольна дистрофія гепатоцитів мала осередкований характер (від помірного розміру до великих). В таких осередках у гепатоцитах знижено було вміст глікогену, накопичувався жир (рис. 4.11).

Після одночасного двомісячного утримання на ВІД та отримання метформіну морфологічний стан ПО у різних щурів у межах групи дещо варіював. Більша частина острівців за всіма параметрами у всіх тварин відповідала фізіологічній нормі. Однак, ще спостерігалися острівці, з різного ступеню спустошеності, хаотичним розташуванням та вакуолізацію цитоплазми бета-клітин, «нетиповою» формою. Інтенсивність фарбування альдегід-фуксином цитоплазми інсуліноцитів коливалася в залежності від морфологічного стану острівця (рис. 4.12). Змін з боку екзокринної частини залозистої тканини не помічено.

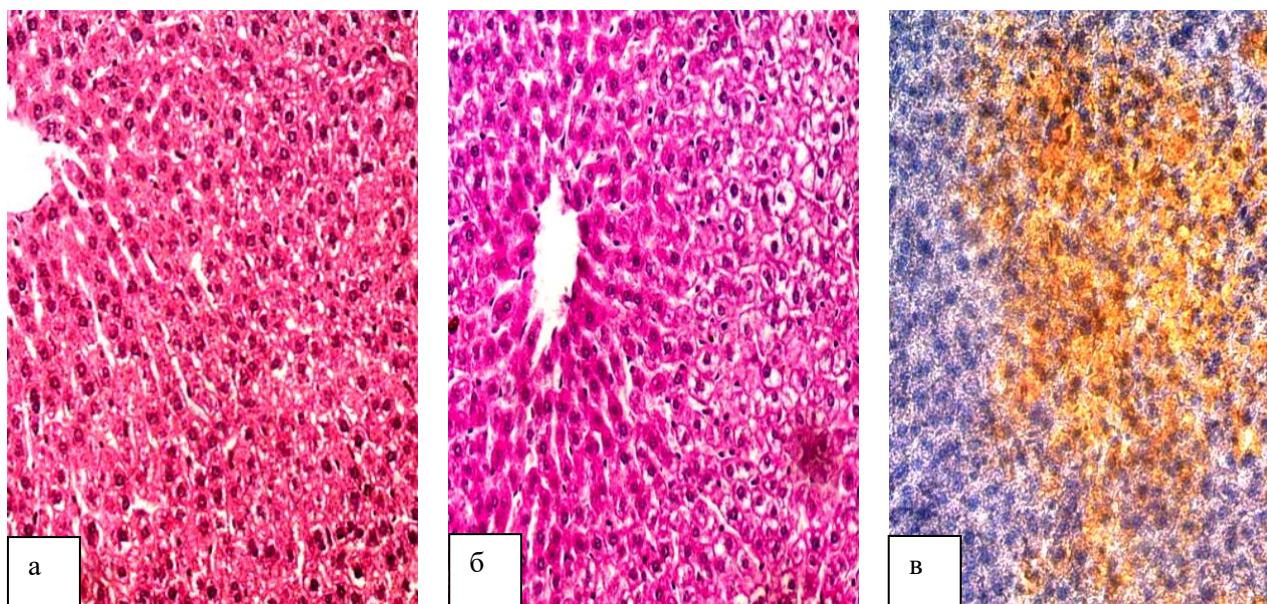


Рис. 4.11. Печінка щура після одночасного двомісячного утримання на ВЦД та отримання збору «Арфазетин»: а – осередкована дистрофія гепатоцитів (гематоксилін-еозин); б – ділянки зниження вмісту глікогену (ШК-реакція за Ман-Манусом); в – накопичення жиру у гепатоцитах (заморожений зріз, судан IV). x250.

Проведене морфометричне дослідження показало, що при оптичній щільності ПО у 23 одиниці, частка дрібних острівців ставала меншою у 1,4 рази, середніх - збільшувалася у 1,8 раза, великих ставала менше у 1,85 рази. Рівень інтенсивності альдегід-фуксинофільного забарвлення бета-клітин становив 2,8 бали (табл. 4.6).

Вплив метформіну на стан печінки щурів був не таким показовим, як на підшлункову залозу. У більшості щурів видні були різні за розміром ділянки печінкової паренхіми з оптично пустою цитоплазмою клітин, збіднені на глікоген та насичені жиром. Насиченість глікогеном гепатоцитів поза ділянок з оптично пустими клітинами варіювала – зони з нормальним накопиченням його чергувалися з зонами з збідненим вмістом цього вуглеводу (рис. 4.13).

Отже, отримані мікроскопічні результати свідчать, що тривале надходження надлишку вуглеводів в організм щурів призводило до виникнення у них морфологічних ознак пригніченості інсулярного апарату. Це проявлялося в спустошеності острівців, дистрофічно-деструктивних змінах у β -клітинах –

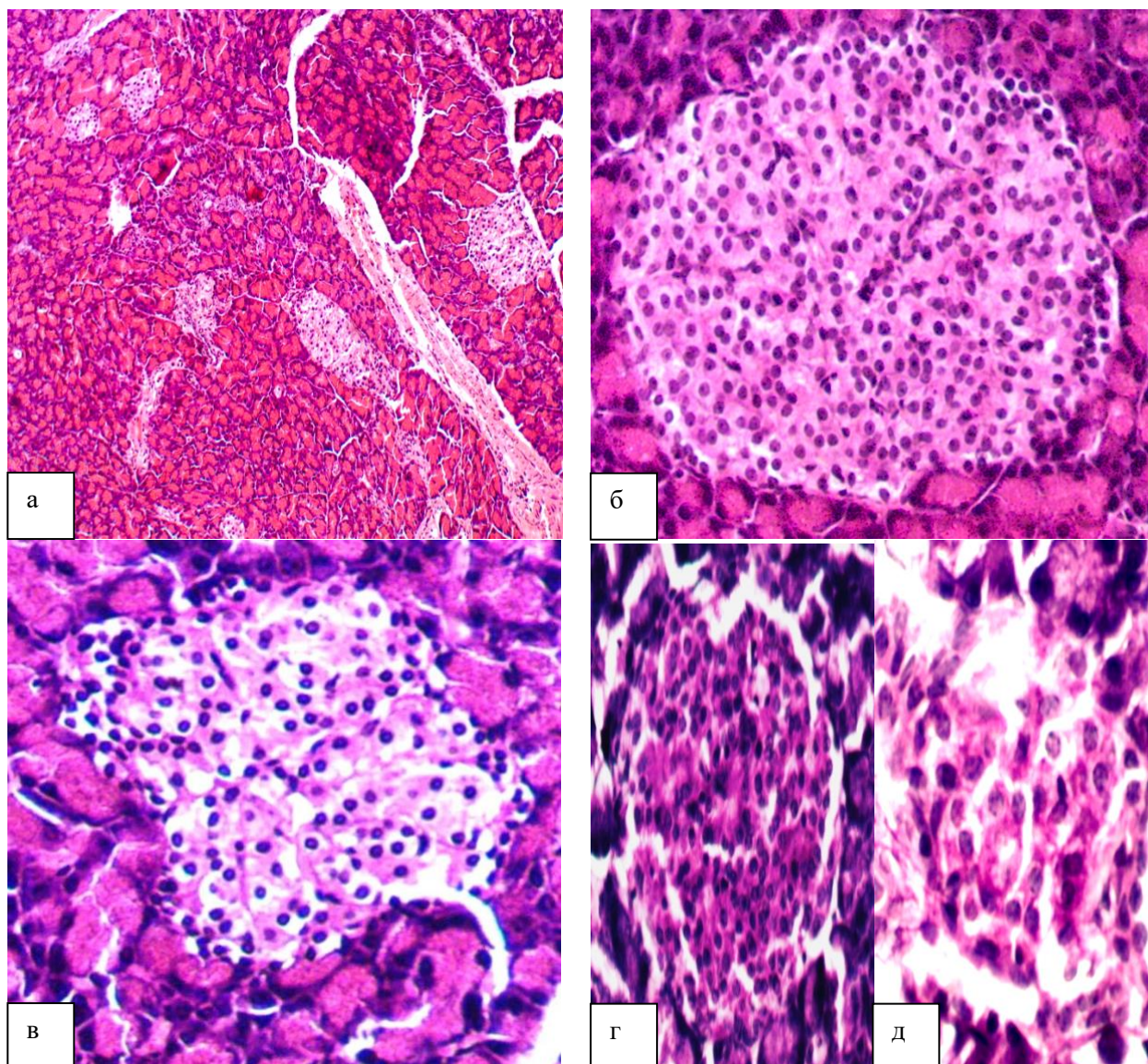


Рис. 4.12. Підшлункова залоза щура після одночасного двомісячного утримання на ВЦД та отримання метформіну: а – збільшення середніх островців (x100); б - острівцев без змін (x200); в – вакуолізація, спустошення β -клітин (x250); г – насичене специфічне альдегід-фуксинофільне забарвлення цитоплазми інсуліноцитів (x250); д - збіднення специфічного альдегід-фуксинофільного забарвлення цитоплазми інсуліноцитів (x400). а-в – гематоксилін-еозин, г-д - альдегід-фуксин по Гоморі-гематоксилін.

вакуолізація, лізис, пікноз ядер, зниженні гранул інсуліну в цитоплазмі клітин. Поруч з ознаками пригніченості інсулярного апарату спостерігали прояви компенсаторно-адаптивних змін його - гіпертрофію ядер частини β -клітин, збільшення частки маленьких островців, появу «розгалужених» великих островців

(що, на наш погляд, є намаганням органу якось підвищити/відновити знижену у результаті пригніченості сумарну кількість «працюючих» β -клітин).

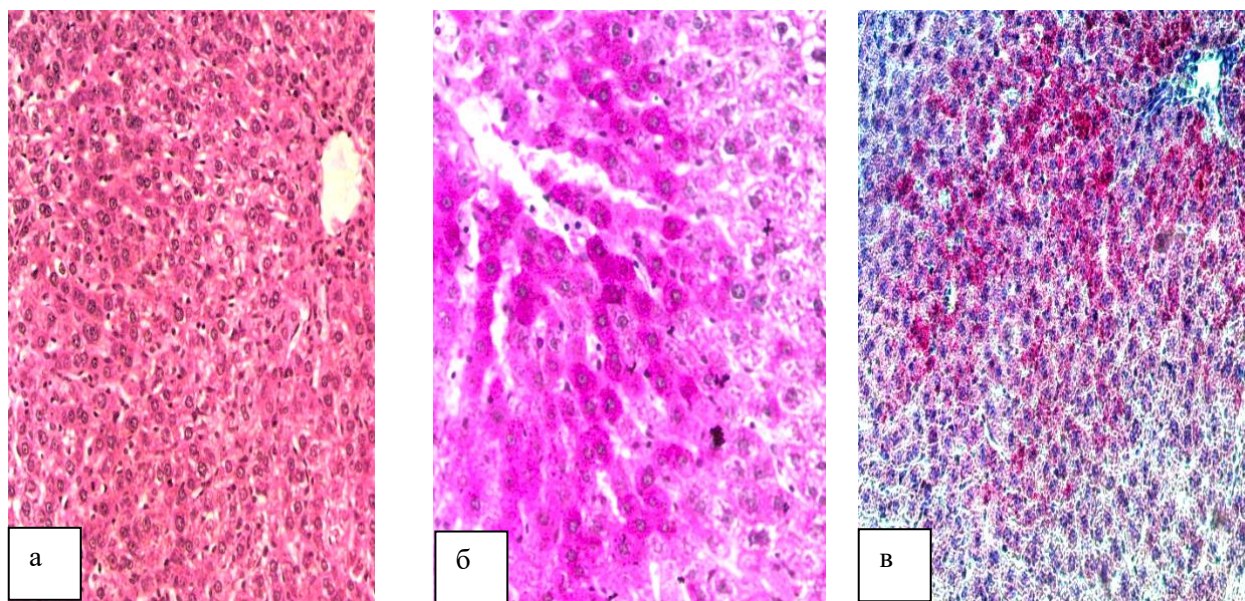


Рис. 4.13. Печінка щура після одночасного двомісячного утримання на ВЦД та отримання метформіну: а – гепатоцити з оптично пустою цитоплазмою (гематоксилін-еозин, x200); б – відсутність глікогену у частині клітин (ШІК-реакція за Мак Манусом, x250); в – жир у цитоплазмі клітин (заморожений зріз, судан IV, x200).

За даними літератури [57] подібна мікроскопічна картина відображає розвиток так званого «діабетогенного» стану – МС, який з часом призводить до розвитку ЦД2 та супутніх йому ускладнень.

У печінці надмірне надходження вуглеводів призводило до пригнічення глікогенутворюючої функції (виснаження запасів глікогену у гепатоцитах) та розвитку стеатогепатозу (накопиченню жиру у клітинах печінкової паренхіми).

Фітаргін-комбі чинить протекторну дію щодо панкреатичних β -клітин, покращуючи їх морфологічний стан, запобігаючи дистрофічним та некробіотичним змінам. Доказом цього є підвищення відсоткового вмісту середніх (21-60 β -клітин) та зниження малих (5-20 β -клітин) острівців (у тому числі і дуже дрібних (до 4 β -клітин), зменшення великих «розгалужених» острівців.

Фітаргін-комбі запобігав виснаженню запасів глікогену, накопиченню жирів

у печінці щурів.

За виразністю протекторного впливу на інсулярний апарат ПЗ щурів Фітаргін-комбі дещо перевищував референс-препарат збір Арфазетин та практично не поступався референс-препарату метформіну, а за ступенем відновлення порушених метаболічних змін у печінці перевищував обидва.

Висновки до розділу 4

1. На моделі метаболічного синдрому встановлено, що Фітаргін-комбі підвищував толерантність до глюкози в 1,8 рази та синтез глікогену в печінці в 2,2 рази, знижував інсулінорезистентність в 2,9 рази, покращував процеси енергозабезпечення клітин печінки, підвищуючи активність сукцинатдегідрогенази в 2,2 рази та пригнічував гліоконеогенез, зменшуючи рівень піровиноградної кислоти в 1,7 рази відносно показників групи контролю, перевершуючи за активністю збір Арфазетин та не поступаючись метформіну.

2. Встановлені антиатерогенні властивості Фітаргін-комбі, які проявлялись зниженням вмісту холестерину в 2,4 рази, вільних жирних кислот - 2,8 рази, ліпопротеїдів низької нустини - 2 рази, тригліцеридів - 2,5 рази у порівнянні з групою КП. Фітаргін-комбі достовірно знижував вміст у гомогенатах печінки ТБК-реактантів в 2,5 рази, ДК в 2 рази перевершуючи обидва препарати порівняння та відновлював стан антиоксидантної системи за рахунок підвищення рівня відновленого глутатіону, каталази та супероксиддисмутази в 2,9, 2,1 та 2,3 рази відповідно у гомогенатах печінки ($p < 0,05$).

3. Фітаргін-комбі чинить протекторну дію щодо панкреатичних β -клітин, покращуючи їх морфологічний стан, запобігаючи дистрофічним і некробіотичним змінам.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

Mariia Anisimova, Nadiia Kononenko, Valentyna Chikitkina. Effect of a new phytocomposition based on polyphenolic extract from cranberry leaves and amino acids on the state of the pancreas in metabolic syndrome. *Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science»*. 2024. №6 (52). P. 47-59. DOI: 10.15587/2519-4852.2024.318509. **(Scopus)** (Особисто здобувачем виконано експериментальне дослідження, проведено статистичну обробку результатів, узагальнені результати, підготовлено статтю до друку). (Особистий внесок – брав участь в патентному пошуку та проведенні експерименту).

РОЗДІЛ 5

ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИДІАБЕТИЧНОЇ ДІЇ ТАБЛЕТОК КОМБІНОВАНОГО СКЛАДУ «ФІТАРГІН-КОМБІ»

Як уже зазначалося раніше, основним механізмом розвитку ЦД2 вважається ІР, яка проявляється зниженням біологічної відповіді клітин на один або кілька ефектів інсуліну, навіть при його нормальному або підвищеному рівні в крові. Здорові β -клітини підшлункової залози (ПЗ) здатні компенсувати зменшену чутливість тканин до інсуліну шляхом підвищення його секреції, тим самим запобігаючи розвитку гіперглікемії натще. Проте на етапі переддіабету та при ЦД2 швидкість надходження глюкози в кров перевищує її утилізацію тканинами.

Існують різні підходи до оцінки ролі β -клітинної функції та інсулінорезистентності в патогенезі ЦД2. Водночас, згідно з сучасними уявленнями, розвиток ЦД2 пов'язаний із поступовим порушенням функціональної активності β -клітин у контексті тривалої ІР. Провідна роль дисфункції β -клітин у розвитку ЦД2, незалежно від застосовуваної терапії, була підтверджена низкою клінічних досліджень [149].

Оскільки сучасні методи лікування ЦД2 не завжди ефективно захищають β -клітини від функціонального виснаження, що зрештою призводить до втрати глікемічного контролю та розвитку ускладнень, особливої актуальності набуває пошук нових лікарських засобів, здатних зберегти ендокринну функцію підшлункової залози.

Крім того, гіперглікемія, що супроводжується аутоокисленням глюкози, індукує оксидативний стрес, що веде до пошкодження фосфоліпідів плазматичних мембран тканин-мішеней та β -клітин острівців Лангерганса. Тому наявність антиоксидантних властивостей у потенційних антидіабетичних засобів є патогенетично обґрунтованою.

В цьому розділі наведені результати впливу досліджуваних комбінованих таблеток «Фітаргін-комбі» на показники вуглеводного, ліпідного обмінів, процеси неферментативного глікозилювання, показники перекисного окиснення ліпідів,

стан антиоксидантної системи, ендотеліальної дисфункції, морфофункціональний стан ПЗ та печінки моделі стрептозотоцин-нікотинамід-індукованого на тлі ВЖД ЦД2, а також дослідження антидіабетичних властивостей таблеток комбінованого складу на моделі дексаметазон-індукованого ЦД2.

5.1 Вивчення антидіабетичних властивостей таблеток комбінованого складу «Фітаргін-комбі» на моделі дексаметазон-індукованого ЦД2

Відтворюваність індукованого глюкокортикоїдами ЦД2 була продемонстрована не лише в експериментах на тваринах, але й експериментах *in vitro* з використанням ізолюваних або культивованих клітин [129]. Кортикостероїди можуть викликати ІР шляхом прямого втручання в різні компоненти інсулінового сигнального каскаду [188]. Тому їхній негативний вплив є мультифакторним і призводить до підвищеної резистентності до інсулінучутливих тканин, толерантності до глюкози, зменшення маси та дисфункції β -клітин ПЗ [103]. Глюкокортикоїди знижують периферичне захоплення глюкози у м'язах і жировій тканині, при цьому стимулюють ліполіз в жировій тканині [67]. Печінка відіграє важливу роль у контролі метаболізму глюкози, підтримуючи глікемію натще. Кортикостероїди збільшують ендогенне утворення глюкози безпосередньо шляхом активації численних генів, що кодують ферменти глюконеогенезу у печінці [141]. Все це призводить до гіперглікемії, що супроводжується активацією синтезу ТГ у печінці і, як наслідок, активацією утворення ЛПІ та посилення їх транспорту. Порушення балансу між процесами синтезу ЛПІ та їх катаболізмом у клітинах-мішенях є головною причиною розвитку дисліпідемічного стану в організмі тварин за умов експерименту [46].

Варіант дексаметазонової моделі ЦД2 у молодих тварин рекомендовано використовувати для дослідження нових цукрознижуючих препаратів, механізм дії яких полягає в поліпшенні толерантності до вуглеводів та чутливості периферичних тканин до дії інсуліну [].

5.1.1 Вплив таблеток комбінованого складу «Фітаргін-Комбі» на показники

глюкозного гомеостазу та ендотеліальної дисфункції

Відомо, що порушення гомеостазу глюкози, яке виникає після тривалого або надмірного застосування глюкокортикоїдів, розвивається внаслідок контрінсулярного характеру дії даних гормонів у вісцеральній жировій тканині, печінці та скелетних м'язах [122]. Підшкірне введення синтетичного глюкокортикоїду дексаметазону в дозі 0,125 мг/кг протягом 13 діб 18-місячним щурам призвело до вираженої гіперглікемії, що проявлялось достовірним збільшенням рівня глюкози у 2,13 рази та дворазовим зростанням концентрації інсуліну у тварин КП у порівнянні з інтактними щурами (табл. 5.1).

Таблиця 5.1

Вплив Фітаргін-комбі на показники глюкозного гомеостазу та NO-синтазної системи на моделі дексаметазон-індукованого ЦД2 в щурів (n=10, $\bar{X} \pm S_x$)

Групи тварин	Показники					
	Базальна глікемія, ммоль/л	Базальна інсулінемія, пмоль/л	НОМА-IR	NO ₂ +NO ₃ , ммоль/л	Аргінін, ммоль/л	Цитрулін, ммоль/л
ІК	6,56±0,2	95,52±2,6	1,89	122,2±1,2	64,4±0,6	41,3±0,8
КП	14,03±0,4*	161,03±2,4*	3,90*	196,5±1,1*	39,1±0,4*	78,6±0,9*
ФК	7,30±0,2**	104,67±1,3 **	2,14**	130,7±0,6 **	60,9±0,4**	50,1±0,6 **
Арфазетин	9,20±0,3 */**	116,22±2,1 */**	2,30**	175,9±0,9*	48,6±0,6*	69,1±1,3*
Метформін	7,52±0,5 **	159,13±1,8 **	2,16**	156,8±1,2 *	47,1±0,4*	60,1±1,7 *

Примітки:

* – відмінності статистично значущі щодо ІК, $p < 0,05$;

** – відмінності статистично значущі щодо КП, $p < 0,05$.

Крім того, відзначали погіршення толерантності до вуглеводів та зниження

чутливості периферичних тканин до дії інсуліну. Для підтвердження порушення вуглеводного обміну на тлі модельної патології, ми розрахували індекс ІР, який достовірно зростав у 2,1 рази, порівняно з групою ІК, що свідчило про формування у тварин ІР – ключової патогенетичної ланки ЦД2 (табл. 5.1).

Порушення толерантності до глюкози за умов ІР може бути наслідком декількох причин. По-перше, дексаметазон знижує чутливість β -клітин до глюкози шляхом зниження рівня GLUT2, що, таким чином, призведе до втрати активності регуляції глюкози β -клітинами ПЗ [208].

Уведення ФК піддослідним тваринам протягом двох тижнів супроводжувалось достовірним зниженням усіх досліджуваних показників. Зокрема, рівень глюкози зменшувався в 1,9 рази відносно тварин групи КП (табл. 5.1). ФК гальмував зростання гіперінсулінемії, характерної для цієї патології, що підтверджувалося достовірним зниженням базальної інсулінемії на 35 % порівняно зі значеннями групи КП. Достовірне зниження індексу НОМА-ІР на 45 % у групі тварин, що отримували ФК, свідчило про підвищення чутливості периферичних тканин до дії інсуліну. За антигіперглікемічною дією ФК перевищував дію препарату порівняння збору Арфазетин, який зменшував рівень глюкози в сироватці крові щурів в 1,5 рази, базальної інсулінемії на 28 %, порівняно КП та дорівнював дії метформіну.

Введення щурам дексаметазону супроводжувалося розвитком патологічних змін показників NO-синтазної системи: достовірно підвищувався вміст NO та цитруліну, тоді як концентрація аргініну знижувалася в 1,5 рази (табл. 5.1). Така динаміка змін зумовлена формуванням у тварин групи КП синдрому ІР, який характеризується розвитком гіперглікемії та гіперінсулінемії. Інсулін є потужним індуктором ендотеліальної синтази оксиду азоту (eNOS), активує надходження аргініну до клітин, чим стимулює продукцію NO. Гіперглікемія призводить до збільшення синтезу NO, але низької його доступності, яка активує NF- κ B і тим самим породжує підвищену експресію індукцибельної NO-синтази й утворення АФК [145].

Низька доступність NO пояснюється роз'єднанням рецепторно-

опосередкованої сигнальної трансдукції і є первинним фактором ЕД і діабетичної ангіопатії [112]. Зростання вмісту NO стимулює експресію патологічної форми циклооксигенази 2 (ЦОГ-2). ЦОГ-2 є попередником утворення тромбоксану A_2 , який має потужні вазоконстрикторні властивості і є антагоністом NO. Збільшення вмісту глюкози корелює зі зростанням утворення вільних радикалів, які, пошкоджуючи ліпідні та білкові компоненти структури клітин, сприяють накопиченню токсичних ліпопероксидів. Відбувається дисбаланс антиоксидантно-прооксидантних факторів у бік зменшення вмісту антиоксидантів.

Встановлено, що відповідно до збільшення продукції оксиду нітрогену зростає і вміст цитруліну, який нарівні з NO є продуктом реакції взаємодії аргініну з ферментом NO-синтази. Введення ФК призводило до позитивного впливу на глікемічний профіль сироватки крові щурів з ІР (табл. 5.1), що проявлялося достовірним зменшенням виразності гіперглікемії та гіперінсулінемії. Водночас при введенні ФК достовірно зменшувався рівень оксиду азоту на 33,5 % та цитруліну на 36% і підвищувався рівень аргініну на 56 % ($p < 0,05$) відносно групи КП [25].

Отже, аналізуючи отримані дані, можна зробити висновок, що на моделі дексаметазонової ІР досліджуваний препарат поліпшує чутливість периферичних тканин до дії інсуліну та в дозі 100 мг/кг виявляє антигіперглікемічну дію, позитивно впливає на маркери NO-синтазної системи, вираженість яких перевищує ефект відомого полікомпонентного антидіабетичного рослинного збору Арфазетин та препарату порівняння - метформін.

5.1.2 Вплив таблеток комбінованого складу «Фітаргін-Комбі» на показники ліпідного обміну

На тлі інтолерантності до вуглеводів у тварин з групи КП розвивалася виразна дисліпідемія, яка характеризувалася підвищенням, порівняно з ІК, вмісту загальних ліпідів і загального холестерину у 1,7 рази та 1,5 рази, відповідно, а тригліцеридів (ТГ) – у 3,6 рази (табл. 5.2). Останнє вказує на активацію ліполізу у

жировій тканині та порушення утилізації ліпідів у печінці і, враховуючи дані літератури, служить опосередкованим доказом розвитку ІР у тварин цієї групи [169].

Таблиця 5.2

Вплив Фітаргін-комбі на ліпідний спектр сироватки крові щурів за умов дексаметазон-індукованого ЦД2 (n=10, $\bar{X} \pm S_x$)

Групи/ показники	ЗЛ г/л	ТГ, ммоль/л	Хс ммоль/л	Хс-ЛПНГ, ммоль/л	Хс-ЛПВГ, ммоль/л
ІК	2,28±0,23	0,61±0,05	1,56±0,11	2,35±0,22	0,97±0,06
КП	3,87±0,25 *	2,19±0,09*	2,39±0,19*	3,58±0,28 *	0,62±0,03*
Фітаргін- комбі	2,11±0,17 **	0,67±0,08**	1,73±0,09* *	2,51±0,19 **	0,89±0,06**
Арфазетин	2,95±0,32	0,84±0,07**	2,16±0,21	3,21±0,25	0,73±0,05
Метформін	2,26±0,15 **	0,73±0,06**	2,04±0,12	3,11±0,23	0,79±0,07

Примітки:

* – відмінності статистично значущі щодо ІК, $p \leq 0,05$;

** – відмінності статистично значущі щодо КП, $p \leq 0,05$.

Ці результати ще раз підтвердили розвиток дісліпідемії за умов ІР, подібної до такої у хворих на ЦД2. Спостерігалось зниження рівня Хс-ЛПВГ- в 1,6 рази ($p < 0,05$) та підвищення Хс-ЛПНГ- в 1,5 рази ($p < 0,05$) порівняно з групою ІК.

Під дією ФК рівень холестерину, загальних ліпідів та ТГ вірогідно знижувався в 1,4, 1,8 та 3,3 рази ($p < 0,05$), відповідно, досягаючи рівня ІК (табл. 5.2). За застосування препаратів порівняння відбувалося достовірне зниження ТГ щодо значень КП, зменшувався рівень ЗЛ під дією метформіну, однак рівень Хс залишався підвищеним під впливом обох референс препаратів.

При застосуванні досліджуваного фітозасобу спостерігалось підвищення

концентрації Хс-ЛПВГ- в 1,4 рази та зниження концентрації Хс-ЛПНГ- в 1,4 рази відносно показників групи КП. За вираженістю гіполіпідемічної дії ФК перевищував дію Арфазетину і дорівнював активності метформіну .

5.1.3 Вплив таблеток комбінованого складу «Фітаргін-Комбі» на показники перекисного окиснення ліпідів та стан антиоксидантної системи

За умов наших дослідів у тварин із ЦД2 типу відбувалось достовірне зростання вмісту ТБК-Р у 2,6 рази ($p<0,05$) порівняно із показниками тварин групи ІК (табл. 5.3).

Таблиця 5.3

Вплив Фітаргін-комбі на окремі показники антиоксидантно-прооксидантної рівноваги у гомогенаті печінки щурів з дексаметазон-індукованим ЦД2,

$M \pm m$ (n=7)

Групи/ показники	ТБК-Р, ммоль/г	ДК, ммоль/г	GSH, мг/г
ІК	52,26±0,6	0,932±0,031	0,261±0,012
КП	137,53 ±1,3*	3,678±0,023*	0,130±0,007*
Фітаргін-комбі	53,45±0,7**	1,102±0,012**	0,265±0,008**
Арфазетин	75,18±1,01**	1,954±0,015**	0,201±0,013**
Метформін	69,74±1,13**	1,624±0,014**	0,227±0,012**

Примітки:

1. * – відмінності статистично значущі щодо ІК, $p<0,05$;
2. ** – відмінності статистично значущі щодо КП, $p<0,05$.

Про активацію вільнорадикальних процесів на фоні модельної патології свідчило також накопичення проміжних продуктів перекисного окиснення ліпідів – ДК у гомогенаті печінки, рівень яких вірогідно зростав у 3,9 рази у порівнянні з ІК (табл. 5.3).

Про порушення антиоксидантного захисту свідчило достовірне зниження рівня ВГ у 2 рази ($p < 0,05$) порівняно з ІК, що було обумовлено виснаженням систем антиоксидантного захисту через інтенсифікацію вільнорадикальних процесів.

Застосування ФК у дозі 100 мг/кг супроводжувалося пригніченням виразності вільнорадикальних процесів, про що свідчило достовірне зниження вмісту як проміжних продуктів, так і кінцевих продуктів окиснення ліпідів.

За дії комбінованого засобу відбувалося зменшення вмісту ДК у 3,3 рази, а ТБК-Р – 2,6 рази ($p < 0,05$) порівняно з тваринами, яких не лікували (табл. 5.3). Відбувалось зростання рівня ВГ в 2 рази ($p < 0,05$) порівняно з тваринами із експериментальним ЦД2, що підтверджувало відновлення ендогенної системи антиоксидантного захисту (табл. 5.3).

Слід зазначити, що усі показники під впливом ФК нормалізувались до рівня інтактних тварин, що, очевидно, було наслідком антиоксидантного впливу складових компонентів журавлини, й передусім, фенольних сполук і амінокислот у складі засобу [24].

За дії Арфазетину і метформіну відбувалось зниження вмісту ТБК-Р у 1,8 рази та 2 рази відповідно, ДК - у 1,9 рази та 2,3 рази ($p < 0,05$) відповідно, порівняно із тваринами КП, що свідчило про суттєве пригнічення інтенсивності ліпопероксидації. При цьому рівень ВГ зростав у 1,5 рази та 1,7 рази ($p < 0,05$) відповідно (табл. 5.3). За здатністю відновлювати показники антиоксидантно-прооксидантного статусу ФК вірогідно перевищував ефективність збору Арфазетин та дорівнював активності метформіну.

5.1.4 Вивчення гепатопротекторних властивостей таблеток комбінованого складу «Фітаргін-Комбі»

Ферменти, що беруть участь у обміні амінокислотами - АсАТ та АлаТ - характеризуються високою активністю в гепатоцитах. Тому їх активність у крові часто використовується як діагностичний показник при гострих та хронічних ураженнях печінки, навіть якщо вони виникають у субклінічній формі. ГГТП -це

фермент, що підтримує мембрану, який працює в органах, які виконують функції секреції та поглинання. Лужна фосфатаза (ЛФ) також присутня в багатьох тканинах тіла, особливо в печінкових та жовчних протоках.

Збільшення активності ГГТП та ЛФ в крові може вказувати на порушення гепатобіліарної системи або бути пов'язано з пошкодженням ішемічної тканини. Ряд досліджень свідчить про значне збільшення активності АлАТ та АсАТ у сироватці крові у пацієнтів з ЦД2. Збільшення рівня ГГТП в крові також може бути наслідком прогресування цього захворювання.

Після 2-х тижневого курсу щоденних ін'єкцій дексаметазону було зафіксовано значне збільшення активності АлАТ та АсАТ у сироватці крові - у 2,1 та 1,9 рази відповідно порівняно з контрольною групою (табл. 5.4). Наприкінці експерименту активність ферментів у сироватці крові значно змінилася.

Таблиця 5.4

Вплив Фітаргін-комбі на активність печінкових ферментів в сироватці крові щурів за умов дексаметазон-індукованого ЦД2
($X \pm S_x$, n=10)

Групи/ показники	АлАТ ммоль/г л	АсАТ ммоль/г л	ГГТ ммоль/г л	ЛФ мккат/л
ІК	0,76±0,06	0,52±0,03	3,09±0,05	3,25±0,06
КП	1,62±0,08*	0,97±0,06*	6,55±0,07*	4,63±0,02*
Фітаргін-комбі	0,68±0,03**	0,45±0,04**	3,50±0,06**	3,16±0,03**
Арфазетин	1,17±0,03**	0,72±0,04	4,67±0,08	3,74±0,09**
Метформін	0,99±0,07**	0,61±0,02**	4,01±0,05**	3,56±0,01**

Примітки:

1. * – відмінності статистично значущі щодо ІК, $p < 0,05$;
2. ** – відмінності статистично значущі щодо КП, $p < 0,05$.

Під час цього дослідження було встановлено, що як досліджуваний фітозасіб, так і препарати порівняння сприяли зниженню активності зазначених ферментів у

крові (табл. 5.4) [22]. Отримані дані узгоджуються як із нашими попередніми результатами, так і з даними, представленими в науковій літературі [132].

5.2 Вивчення антидіабетичних властивостей таблеток комбінованого складу «Фітаргін-комбі» на моделі ЦД2, індукованого введенням стрептозотоцину з попереднім введенням нікотінамідру на тлі високожирової дієти

5.2.1 Вплив таблеток комбінованого складу «Фітаргін-Комбі» на глюкозний гомеостаз

ЦД2, індукований введенням стрептозотоцину з попереднім введенням нікотінамідру на тлі ВЖД характеризувався вираженою гіперглікемією (достовірне зростання рівня глюкози у 2,13 рази порівняно з ІК) та гіперінсулінемією (достовірне збільшення рівня інсуліну у 1,68 рази порівняно з ІК) на 14 добу (табл. 5.5).

З метою підтвердження порушень вуглеводного обміну на тлі модельної патології був розрахований індекс ІР, який достовірно зростав у 2,04 рази порівняно з ІК, що свідчило про формування у тварин ІР – ключової патогенетичної ланки ЦД2 (табл. 5.5).

Уведення ФК піддослідним тваринам протягом 28 діб супроводжувалось достовірним зниженням усіх досліджуваних показників. Зокрема, рівень глюкози зменшився на 42,3%, гіперінсулінемія - на 36% порівняно зі значеннями групи КП (табл. 5.5). Достовірне зниження індексу НОМА-ІР на 45,6% у групі тварин, що отримували досліджуваний засіб, свідчило про підвищення чутливості периферичних тканин до дії інсуліну [23].

Ключовою ланкою патогенезу ЦД2 та МС вважається первинна ІР, за умови якої відбуваються значні порушення вуглеводного та ліпідного обміну,

Таблиця 5.5

**Вплив Фітаргін-комбі на показники вуглеводного обміну в сироватці крові
щурів за умов ЦД2 ($X \pm S_x$, $n=10$)**

Групи тварин	Показники		
	Базальна глікемія, ммоль/л	Базальна інсулінемія, пмоль/л	НОМА-IR
ІК	6,56 $\pm$ 0,310	95,52 $\pm$ 2,77	1,89
КП	14,03 $\pm$ 0,491*	161,03 $\pm$ 2,45*	3,86*
Фітаргін-комбі	8,10 $\pm$ 0,348*/**/#	103,22 $\pm$ 2,04*/**	2,10**
Арфазетин	11,80 $\pm$ 0,211**	124,67 $\pm$ 1,77*/**	2,30**
Метформін	7,86 $\pm$ 0,351*/**/#	99,85 $\pm$ 2,18**	1,97**

Примітки:

1. * – відмінності статистично значущі щодо ІК, $p \leq 0,05$;
2. ** – відмінності статистично значущі щодо КП, $p \leq 0,05$;
3. # – відмінності статистично значущі щодо арфазетину, $p \leq 0,05$.

що підвищують ризик розвитку серцево-судинних захворювань, прогресування атеросклерозу та смертність серед хворих на ЦД2 [76, 194].

ІР і ЕД розглядаються як асоційовані стани - вони формують порочне коло, яке призводить до метаболічних і мікроциркуляторних порушень при ЦД. Біохімічні механізми корегуючого впливу досліджуваного фітозасобу щодо порушень вуглеводного обміну пов'язані з фармакологічними властивостями його складових. Незважаючи на різноманіття механізмів розвитку, ключова роль в патогенезі ЕД, на думку більшості дослідників, належить дефіциту NO та внутрішньоклітинному оксидативному стресу. Треба зауважити, що чимало патологічних станів і захворювань сприяють розвитку дефіциту L-аргініну (серцево-судинні захворювання, цукровий діабет, ожиріння, хронічний стрес тощо) [195]. Основним негативним наслідком дефіциту аргініну в організмі є зниження продукції NO, що зумовлює виникнення ЕД. Гіпоглікемічна дія таурину пов'язана

з його здатністю оборотно та специфічно зв'язуватися з рецепторами інсуліну. Гліцин перешкоджає глюкозозалежній індукції автокаталітичних процесів: збільшує секрецію інсуліну і знижує глюконеогенез у печінці, що має сприяти нормалізації метаболізму на ранніх етапах захворювання.

За антигіперглікемічною дією ФК перевищував активність препарату порівняння Арфазетину, який зменшував рівень глюкози у сироватці крові щурів на 15,9% порівняно з КП. За здатністю покращувати чутливість периферичних тканин до дії інсуліну та зменшувати рівень ІР ФК також перевищував дію Арфазетину і дорівнював активності метформіну.

Отже, аналізуючи отримані дані, можна зробити висновок про те, що на моделі ЦД2, індукованим введенням стрептозотоцину з попереднім введенням нікотінамід у тлі ВЖД досліджуваний фітозасіб на основі поліфенольного екстракту листя журавлини з амінокислотами поліпшує чутливість периферичних тканин до дії інсуліну й таким чином, зменшувати прояви ІР [220].

5.2.2 Вплив таблеток комбінованого складу «Фітаргін-Комбі» на процеси неферментативного глікозилювання, показники ліпідного обміну, прооксидантно-антиоксидантний баланс і ступінь окиснювальної модифікації білків

Розвиток ЦД2 у щурів супроводжувався вираженим зниженням запасів глікогену в 1,8 рази відносно ІК, що свідчить про активацію процесів глікогенолізу та підвищення глюконеогенезу у печінці тварин з групи КП (табл. 5.6).

Спостерігається погіршення енергозабезпечення клітин печінки та деградація мембран гепатоцитів, про що свідчить зниження активності СДГ у 3,2 рази в печінці діабетичних щурів. Під впливом досліджуваних таблеток встановлено відновлення запасів глікогену в печінці та активність СДГ до рівня ІК та метформіну, при цьому Арфазетин показав меншу ефективність щодо запасів глікогену та підвищення енергозабезпечення клітин печінки (табл. 5.6).

Таблиця 5.6

Вплив Фітаргін-комбі на біохімічні показники вуглеводного обміну в печінці щурів за умов ЦД2, $\bar{X} \pm S_x$ (n = 7)

Групи тварин	Показники		
	СДГ, ммоль/л	Глікоген, мг/100г тканини	ПВК, ммоль/л
ІК	0,13±0,02	3561,4±31,4	0,161±0,005
КП	0,04±0,01*	2010,1±32,7*	0,387±0,06*
Фітаргін-комбі	0,14±0,01**	3790,4±46,2**	0,211±0,004**
Арфазетин	0,08±0,02	3073,2±34,3**	0,276±0,005**
Метформін	0,13±0,02**	3583,6±44,5**	0,202±0,006**

Примітки:

1. * – відмінності статистично значущі щодо ІК, $p < 0,05$;
2. ** – відмінності статистично значущі щодо КП $p < 0,05$.

На порушення процесів утилізації глюкози за умов ЦД2 вказувало підвищення вмісту ПВК в сироватці крові щурів КП, рівень якої зростав у 2,4 рази ($p < 0,05$), тоді як при фітокорекції за допомогою Арфазетину даний показник знижувався відносно КП в 1,40 рази, ФК – у 1,8 рази ($p < 0,05$). Це свідчить про здатність фітозасобів позитивно впливати на процеси утилізації глюкози, а враховуючи те, що надмірне накопичення ПВК буває одним з факторів розвитку метаболічного ацидозу при ЦД2, можна зробити припущення і про їх позитивний вплив на кислотно-лужний баланс організму в цілому.

На цей час як золотий стандарт оцінки глікемічного контролю використовують вміст глікозильованого гемоглобіну (HbA1c), підвищення якого навіть до високих нормальних значень ($\geq 5,7$ – $6,0$ %) вказує на інсулінорезистентність та високу ймовірність виникнення ЦД упродовж найближчих трьох років [87,172]. Крім того, вищі показники HbA1c асоціюються з атерогенними дисліпідеміями, активацією симпатичної нервової системи, судинними ускладненнями ЦД, високим ризиком коронарної патології та атипового перебігу ІХС.

За умови експериментального діабету ЦД2 внаслідок хронічної гіперглікемії відбувалося підвищення вмісту HbA1c у 1,9 рази ($p < 0,05$) порівняно з показником групи ІК (рис. 5.1).

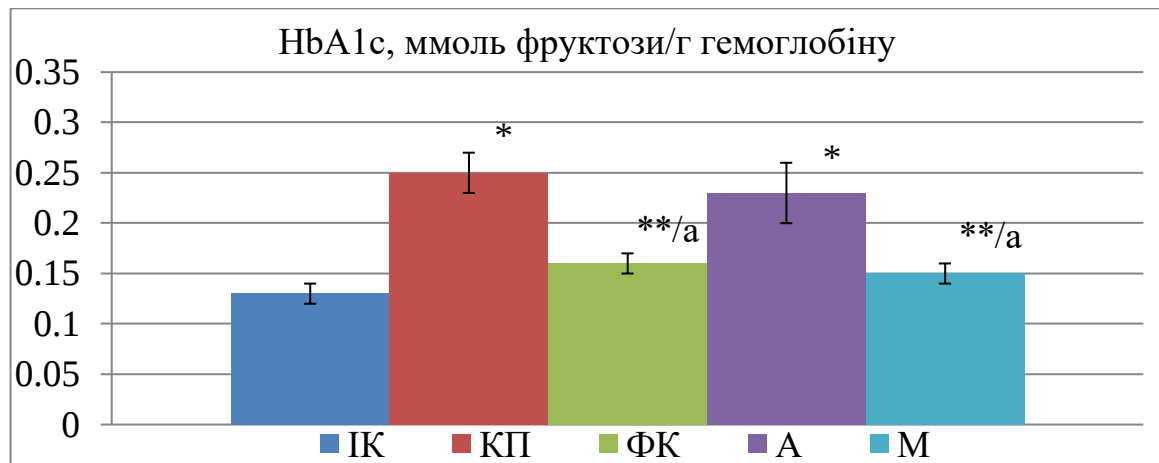


Рис. 5.1. Вплив ФК на вміст глікозильованого гемоглобіну у сироватці крові щурів за умови ЦД2, $M \pm m$ ($n = 7$).

Примітки:

1. * – відмінності статистично значущі щодо ІК, $p < 0,05$;
2. ** – відмінності статистично значущі щодо КП, $p < 0,05$;
3. а – відмінності статистично значущі щодо арфазетину, $p < 0,05$.

Вивчення впливу досліджуваного засобу на процеси неферментативного глікозилювання в організмі щурів показало, при введенні ФК протягом 4-х тижнів вміст HbA1c порівняно з групою КП знизився на 36 % ($p < 0,05$) на рівні метформіну (зниження на 40 %, $p < 0,05$). За ефективністю гальмування процесів неферментативного глікозилювання ФК достовірно перевищував захисний вплив Арфазетину в 1,4 рази ($p < 0,05$).

Про порушення прооксидантно-антиоксидантного балансу при відтворенні ЦД2 свідчило зростання в крові тварин вмісту ТБК-реактивів у печінці у 2,5 рази порівняно з ІК, у сироватці крові – у 2,1 рази. Поряд з цим, у печінці тварин з діабетом реєстрували статистично значуще зниження активності каталази та

виснаження пулу GSH (табл. 5.7). Тобто за умови експериментального ЦД2 порушувався баланс окисно-відновлювальних процесів з переважанням пероксидації ліпідів, про що свідчило підвищення $K_{red/ox}$ у 3 рази (табл. 5.7), яке відбувалося за рахунок збільшення вмісту вторинних продуктів перекісного окиснення ліпідів (ПОЛ) та зниження активності АОЗ.

Також у сироватці крові оцінювали ступінь окиснювальної модифікації білків (ОМБ), яка останнім часом активно вивчається при різних патологіях. Встановлено, що у сироватці щурів КП збільшується вміст АДФГ в 1,8 рази та КДФГ в 1,9 рази (табл. 5.7), що свідчить про активацію окиснення протеїнів.

За тривалого введення ФК відбувалася нормалізація процесів ПОЛ/АОС про що свідчило зниження рівня ТБК-Р в 2,7 рази у порівнянні з інтактними тваринами, $K_{ПОЛ/АОС}$ до рівня ІК та пригнічення ОМБ: рівень ранніх та пізніх маркерів пошкодження клітинних білків був нижчим ніж у групі КП у середньому на 58 % (табл. 5.7).

Також при тривалому введенні Фітаргін-комбі спостерігалось підвищення рівня антиоксидантних ферментів: каталази – в 1,4 рази та GSH – в 1,5 рази у порівнянні з КП.

У той же час, препарати порівняння – фітозбір «Арфазетин» менш виражено порівняно з ФК впливав на гальмування процесів ПОЛ, активізацію АОС і не обмежував окиснювальну модифікацію білків за усіма досліджуваними показниками. Метформін також поступався ФК за здатністю пригнічувати ПОЛ і посилювати антиоксидантний захист і лише за впливом на окиснювальну модифікацію білків не відрізнявся від досліджуваного комбінованого засобу [27].

Встановлено, що ФК за умов лікувально-профілактичного введення проявив виражений гіполіпідемічний та гіпохолестеринемічний ефект.

Відповідно до отриманих даних (табл. 5.8), за умови експериментального ЦД2 у щурів з групи КП відбувалися суттєві зміни ліпідного профілю: вміст ТГ і Хс підвищувався у 2,7 рази та 2 рази відповідно. Збільшення рівня ТГ опосередковано свідчить про активацію процесів ліпонеогенезу у печінці, що

Таблиця 5.7

Вплив Фітаргін-комбі на баланс окисно-відновлювальних процесів і вміст окиснених модифікованих білків за умов ЦД2 у щурів, $X \pm S_x$ (n = 7)

Показники	Групи тварин				
	ІК	STZ+H на тлі ВЖД			
		КП	Фітаргін-комбі	Арфазетин	Метформін
У сироватці крові					
ТБК-Р, мкмоль/л	2,11±0,2	4,52±0,4*	2,39±0,2**/a/m	3,39±0,1*/**	3,46±0,2**
Каталаза, мкат/л·сек	65,2±2,6	46,3±1,5*	64,9±1,4**/a/m	52,8±1,9*	49,2±1,5**
K _{red/ox}	1	3	1,14	1,9	1,5
АДФГ, екст.	0,13±0,002	0,24±0,001*	0,14±0,002**/a	0,20±0,001*	0,14±0,001**/a
КДФГ, екст.	0,09±0,001	0,17±0,002*	0,10±0,002**/a	0,19±0,001*	0,11±0,002**/a
У гомогенаті печінки					
ТБК-Р, нмоль/мг білка	127,81±1,9	325,1±4,1*	120,4±1,7**/a/m	149,2±6,7**	166,2±4,8**
Каталаза, μмоль/мгбілка	2,63±0,02	1,7±0,01*	2,41±0,03**/a/m	1,92±0,04*/**	2,09±0,03**
GSH, нмоль/мг тканини	91,3±1,8	63,1±2,5*	94,1±2,3**/a/m	73,5±3,2*/**	71,4±3,1**

Примітки:

1. * – відмінності статистично значущі щодо ІК, $p < 0,05$;
2. ** – відмінності статистично значущі щодо КП $p < 0,05$;
3. а – відмінності статистично значущі щодо арфазетину, $p < 0,05$;
4. m – відмінності статистично значущі щодо метформіну, $p < 0,05$.

сприяє розвитку ІР у тварин КП. Поряд з цим у сироватці щурів з групи КП зростає вміст ЛПНГ у 2,1 рази, а рівень ЛПВГ знижувався у 2,5 рази. Накопичення ЛПНГ у сироватці крові на тлі зниженого синтезу ЛПВГ свідчить про розвиток атеросклеротичних процесів на тлі діабету, що розвинувся внаслідок введення стрептозотоцину.

За лікувально-профілактичного введення досліджуваного ФК відбувалося відновлення усіх досліджуваних показників до рівня тварин з групи ІК. Зокрема, під впливом ФК вміст Хс знижувався в 2,3 рази, ТГ – в 3,5 рази, ЛПНГ – в 2 рази ($p < 0,05$).

Таблиця 5.8

Вплив Фітаргін-комбі на показники ліпідного обміну в сироватці крові щурів за умов ЦД 2, $X \pm S_x$ (n = 7)

Групи тварин	Показники			
	Хс, ммоль/л	Хс-ЛПВГ, ммоль/л	ЛПНГ, ммоль/л	ТГ, ммоль/л
ІК	1,47 $\pm$ 0,1	0,72 $\pm$ 0,02	5,68 $\pm$ 0,2	1,43 $\pm$ 0,01
КП	2,94 $\pm$ 0,2*	0,29 $\pm$ 0,04*	11,73 $\pm$ 0,3*	3,91 $\pm$ 0,02*
Фітаргін-комбі	1,29 $\pm$ 0,3**/a/m	0,91 $\pm$ 0,06**/a/m	5,71 $\pm$ 0,2**/a/m	1,13 $\pm$ 0,05**/a/m
Арфазетин	2,01 $\pm$ 0,1	0,67 $\pm$ 0,05**	7,92 $\pm$ 0,6**	2,36 $\pm$ 0,02**
Метформін	2,25 $\pm$ 0,3	0,58 $\pm$ 0,05**	8,44 $\pm$ 0,4**	2,57 $\pm$ 0,05**

Примітки:

1. * – відмінності статистично значущі щодо ІК, $p < 0,05$;
2. ** – відмінності статистично значущі щодо КП $p < 0,05$;
3. а – відмінності статистично значущі щодо арфазетину, $p < 0,05$;
4. m – відмінності статистично значущі щодо метформіну, $p < 0,05$.

При цьому рівень антиатерогенної фракції ЛПВГ під впливом препарату зростає, порівняно з аналогічними показниками нелікованої групи, в 3,1 рази ($p < 0,05$). За здатністю пригнічувати атерогенні процеси та активізувати механізми антиатерогенного захисту ФК значно перевищував препарати порівняння.

5.2.3. Патоморфологічне вивчення тканини підшлункової залози та печінки у тварин із ЦД2

У щурів з групи ІК залозиста тканина ПЗ складалася з помірних за розміром часточок, у яких містилися кінцеві відділи альвеолярної залози – ацинуси (екзокринна частина) та панкреатичні островці (ПО) – ендокринна частина. ПО округло-овальної форми, чітко відокремлені від навколишньої ацинарної паренхіми [217]. Центральна частина островців доволі щільно й рівномірно заповнена β -клітинами, розташованими тяжами, які розподілялися синусоїдальними капілярами [180]. По периферії островців ланцюжком одна до одної розміщені α -клітини. Такий зональний розподіл розташування α - і β -клітин в островці є типовим для досліджуваного виду тварин. Після фарбування альдегід-фуксином цитоплазма β -клітин рівномірно забарвлена в синьо-фіолетовий колір, що свідчить про нормальний рівень їхньої функціональної активності (рис. 5.2). У результаті морфометричних досліджень з'ясували, що оптична щільність ПО дорівнювала 22 одиницям. За островцевим профілем розподілили їх так: дрібні – 28,2 %, середні – 60 %, великі – 11,8 %. Інтенсивність фарбування альдегід-фуксином інсуліноцитів у островцях була на рівні 3,3 бала (табл. 5.9). Ацинуси щільно розташовані, чітко відокремлені один від одного, складалися з одного шару залозистих клітин. Цитоплазма екзокринних панкреатитів мала базofilьну периферичну зону, що містила ядро, та оксифильну центральну зону, що містила зерна зимогену. Співвідношення цих зон коливалося в межах 1:1,5 – 1:2, що відображає нормальний асинхронний характер функціональної активності клітин. Міжчасточкові сполучнотканинні прошарки вузькі. Внутрішньочасточкові та міжчасточкові вивідні протоки, артерії та вени різних калібрів зовово не змінені (рис. 5.2).

Гістологічна картина печінки інтактних щурів мала типову для цих тварин будову. Часточковий малюнок тканини змазаний унаслідок майже повної відсутності сполучнотканинних міжчасточкових прошарків. Межі часточок визначали за тріадами. Зони тріад (портальних трактів) вузькі.

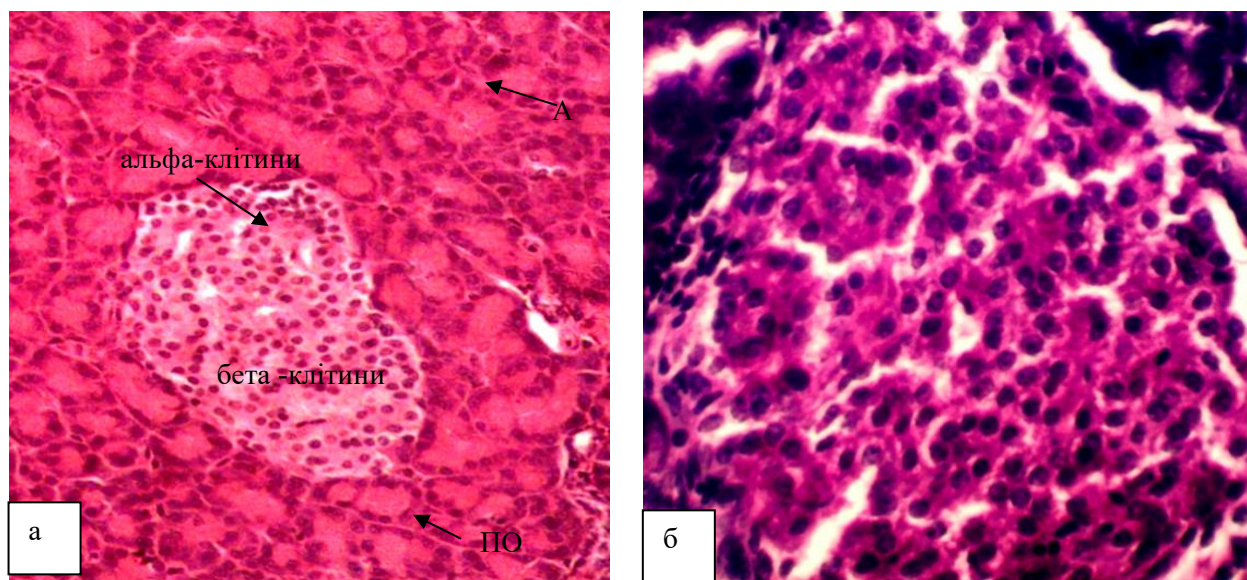


Рис. 5.2. Підшлункова залоза інтактного щура: А - нормальний стан ацинусів (А) та клітин ПО (гематоксилін-еозин. х 250); Б - інтенсивне рівномірне забарвлення цитоплазми β -клітин (альдегід-фуксин по Гоморі-гематоксилін, х400).

Гепатоцити в часточках розташовані тяжами, що мали чітку радіальну спрямованість.

Клітини зберігали характерні форму та розмір, цитоплазма рівномірно профарбована, оптично щільна, не містила вкраплень, яких було б видно за світлової мікроскопії. Ядра гепатоцитів нормохромні, центрально розміщені, містили одне, рідше два ядерця. Кількість двоядерних гепатоцитів достатня. Внутрішньочасточкові гемокапіляри помірно розширені, містили звичайну кількість лімфоїдних клітин. Зоряні ретикулоендотеліоцити (клітини Купфера) без особливостей, мітозів у клітинах не спостерігали.

Стан епітелію жовчних протоків, ендотелію термінальних гілок кровоносних судин у триадах, а також ендотелію інших кровоносних судин у межах норми. ШИК-реакція засвідчила, що цитоплазма гепатоцитів рівномірно та щільно заповнена дрібними гранулами глікогену, фарбування суданом не виявило накопичення жиру в клітинах (рис. 5.3).

Таблиця 5.9

Вплив Фітаргін-комбі на стан інкреторного апарату щурів за умов ЦД2 (Ме (Q25; Q75))

Група	Оптична щільність ПО (кількість у мікропрепараті)	Розмір ПО (за чисельністю β-клітин)			Виразність альдегід- фуксифільної забарвленості β-клітин ПО (бали)
		Дрібні (до20), %	Середні (21-60), %	Великі (> 60), %	
ІК	22,0±0,37 [21; 23] 100%	6,17±0,48 [4; 7] 28,2%	13,2±0,31 [12; 14] 60%	2,67±0,21 [2; 3] 11,8%	3,33±0,21 [3; 4]
КП	10,3±0,49* [9; 12] 100%	12,5±0,43* [11; 14] 56,6%	3,33±0,21* [3; 4] 32,08%	1,0±0,37 [0; 2] 11,32%	1,5±0,22* [1; 2]
Фітаргін- комбі	17,5±0,43 ^{*/#} [16; 19] 100%	6,67±0,21 ^{#/a/mm} [6; 7] 38%	9,67±0,21 ^{*/#/m} [9; 10] 55,1%	1,17±0,17 ^a [1; 2] 6,9%	3,0±0,0 ^{#/aa/m} [3; 3]
Арфазетин	16,8±0,60 ^{*/#} [15; 19] 100%	5,67±0,33 [#] [5; 7] 34,11%	8,67±0,49 ^{*/#} [8; 11] 51,76%	2,33±0,42 ^{###} [1; 4] 14,13%	2,33±0,21 ^{*/###} [2; 3]
Метформін	17,0±0,37 ^{*/#} [16; 18] 100%	5,5±0,22 [#] [5; 6] 32,95%	10,5±0,22 ^{*/#/aa} [10; 11] 60,23%	1,17±0,31 ^a [0; 2] 6,82%	2,5±0,22 ^{***/##} [2; 3]

Примітки:

1. *p<0,001, **p<0,01, ***p<0,05 – відмінності статистично значущі щодо ІК;
2. #p<0,001, ##p<0,01, ###p<0,05 – відмінності статистично значущі щодо КП;
3. ^ap<0,05, ^{aa}p<0,01 – відмінності статистично значущі щодо арфазетину, p<0,05;
4. ^mp<0,05, ^{mm}p<0,01 – відмінності статистично значущі щодо метформіну, p<0,05.

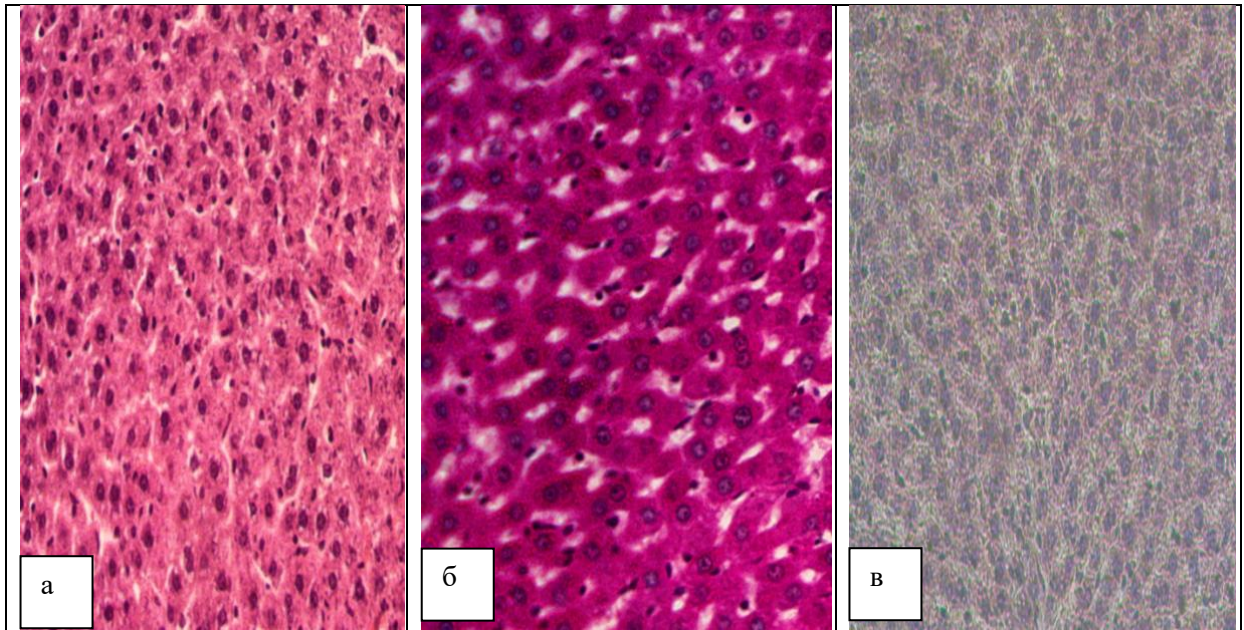


Рис. 5.3. Печінка інтактного щура: нормальний балковий рисунок гепатоцитів (гематоксилін-еозин); б - рівномірний розподіл гранул глікогену у цитоплазмі клітин (ШК-реакція за Мак-Манусом); в - відсутність жиру у цитоплазмі гепатоцитів (судан IV). x250.

Після введення стрептозотоцину і нікотинамід у тлі попередньої довготривалої ВКД інсулярний апарат щурів зазнав значних змін. У візуально нечисленних ПО видно різного ступеня виразності вакуолізацію β -клітин. Часто спостерігали нерівномірне спустошення центральних ділянок острівців. Частина ядер інсуліноцитів гіпертрофована, деформована. Спостерігали й тотально зруйновані ПО. У деяких ПО видно вогнищеву проліферацію α -клітин у місцях типової їх локалізації. У поодиноких острівцях у спустошених центральних зонах були дуже дрібні групи клітин з невеликим темним компактним ядром та вузькою смужкою цитоплазми. Фарбування альдегід-фуксином засвідчило достатньо виразне зменшення, нерівномірність забарвленості цитоплазми або відсутність її у більшості β -клітин (рис. 5.4). Межа між ПО і навколишньою ацинарною паренхімою іноді не чітка. Морфометрично об'ємна щільність острівців проти ІК знизилася у 2,1 раза ($p < 0,001$). Перевагу мали дрібні острівці. Частка їх збільшилась у 2 рази ($p < 0,01$). Частка середніх ПО зменшилась у 3,96 раза ($p < 0,001$). Середня інтенсивність фарбування альдегід-фуксином β -клітин у острівцях

становила 1,5 бала ($p < 0,001$) (табл. 5.9). Змін структурної організації екзокринної складової ПЗ щурів не виявили [210]. Помітили лише вогнищеву більш виразну асинхронність функціональної активності екзокринних панкреатитів (коливання співвідношення базофільної та оксифільної зон у цитоплазмі клітин частини ацинусів було в межах від 1:0,25-0,5 до 1:3 та більше). У деяких тварин місцями виявили перидуктальну круглоклітинну інфільтрацію.

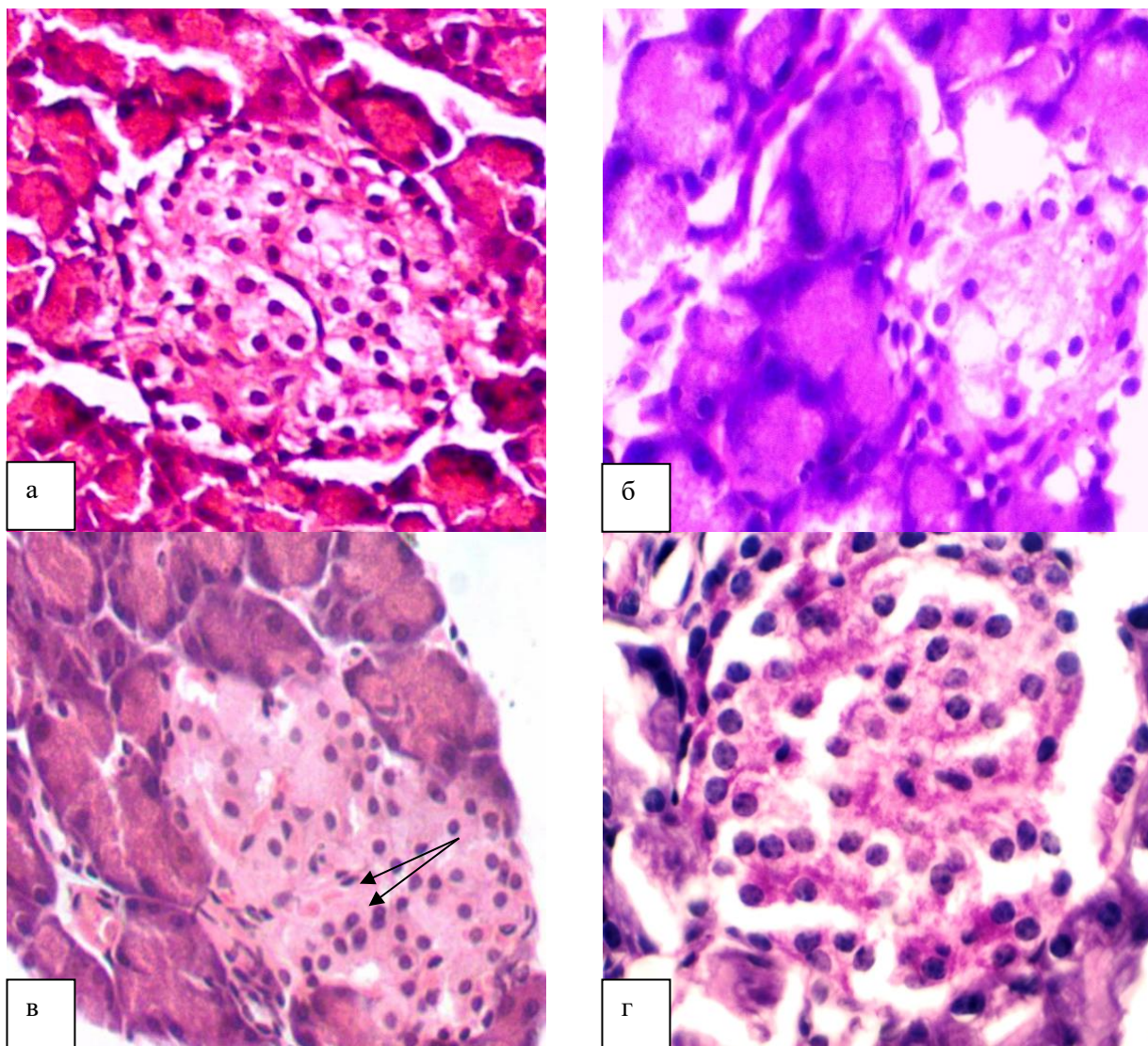


Рис. 5.4. Підшлункова залоза щура після введення стрептозотоцину з нікотинамідом на тлі попередньої довготривалої ВКД: а – вакуолізація β -клітин у островці; б – спустошення β -клітин у островці; в – дуже дрібні групи клітин з невеликим темним компактним ядром та вузькою смужкою цитоплазми; г – зменшення інтенсивності альдегід-фуксинофільного фарбування β -клітин островця. А-в – гематоксилін-еозином, $\times 250$; в – альдегід-фуксин по Гоморі-гематоксилін, $\times 400$.

У печінці щурів групи КП спостерігали різної виразності дифузні дистрофічні та некробіотичні зміни гепатоцитів. Цитоплазма гепатоцитів містила вакуолі та світлі, з нечіткими абрисами зони, набрякла. Місцям видно зони дискомплексації печінкових балок з дрібними осередками крововиливів. У деяких клітинах ядра не пофарбовані, лізовані. Візуалізовано збільшення гепатоцитів з деформованими ядрами. Доволі часто спостерігали апоптозно змінені гепатоцити у вигляді так званих тілець Каусильмена (рис. 5.5).

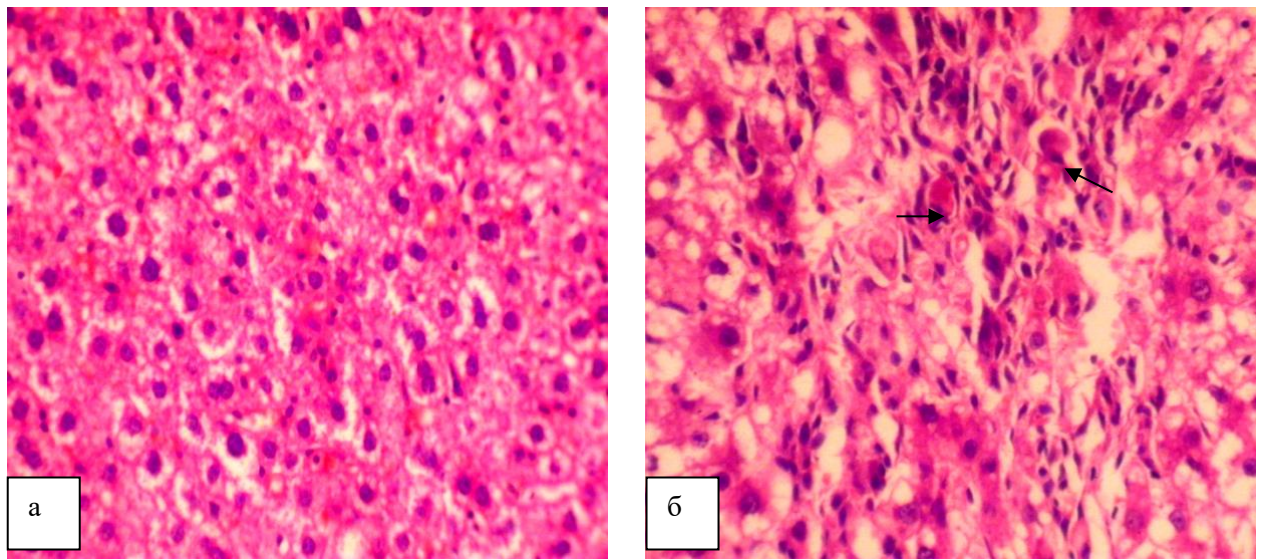


Рис. 5.5. Печінка щура після введення стрептозотоцину з нікотинамідом на тлі попередньої довготривалої ВКД: а - дискомплексація печінкових балок, цитоплазма гепатоцитів містить вакуолі та нечітко обрисовані світлі зони; б – тілця Каунсільмена серед дистрофічно змінених гепатоцитів. Гематоксилін-еозин, x250.

Центральні вени та частина судин портальних трактів застійно повнокровні. Синусоїдальні капіляри часто не прозиралися. Портальні тракти розширені, інфільтровані лімфо-гістіоцитарними елементами. Наявність двоядерних клітин зорво зменшена.

Унаслідок ШИК-реакції виявили виразне зменшення інтенсивності фарбування цитоплазми гепатоцитів (зменшення глікогену), а після фарбування суданом – накопичення жирових крапель (рис. 5.6).

Наведена мікроскопічна картина є морфологічним відображенням токсико-дистрофічних змін з порушенням жирового, вуглеводного та білкового обмінів [47,58].

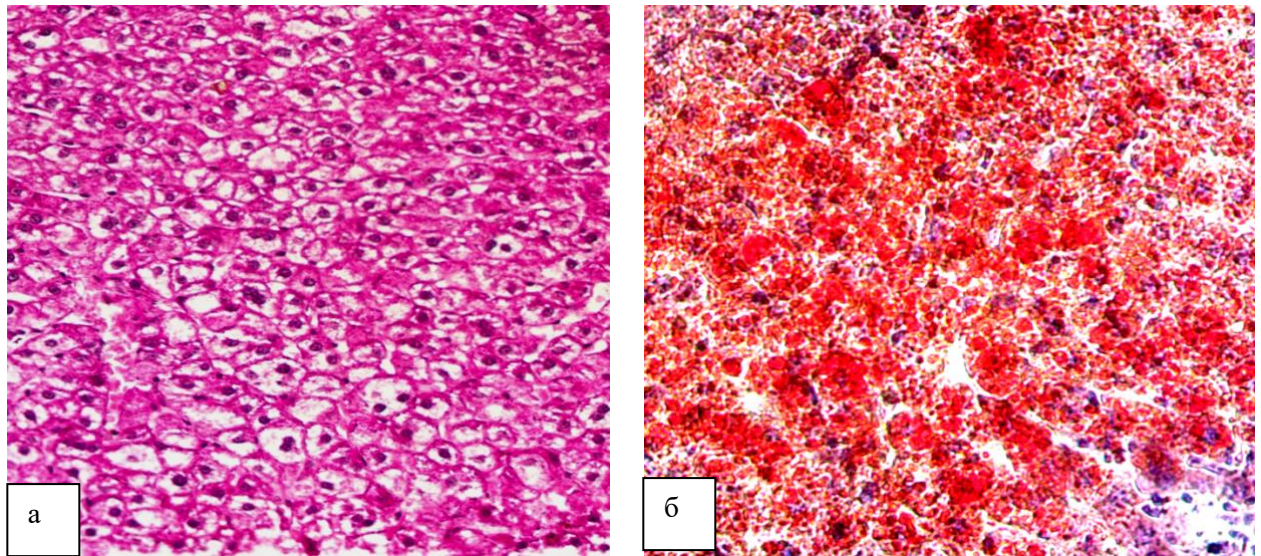


Рис. 5.6. Печінка щура після введення стрептозотоцину з нікотинамідом на тлі попередньої довготривалої ВКД: а - зменшення гранул глікогену у цитоплазмі клітин (ШК-реакція за Мак-Манусом, x200); б – накопичення жиру у гепатоцитах (судан IV, x250).

Введення щурам з експериментальним ЦД2 досліджуваного ФК позитивно вплинуло на стан ПО. У більшості ПО β -клітини візуально зберігали морфологічно нормальний вигляд, без ознак дистрофії та дегенерації. Клітини рівномірно заповнювали острівець, зберігаючи типове розташування тяжами. Обмежена і кількість острівців з проліферацією α -клітин у типових місцях їх розташування. Проліферація клітин з дрібними темними ядрами та вузькою смужкою цитоплазми виражена в частини острівців у помітно більшому ступені, ніж у КП. Лише в невеликій кількості ПО видно помірну вакуолізацію β -клітин, гніздове розрідження у їх розташуванні. Цілком спустошених ПО не спостерігали. Фарбування альдегід-фуксином засвідчило, що в помітної частини β -клітин острівців відновлено достатньо рівномірне виразне забарвлення цитоплазми, хоча ще в певної частини клітин вона слабо забарвлена (рис. 5.7).

Морфометрично збільшилась на 70 % ($p < 0,001$) оптична щільність ПО проти

контрольної патології. Частка дрібних ПО зменшилася на 46,46 % ($p < 0,01$), а середніх ПО збільшилась у 2,9 раза ($p < 0,001$) (табл.). Виразність фарбування альдегід-фуксином становила 3 бали ($p < 0,001$) (табл. 5.9).

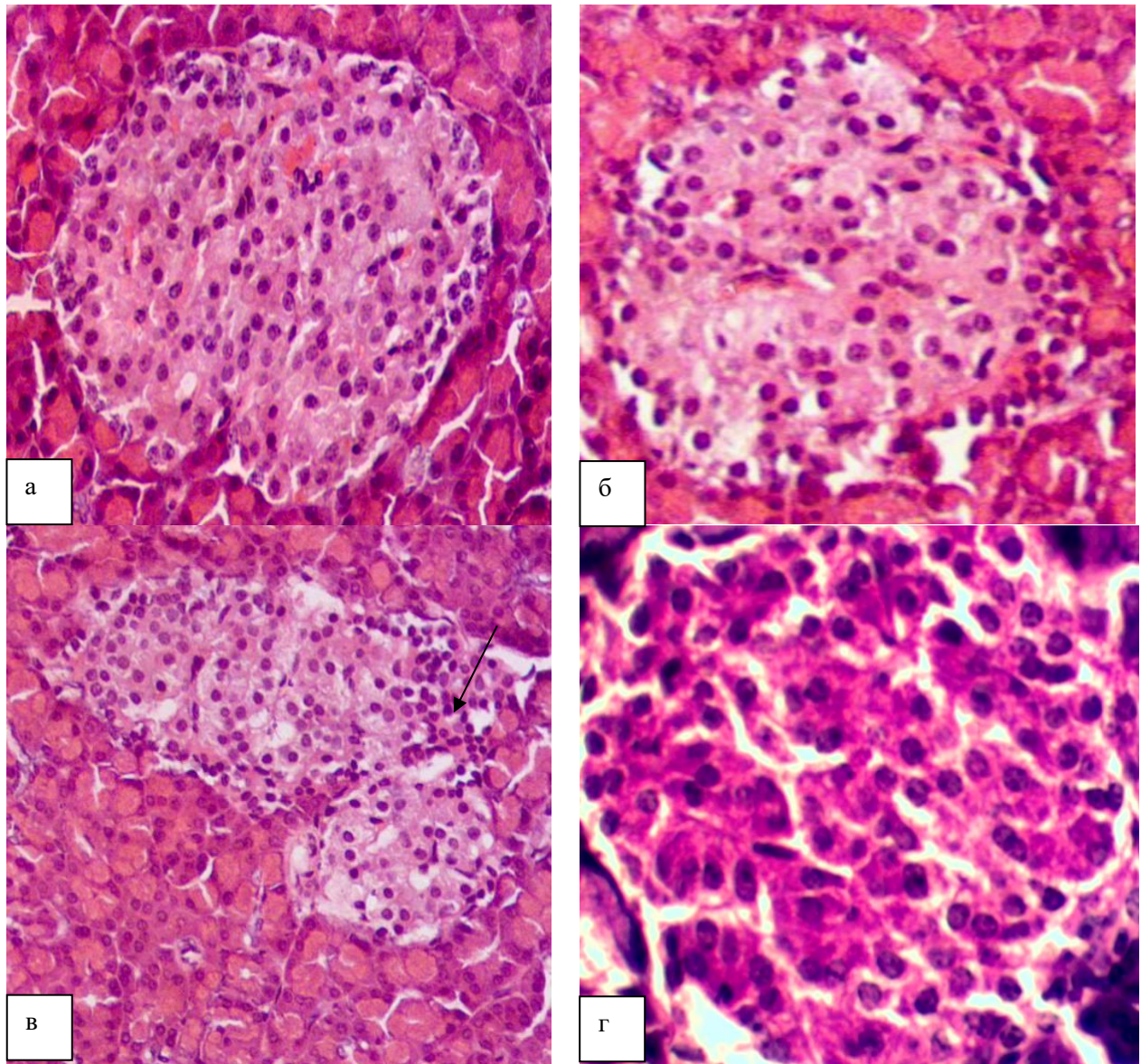


Рис. 5.7. Підшлункова залоза щура з цукровим діабетом 2-го типу після введення фітокомпозиції: а – наблизений до норми панкреатичний островок (x200); б – помірне спустошення та вакуолізація β -клітин у островку (x250); в – проліферація клітин з дрібними темними ядрами та вузькою смужкою цитоплазми; г - достатнє виразне відновлення фіолетового забарвлення цитоплазми багатьох β -клітин (x400). а-в – гематоксилін-еозин, в – альдегід-фуксин по Гоморі-гематоксилін.

Помітних змін у стані екскреторної залозистої паренхіми не помічено.

Спостерігали позитивний вплив ФК і на гістологічний стан печінки щурів. Радіальний балковий малюнок гепатоцитів не змінений. Не візуалізувалися цитоліз та каріолізис, прояви апоптозу. Цитоплазма клітин рівномірно забарвлена, не містила вакуолей та просвітлених зон. У більшості тварин не проглядалися (або вони були суттєво зменшені) мікроциркуляторні розлади. Пул двоядерних гепатоцитів зорозов збільшений, багато клітин з анізонуклеозом (коливання розміру ядер – збільшення розміру – посилення синтезу білка). Круглоклітинна інфільтрація портальних трактів відсутня. Майже відновлена здатність клітин до накопичення глікогену, практично відсутня жирова дистрофія гепатоцитів – накопичення дрібних крапель ліпідів виявили в цитоплазмі окремих груп клітин (рис. 5.8).

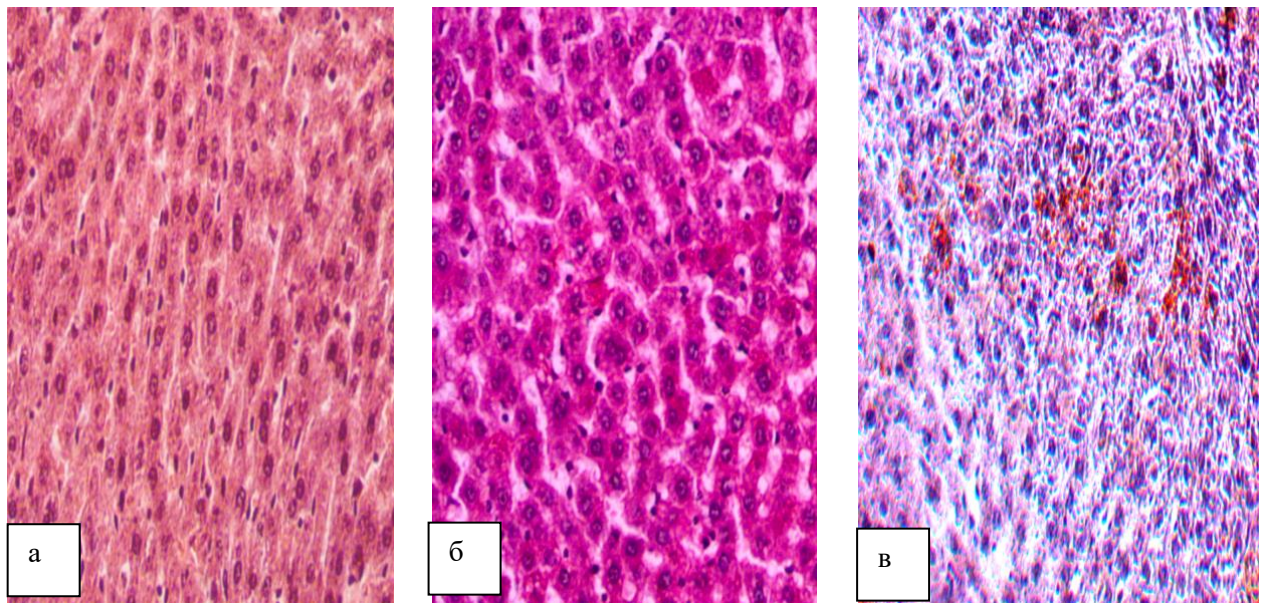


Рис. 5.8. Печінка щура з цукровим діабетом 2-го типу після введення фітокомпозиції: а – нормальний стан гепатоцитів (гематоксилін-еозин, х250); б – відновлена здатність клітин до накопичення глікогену (ШІК-реакція, х250); в – накопичення дрібних крапель ліпідів у цитоплазмі окремих груп клітин (судан IV, х400)

Після аналогічного за схемою введення збору «Арфазетин» частина ПО містила дегенеративно та дистрофічно змінені β -клітини, була спустошена, у них

спостерігали помірну проліферацію клітин з дрібними компактними темними ядрами і невеликою смужкою цитоплазми.

Виразність проліферації α -клітин у різних острівцях коливалась. Морфофункціональний стан значної кількості острівців візуально відповідав нормальному. У ПО загалом збільшена виразність альдегід-фуксинофільного рівномірного фарбування β -клітин, хоча в частині ПО окремими дрібними зонами було доволі слабе забарвлення клітин або його відсутність (рис. 5.9). Помітних змін екзокринної паренхіми в більшості щурів не виявили, іноді спостерігали дуже помірну круглоклітинну вогнищеву інфільтрацію міжацинарної строми.

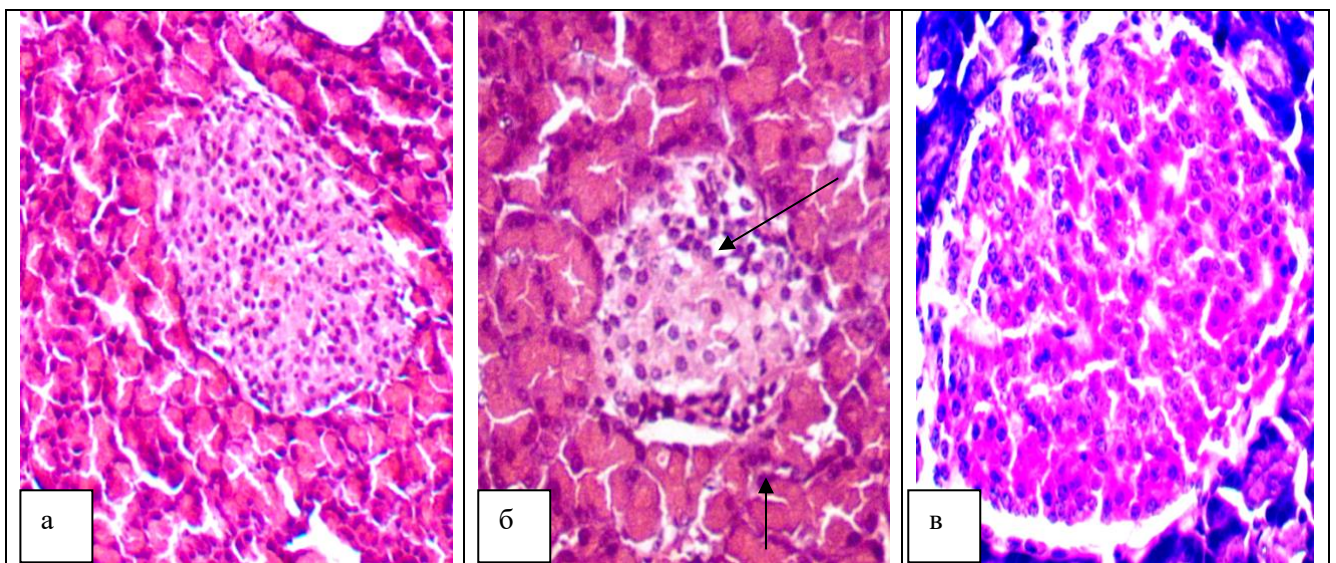


Рис. 5.9. Підшлункова залоза щура з цукровим діабетом 2-го типу після введення збіру «Арфазетин»: а – нормальний панкреатичний острівець (x200); б – помірне спустошення та вакуолізація β -клітин у острівці, проліферація клітин з дрібними компактними темними ядрами і невеликою смужкою цитоплазми (x250); в – доволі виразне фіолетове забарвлення цитоплазми більшості β -клітин (x250). а-б – гематоксилін-еозин, в – альдегід-фуксин по Гоморі-гематоксилін.

Морфометричний аналіз засвідчив підвищення на 63 % ($p < 0,001$) оптичної щільності ПО проти КП. Частка дрібних і середніх ПО змінювалась щодо патології: у 2,2 (менше) та у 2,6 раза (більше, $p < 0,001$) відповідно. Інтенсивність альдегід-фуксинофільного забарвлення становила 2,3 бала ($p < 0,05$) (табл. 5.9).

Гістоструктура печінкової паренхіми майже в половини щурів після введення збору «Арфазетин» була наближеною до інтактного контролю. Гепатоцити морфологічно повноцінні, спостерігали виразний анізонуклеоз. Більше пул двоядерних клітин. У решти дистрофія була вогнищевою. У зонах з найбільш виразними ознаками дистрофії балковий малюнок іноді порушений. Інтенсивність ШИК-реакції в цитоплазмі гепатоцитів у різних щурів коливалась від нормальної до зниженої. Жирові вакуолі мали дрібнокрапельний характер, виявили мозаїчно у всіх щурів (рис. 5.10).

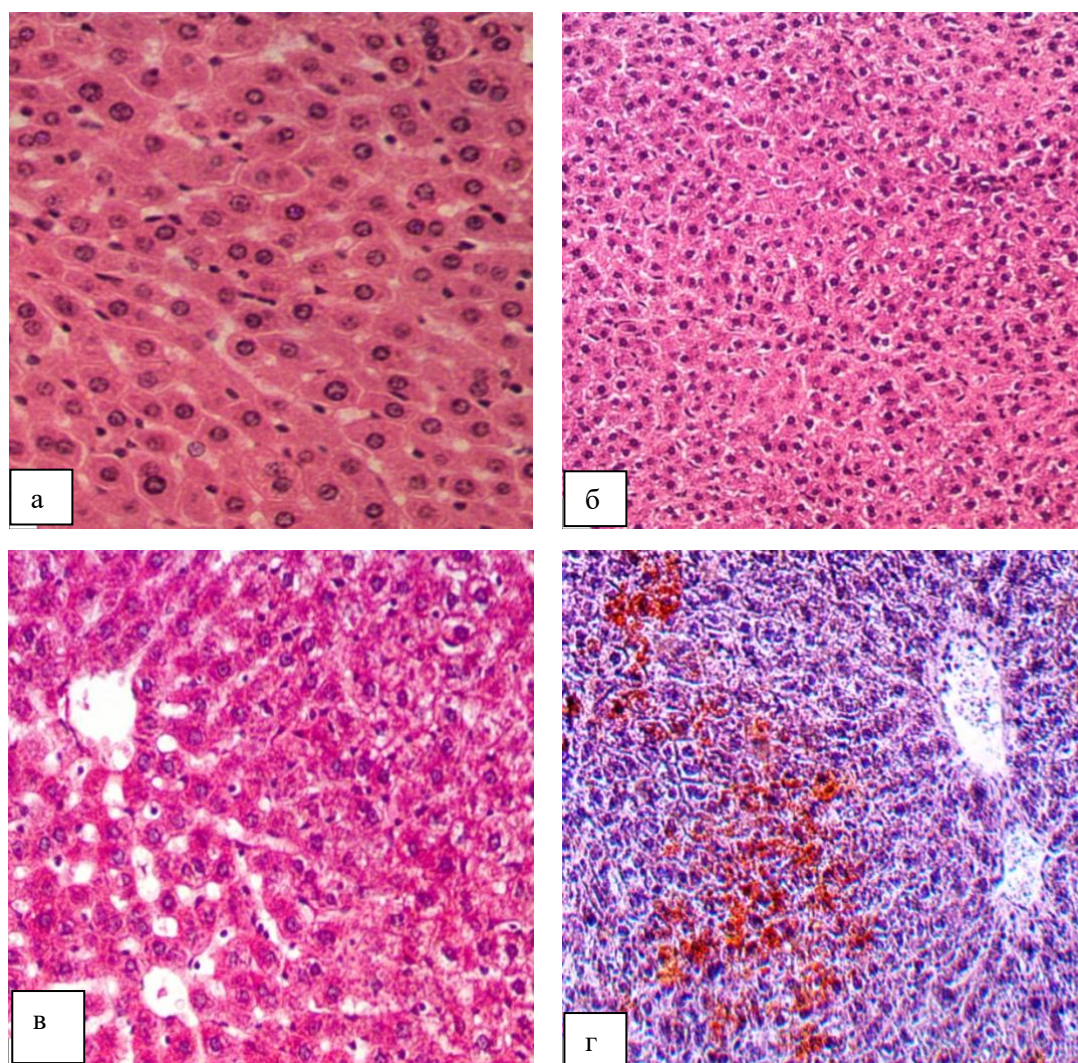


Рис. 5.10. Печінка щура з цукровим діабетом 2-го типу після введення збору «Арфазетин»: а – стан печінкової паренхіми наближено до нормального (x250); б – помірна дистрофія гепатоцитів (x200); в – мозаїчне відкладення дрібних жирових крапель у гепатоцитах (x250). а-б - гематоксилін-еозин, в - ШИК-реакція, г – судан IV.

Мікроскопічна картина інкреторного апарату щурів з ЦД2 після введення таблеток «Метформін» була така: частина ПО була візуально не змінена, частина – з ознаками зональної спустошеності й дистрофії клітин; проліферації α -клітин не виявили. Проліферація клітин з темними невеликими ядрами та вузькою смужкою цитоплазми в деяких острівцях виражена. Фарбування альдегід-фуксином засвідчило достатню насиченість цитоплазми значної кількості β -клітин специфічними гранулами (рис. 5.11). Екзокринна паренхіма без помітних змін.

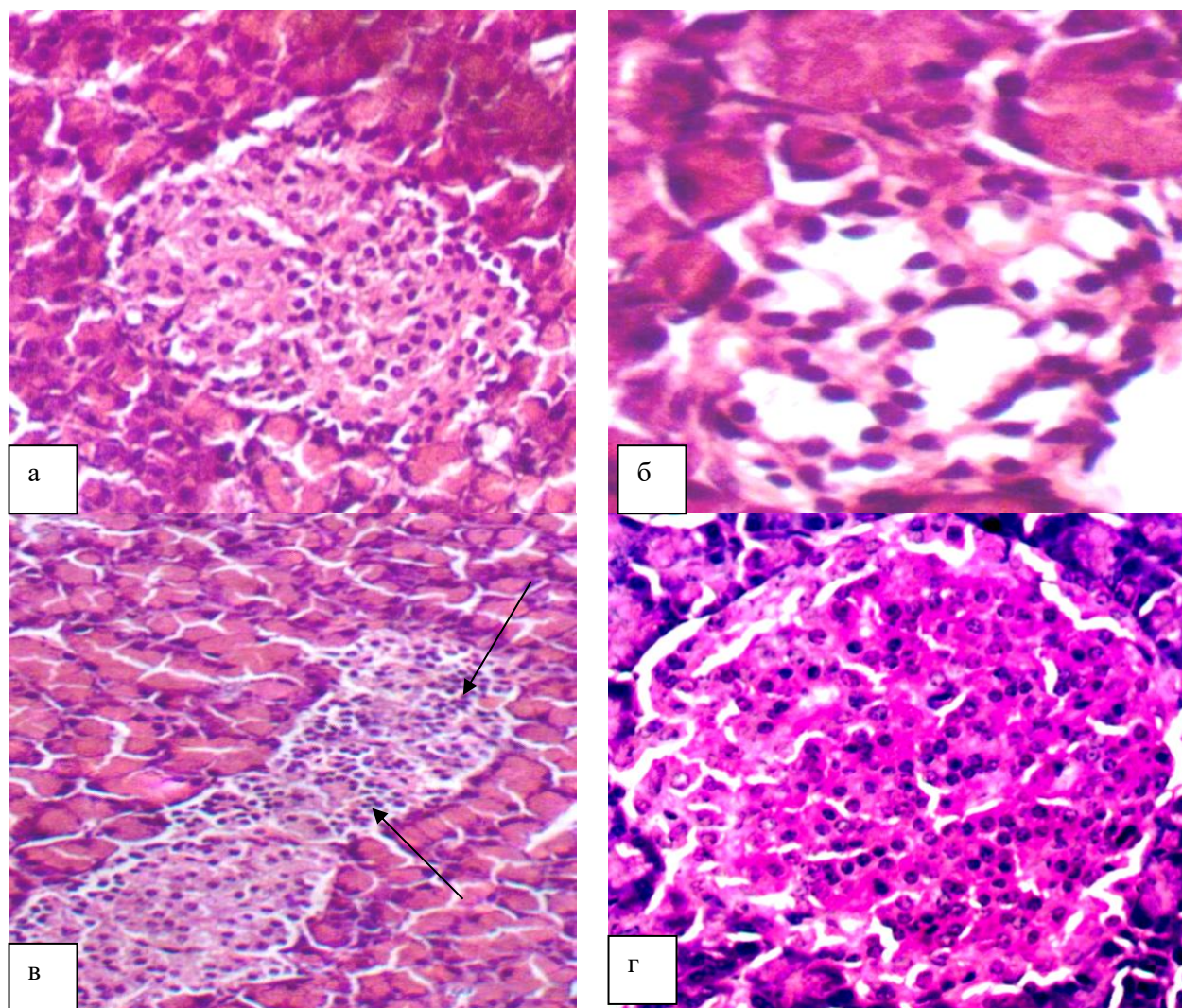


Рис. 5.11. Підшлункова залоза щура з цукровим діабетом 2-го типу після введення таблеток «Метформін»: а – неушкоджений панкреатичний острівцев (x200); б – виразна вакуолізація цитоплазми β -клітин, хаотичне розташування клітин (x400); в – відновлення фіолетового забарвлення цитоплазми більшості β -клітин (x200). а-б – гематоксилін-еозин, в – альдегід-фуксин по Гоморі-гематоксилін.

Проведена морфометрія засвідчила, що оптична щільність панкреатичних островців збільшилась проти контрольної патології на 65 % ($p < 0,001$). Достатньо показово зменшилась частка дрібних ПО (у 2,3 рази, $p < 0,05$) та збільшилась частка середніх ПО (у 3,2 рази, $p < 0,001$) (табл. 5.9). Виразність альдегід-фуксинофільного забарвлення становила 2,5 бала ($p < 0,01$) (табл. 5.9).

Помітне покращення спостерігали і в стані печінки цих щурів (рис. 5.12). Будова печінкових балок збережена, наближена до типової. Самі гепатоцити нормального розміру, ядра клітин нормохромні, з чіткими великими ядерцями, кількість яких іноді становила 2-3. Виявили чіткий анізонуклеоз. Ознаки гепатолізису дуже рідкі, пул двоядерних клітин збільшений. Мікроциркуляція тканини покращена. Фарбування на глікоген виявило виразне відновлення інтенсивності ШИК-реакції; фарбування суданом – дуже дрібні ліпідні краплі в окремих гепатоцитах, які не порушували цілісності клітин (рис.5.12).

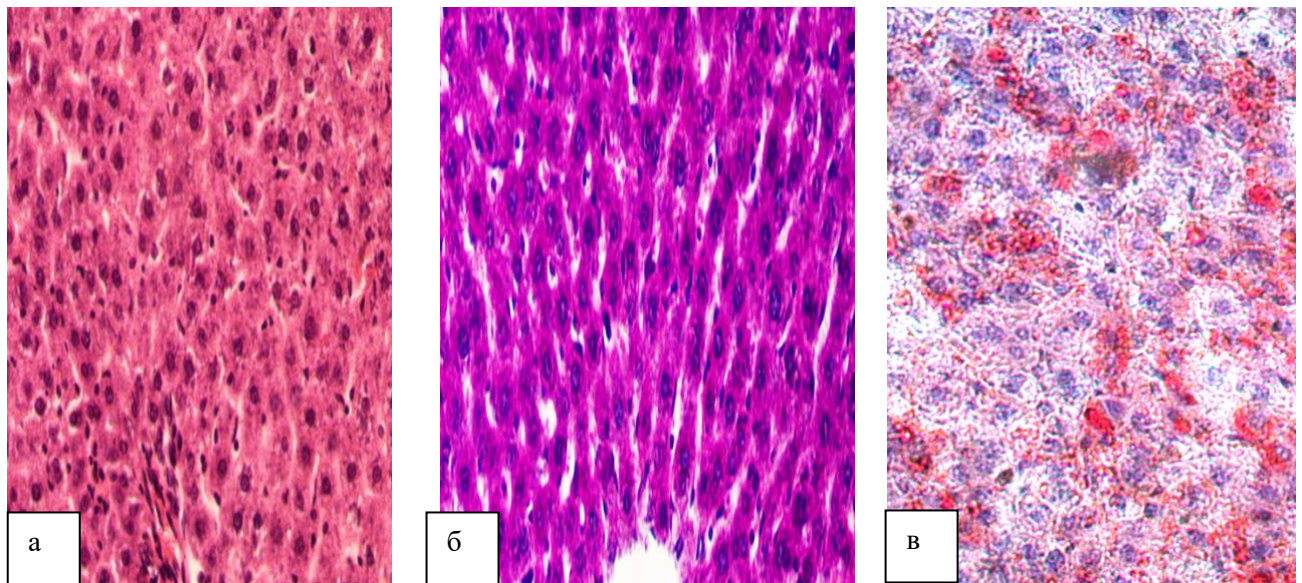


Рис. 5.12. Печінка щура з цукровим діабетом 2-го типу після лікувального введення таблеток «Метформін»: а - відновлення нормальної структури паренхіми (гематоксилін-еозин); б – рівномірне накопичення гранул глікогену у гепатоцитах (ШИК-реакція); в – дуже дрібні жирові включення у цитоплазмі частини клітин (судан IV). x250.

Отже, на основі отриманих даних можемо заключити таке. Введення

розчину стрептозотоцину внутрішньочеревно, одноразово, з попереднім (за 15 хв) введенням нікотинаміду інтраперитоніально на тлі утримування щурів на ВЖД підтверджує важливість аліментарного фактору для розвитку ЦД2 та призводить до пригнічення інсулінпродукувального апарату ПЗ тварин, розвитку токсико-дистрофічних змін печінки з порушенням жирового та вуглеводного обміну. У ПЗ візуалізується зменшення оптичної щільності островців, збільшення частки дрібних та зменшення частки середніх ПО; виникнення дистрофічних і деструктивних змін островцевих клітин, спустошення деяких островців. Із цим відбувається виразне зменшення інтенсивності фарбування цитоплазми β -клітин альдегід-фуксином (вмісту інсуліну) [88,106].

Відомо, що існує субпопуляція панкреатичних β -клітин невеликого розміру з високою мітотичною активністю і низькою чутливістю до стрептозотоцину [84]. Можливо, спостережувані нечисленні клітини з дрібними компактними ядрами та вузькою смужкою цитоплазми в місцях спустошення в островцях і є ці малі β -клітини, а поява їх – прояв регенераційних процесів, намагання відновити пул β -клітин.

Лікувально-профілактичне введення ФК позитивно вплинуло на прояви морфологічних ознак порушення структурно-функціонального стану ендокринної складової ПЗ щурів. Застосування ФК призводило до збільшення оптичної щільності ПО у порівнянні з КП, зменшення кількості дрібних островців і зростання середніх, покращення морфофункціонального стану β -клітин: зменшення ознак дистрофічних змін, відновлення альдегід-фуксинофільного фарбування цитоплазми (вмісту гранул інсуліну в цитоплазмі). ФК мав стимулювальний вплив на регенераційні процеси в інсулін-продукувальному апараті ПЗ щурів – виразність проліферації малих β -клітин у ПО значно зростала проти КП.

Досліджуваний засіб на морфологічному рівні виявив гепатопротекторні властивості, значно зменшуючи прояви токсико-дистрофічної дії діабетогенів та відновлюючи жировий і вуглеводний обмін у гепатоцитах. За виразністю позитивного впливу на стан ендокринної складової підшлункової залози й печінки щурів на зазначеній експериментальній моделі ФК не поступається метформіну та

перевищує Арфазетин.

Висновки до розділу 5

1. На моделі дексаметазон-індукованого ЦД2 встановлено, що Фітаргін-комбі в дозі 100 мг/кг чинить виражену антигіперглікемічну дію, яка реалізується, за рахунок його здатності покращувати чутливість периферичних тканин до дії інсуліну, при цьому зменшуючи прояви інсулінорезистентності; покращувати ендотеліальну дисфункцію, яке підтверджувалося зниженням вмісту NO та цитруліну й підвищенням концентрації аргініну, що обумовлювало панкреопротекторні властивості Фітаргін-комбі доведені гістологічними дослідженнями.

2. На моделі ЦД2, викликаного введенням стрептозотоцину з попереднім введенням нікотінамідом на тлі ВЖД, встановлений виразний позитивний вплив Фітаргін-комбі на порушений вуглеводний обмін, процеси ПОЛ/АОС, гіполіпідемічні та гіпохолестеринемічні властивості, які значно перевищували дію препаратів порівняння.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Кононенко Н.М., Танська М.С. Дослідження антигіперглікемічних властивостей нової фітокомпозиції на моделі цукрового діабету 2 типу. *Фітотерапія. Часопис*. 2023. № 4 (55). С. 22-26. <https://doi.org/10.32782/2522-9680-2023-4-22>. (**Scopus**) (Особисто здобувачем виконано експериментальне дослідження, проведено статистичну обробку результатів, узагальнені результати, підготовлено статтю до друку).

2. Кононенко Н.М., Танська М.С. Вплив нової фітокомпозиції на процеси неферментативного глікозилювання, показники ліпідного обміну та баланс пероксидного окиснення ліпідів на моделі цукрового діабету 2 типу. *Фітотерапія*.

Часопис. 2024. № 2. С. 97-103. <https://doi.org/10.32782/2522-9680-2024-2-97>. (Scopus) (Особисто здобувачем виконано експериментальне дослідження, проведено статистичну обробку результатів, узагальнені результати, підготовлено статтю до друку).

3. Кононенко Н.М., Танська М.С. Вплив нової фітокомпозиції на формування ендотеліальної дисфункції та глюкозний гомеостаз у щурів за експериментальної інсулінорезистентності. *Health & Education*. 2024. Вип. 3. С. 64-69. <https://doi.org/10.32782/health-2024.3.8>. (Особисто здобувачем виконано експериментальне дослідження, проведено статистичну обробку результатів, узагальнені результати, підготовлено статтю до друку).

4. Кононенко Н.М., Анісімова М.С. Вплив нової фітокомпозиції на основі екстракту з листя журавлини великоплідної та амінокислот на стан підшлункової залози й печінки щурів на моделі цукрового діабету 2 типу. *News of pharmacy*. 2024. №2 (108). С. 85-96. <https://doi.org/10.24959/nphj.24.149>. (Особисто здобувачем виконано експериментальне дослідження, проведено статистичну обробку результатів, узагальнені результати, підготовлено статтю до друку).

5. Кононенко Н.М., Танська М.С. Вивчення ліпотропної активності фітокомпозиції на основі сухого екстракту з листя журавлини та амінокислот на моделі інсулінорезистентності у щурів. *Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації: збірник тез IV науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю, 19 травня 2022 р. Х.: Вид-во НФаУ, 2022. С. 199-201.*

6. Кононенко Н.М., Танська М.С. Дослідження впливу фітокомпозиції на процеси неферментативного глікозилювання, активність цитолітичних процесів, показники ліпідного обміну та баланс пероксидного окиснення ліпідів на експериментальній моделі цукрового діабету 2 типу. *Сучасні аспекти досягнень фундаментальних та прикладних медико-біологічних напрямків медичної та фармацевтичної освіти та науки: матеріали I науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю, яка присвячена до 90-ї річниці з дня*

народження професора Л.Т.Киричок, 17 листопада 2022 р. Х.: ХНМУ, 2022. С. 100-104.

7. Анісімова М.С., Кононенко Н.М. Вплив фітокомпозиції на основі сухого екстракту з листя журавлини та амінокислот на стан оксидантно-прооксидантного гомеостазу підшлункової залози за експериментальної інсулінорезистентності. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція*: збірник тез VII науково-практичної internet-конференції з міжнародною участю, 14 листопада 2024 р. Х.: НФаУ, 2024. С. 85-87.

РОЗДІЛ 6

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Всесвітня організація охорони здоров'я (ВООЗ) класифікує цукровий діабет як одне з ключових неінфекційних захворювань сучасності. Сьогодні близько 537 мільйонів людей у світі страждають на цю недугу, і щороку вона спричиняє приблизно 1,5 мільйона смертей [105, 224].

Скорочення на третину рівня передчасної смертності, пов'язаної з діабетом, є частиною Цілей сталого розвитку, встановлених ООН на 2030 рік. Україна, як і багато інших країн, взяла на себе зобов'язання досягти цієї мети.

Проблема діабету стає дедалі гострішою. Згідно з прогнозами Міжнародної федерації діабету, до 2045 року кількість людей із цим захворюванням може досягти 783 мільйонів осіб - це 12,2% населення планети [185]. Така статистика свідчить про серйозну загрозу для глобального здоров'я та значне соціальне навантаження як для розвинених, так і для країн, що розвиваються [17].

В Україні кількість людей із діабетом оцінюється в 3,5 мільйони, з яких лише 1,2 мільйона мають офіційний діагноз. При цьому більшість випадків — це діабет 2 типу (90-95%), пов'язаний із порушенням обміну вуглеводів і жирів [45].

Kyiv School of Economics (KSE) у партнерстві з Асоціацією виробників інноваційних ліків (APRaD) провели економічне моделювання розвитку діабету та його наслідків в Україні. За результатами дослідження, втрати для економіки країни у період з 2025 по 2030 рік можуть сягати від 36 до 104 мільярдів гривень щороку, що еквівалентно 1-2,5% ВВП [2].

Водночас епідеміологічні дослідження свідчать про значну поширеність МС в Україні: його частота коливається в межах 20–35% і з віком зростає [18]. Зокрема, у жінок МС діагностується у 2,5 рази частіше, ніж у чоловіків. Це підкреслює актуальність проблеми для таких галузей медицини, як ендокринологія, кардіологія, дієтологія, внутрішня та сімейна медицина. Науковці вважають МС сукупністю факторів, що мають спільну патогенетичну природу й сприяють виникненню метаболічних порушень. Встановлено, що МС тісно пов'язаний із

підвищеним ризиком розвитку серцево-судинних захворювань, цукрового діабету 2 типу та підвищеною загальною смертністю. Це зумовлює необхідність не лише ранньої діагностики, а й своєчасного лікування даних патологій. Управління станом пацієнтів із підвищеним ризиком розвитку ССЗ та ЦД 2 типу має бути спрямоване на усунення або зменшення основних проявів МС.

На сьогоднішній день основною причиною втрати працездатності та летальних наслідків у пацієнтів із цукровим діабетом залишаються мікро- та макроангіопатії, зокрема нефропатія, ретинопатія, гангрена, інфаркт міокарда та інсульт [55]. Ключовим чинником, що спричиняє розвиток цих ускладнень, є підвищений рівень глюкози в крові. Ефективний контроль глікемії має вирішальне значення для зниження ризику ураження судин і може суттєво відтермінувати прояви ускладнень у хворих на ЦД2 [51].

Зниження середнього рівня глікованого гемоглобіну на 1% (наприклад, з 10% до 9%) серед хворих на діабет в Україні дасть змогу щорічно запобігати втратам у розмірі від 1,8 до 2,6 млрд грн. для всіх пацієнтів із цим захворюванням. Досягнення цільового рівня компенсації діабету ($HbA1c < 7\%$ для більшості хворих) повинно розглядатися як один із ключових показників якості роботи сімейного лікаря та ендокринолога [86, 143].

На практиці досягнення нормоглікемії, як і раніше, являє собою значні труднощі, що пов'язано з підвищеним ризиком розвитку гіпоглікемії. Це підкреслює важливість впровадження альтернативних профілактичних стратегій. Мета такої терапії - блокувати ключові патофізіологічні механізми, включно з активацією поліолового шляху метаболізму глюкози, протеїнкінази С, змінами в редокс-стану піридинових нуклеотидів, утворенням продуктів неферментативного глікозилювання, а також оксидативним стресом і гіпоксією. Саме ці процеси лежать в основі розвитку мікросудинних ускладнень при цукровому діабеті. Таким чином, лікування ЦД має носити комплексний, багатокомпонентний характер [175].

Сучасні підходи до лікування ЦД передбачають не лише досягнення ефективного та безпечного контролю рівня глюкози в крові, але й мінімізацію

ризикую виникнення гіпоглікемії та надмірної ваги, а також відсутність негативного впливу на серцево-судинну систему [155]. Варто зазначити, що, попри загальне визнання важливості зміни способу життя - зокрема підвищення фізичної активності та дотримання принципів здорового харчування, — на практиці дотримуватися цих рекомендацій виявилось складно, особливо для осіб літнього віку [43].

У рекомендаціях Американської діабетичної асоціації (ADA) наголошується, що вплив низьковуглеводних дієт на пацієнтів із цукровим діабетом 2 типу залишається не до кінця з'ясованим, а позитивні зміни загального стану, які спостерігаються при такому харчуванні, зазвичай мають нетривалий характер [139].

Сучасні підходи до лікування ЦД орієнтовані насамперед на зменшення серцево-судинних ризиків і суворий контроль рівня глікемії. У зв'язку з цим терапія для дорослих із ЦД2 включає не лише зміну способу життя, а й призначення метформіну [211]. Якщо цільового показника HbA1c досягти не вдається, лікування доповнюють одним або двома додатковими пероральними цукрознижувальними засобами в рамках комбінованої терапії [7, 35].

Незважаючи на наявність досить широкого спектра сучасних антидіабетичних препаратів, проблема ефективної компенсації ЦД2 залишається невирішеною [19]. Крім того, на сьогоднішній день відсутні переконливі докази того, що більшість груп пероральних цукрознижувальних засобів істотно знижують ризик розвитку діабетичних макро- і мікроангіопатій [95]. Багато хто з цих препаратів мають небажані побічні ефекти і втрачають ефективність при тривалому застосуванні [196]. Усе це підкреслює необхідність подальшого пошуку і розширення асортименту нових антидіабетичних засобів, що мають не тільки виражені гіпоглікемічні властивості, а й здатні запобігати розвитку ускладнень [193].

На сьогодні для лікування ЦД широко застосовують різні засоби природного походження. Їх використовують як у формі функціональних харчових продуктів (із сировини, що містить інулін, а також із листя чорниці, мучниці, стулок квасолі та

інших рослин), так і у вигляді лікарських препаратів. На фармацевтичному ринку України зареєстровано єдиний рослинний препарат, який застосовують під час терапії ЦД2 - фітозбір Арфазетин [19].

Безумовними перевагами засобів природного походження є сприятливий профіль безпеки та можливість застосовувати їх у складі комплексної терапії у комбінації із синтетичними лікарськими засобами. Але недоліком лікарських зборів рослинного походження є незручність при використанні збору або рослинної сировини пацієнтами, що пов'язана з приготуванням лікарської форми для споживання (наприклад, відвару) в домашніх умовах, відсутність стандартизації кінцевої лікарської форми тощо [201]. Зазначені фактори можуть суттєво впливати на ефективність терапії, що може супроводжуватись порушенням контролю глікемії, наслідком чого можуть стати ускладнення основного захворювання та його прогресування.

З урахуванням ключової ролі активації процесів ПОЛ у патогенезі ЦД2 та його ускладнень, доцільним і перспективним видається включення до комплексної терапії захворювання лікарських рослин і препаратів на їхній основі, що мають як гіпоглікемічну, так і антиоксидантну дію [121].

Однією з перспективних лікарських рослин з гіпоглікемічною дією для створення офіційного антидіабетичного засобу є *Vaccinium macrocarpon* (журавлина великоплідна) – рослина родини Вересових (Ericaceae).

Вибір листя журавлини великоплідної, як сировини для одержання поліфенольного екстракту, обумовлений значним вмістом у ньому фенольних сполук (простих фенолів, гідроксикоричних кислот, зокрема - галової та хлорогенової кислот, флавоноїдів, аскорбінової кислоти).

Різносторонній науковий інтерес останнім часом прикутий до сірковмісної амінокислоти таурин (2-аміноетансульфонова кислота, $\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{SO}_3\text{H}$). Доведено надмірне виведення таурину з організму при різних станах і порушеннях обміну.

Відомо, що чимало захворювань сприяють розвитку дефіциту L-аргініну (серцево-судинні захворювання, ЦД, ожиріння, хронічний стрес тощо). Основним

негативним наслідком дефіциту аргініну в організмі є зниження продукції NO, який утворюється з аргініну під дією Ca^{2+} -залежного ферменту NO-синтази, що зумовлює виникнення ендотеліальної дисфункції. Встановлена роль дефіциту L-аргініну в патогенезі ЦД 2 типу та його ускладнень.

Гліцин є замінною амінокислотою і у здорових молодих людей при повноцінному харчуванні надходить до організму та синтезується у достатніх кількостях. Разом з тим, у хворих на ЦД, як правило, спостерігається дефіцит гліцину в крові.

Об'єктом досліджень став сухий спиртовий екстракт з листя журавлини великоплідної з додаванням амінокислот. В одержаному сухому екстракті міститься не менше 10 % фенольних сполук у перерахунку на ГК, не менше 5 % гідроксикоричних кислот у перерахунку на ХГК і не менше 2 % флавоноїдів у перерахунку на рутин.

Тому метою цієї роботи стало експериментальне обґрунтування доцільності розробки нових комбінованих таблеток «Фітаргін-комбі» на основі сухого екстракту з листя журавлини та амінокислот – L-аргініну, таурину і гліцину для профілактики та лікування ЦД2 та МС.

На першому етапі визначали можливу гіпоглікемічну дію фітокомпозиції за умов її одноразового введення у широкому діапазоні доз 25, 50, 75, 100 і 125 мг/кг, які обрані згідно даних щодо гепатопротекторної дії листя журавлини [119].

Отримані дані показали відсутність гіпоглікемічної дії фітокомпозиції в усіх досліджуваних дозах при одноразовому введенні, що дозволило припустити можливу антигіперглікемічну дію досліджуваного засобу.

Антигіперглікемічну дію фітокомпозиції вивчали за умови 14-денного введення за допомогою навантажувального ОТТГ до глюкози.

Встановлено, що фітокомпозиція у дозах 25, 50 і 75 мг/кг чинить низьку та помірну гіпоглікемічну дію, а підвищення дози до 100 та 125 мг/кг показало виражений гіпоглікемічний ефект, який проявився достовірним, близьким за значеннями, зменшенням гіперглікемії щодо значень позитивного контролю на 30-й хвилині спостереження на 21,0 % та 22,2 % відповідно.

За виразністю антигіперглікемічної дії фітокомпозиція у зазначених дозах достовірно не поступалася препарату порівняння таблеткам метформіну та перевершувала ефективність збору «Арфазетин» на 46 % та 49 % відповідно.

За площами під глікемічними кривими, отриманими під час проведення ОТТГ, фітокомпозиція в дозах 100 та 125 мг/кг також не поступалася таблеткам метформіну й перевищує збір «Арфазетин», що свідчить про виражені гіпоглікемічні властивості комбінованого засобу.

За результатами даного експерименту було зроблено попередній висновок про те, що виражений антигіперглікемічний ефект фітокомпозиції за умови тривалого застосування на глюкозного навантаження достовірно проявляється починаючи з дози 100 мг/кг і залишається стабільно однаковим при застосуванні вищої дози – 125 мг/кг.

На наступному етапі необхідно було довести ефективність дози 100 мг/кг за умов порушеної толерантності до глюкози, яку сьогодні вважають одним із надійних прогностичних маркерів розвитку ЦД 2 типу.

Проведення ОТТГ у 3-місячних щурів з порушеною толерантністю до глюкози, викликаній підшкірними ін'єкціями дексаметазону, продемонструвало виражений антигіперглікемічний ефект, який не відрізнявся від дії таблеток метформіну та був достовірно вищим за активність фітозбору «Арфазетин».

Отже, за результатами скринінгових досліджень фітокомпозиції на основі поліфенольного екстракту з листя журавлини великоплідної та амінокислот в дозах 100 і 125 мг/кг встановлено практично однакове пригнічення гіперглікемії у нормоглікемічних тварин та на фоні порушеної толерантності до глюкози, тому для подальших досліджень обрали дозу 100 мг/кг як умовнотерапевтичну.

З метою підтвердження ефективності антигіперглікемічної дії лікарської форми таблеток «Фітаргін-комбі» (ФК) у вказаній дозі, додатково було проведено скринінгове вивчення на моделі порушеної толерантності до глюкози, викликаній дексаметазоном. Серед досліджуваних доз стабільний виражений антигіперглікемічний ефект на рівні 36 %, як і в попередніх експериментах виявлено при застосуванні дози 100 мг/кг. Слід зазначити, що фармакологічна дія

таблеток «Фітаргін-комбі» практично не змінювалася при збільшенні дози до 125 мг/кг. За ступенем зниження вмісту глюкози в крові ФК не поступалися препарату порівняння метформіну та достовірно перевершували збір «Арфазетин».

Таким чином, ФК проявляє максимальний достовірний антигіперглікемічний ефект в дозі 100 мг/кг, що дозволило вважати дану дозу умовнотерапевтичною та застосовувати її у подальших експериментах.

Визначення параметрів гострої токсичності показало, що середньолетальні дози ФК перевищують 5000 мг/кг при внутрішньошлунковому введенні та 1000 мг/кг при внутрішньочеревинному введенні, що за класифікацією Hodge та Sterner дозволяє віднести ФК до V класу токсичності – «практично нетоксичні речовини».

Результати вивчення глікемії у тварин, що одноразово отримали ФК дозою 5000 мг/кг показали незначне недостовірне коливання глікемії у бік зменшення у всіх експериментальних тварин, яке знаходилося у межах фізіологічної норми.

На сьогодні доведено провідну роль ІР у патогенезі ЦД2 та МС [189], що призводить до розвитку артеріальної гіпертензії та атеросклерозу, які поступово приєднуються до ЦД2 й обумовлюють подальші тяжкі ускладнення [85,204]. Відомо, що споживання висококалорійної їжі призводить до ожиріння, яке тісно пов'язане з ризиком розвитку МС та ЦД2 [5].

Тому метою наступного етапу роботи було вивчення впливу ФК на метаболічні прояви ІР за умов експериментального МС у щурів, індукованого гіперкалорійною високоцукровою дієтою.

Тривале утримання тварин на гіперкалорійній високоцукрозній дієті призводило до ожиріння, оскільки приріст маси тіла у щурів КП став достовірно в 3 рази більшим за показник у групі ІК, характер розвитку глікемічних кривих, отриманих під час проведення ВЧТТГ, свідчив про наявність у тварин порушеної толерантності до глюкози. Інтегральний показник площі під глікемічними кривими в 1,6 рази перевищував відповідний показник у групі ІК, що також підтверджує наявність інтолерантності до глюкози у тварин КП. Розвивалась ІР, про що свідчило зниження чутливості периферичних тканин до дії інсуліну: КЧІ у групі КП був нижчим у 3 рази порівняно з ІК. Це свідчило про формування виразних

порушень обміну вуглеводів та розвиток синдрому ІР – однієї із ключових патогенетичних ланок МС.

В той же час незмінений рівень базальної глікемії у тварин цієї групи дає можливість заключити про наявність компенсаторної гіперінсулінемії.

При розвитку МС знижувались запаси глікогену у печінці в 2,1 рази, що підтверджує наявність печінкової резистентності до дії інсуліну, внаслідок чого активуються процеси глікогенолізу та глюконеогенезу; спостерігалось збільшення субстрату глюконеогенезу – ПВК у 1,7 рази та зниження активності СДГ у печінці у 2,2 рази, що свідчило про порушення енергозабезпечення клітин печінки.

При тривалому уведенні ФК у тварин поліпшувалася чутливість тканин до дії інсуліну, посилювалися процеси утилізації глюкози периферичними тканинами. Все це вказувало на відновлення вуглеводного обміну на тлі застосування ФК.

За ефективністю гальмування процесу глікозилювання ФК дозою 100 мг/кг переважав Арфазетин та діяв на рівні метформіну, що свідчить про його антигіперглікемічні властивості та можливу профілактичну дію щодо серцево-судинних ускладнень ЦД та МС [214].

Вказані ефекти ФК залежать перш за все від фенольних сполук журавлини, які за даними літератури, мають гіпоглікемічні, антиоксидантні та антидіабетичні властивості [26]. Механізм антигіперглікемічної дії поліфенолів пов'язаний з їх впливом на процес транспорту глюкози у клітину [67].

За умов формування МС спостерігали виразну гіпертригліцеридемію, гіперхолестеринемію, зростання рівня ВЖК та ЛПНГ. Вміст Хс-ЛПВГ виявляв невиразну тенденцію до підвищення. Описані зміни метаболізму ліпідів та ліпопротеїдів відповідають стану атерогенної дисліпідемії, що виступає фактором високого ризику розвитку серцево-судинних ускладнень [43]. ІР спричиняє зниження активності ліпопротеїнової ліпази та призводить до надмірного надходження ВЖК в кров із жирової клітковини.

На даній моделі МС спостерігали нормалізацію гіпертригліцеридемії, гіперхолестеринемії, вміст ЛПНГ, що свідчить про виразну гіполіпідемічну та гіпохолестеринемічну активності ФК.

Під впливом ФК вміст ВЖК у сироватці крові знижувався в 2,9 рази, що супроводжувалось нормалізацією ряду метаболічних ланок, зокрема, зменшення ліпотоксичного впливу високої концентрації ВЖК дозволяє припускати часткове відновлення тирозинпротеїнкіназної активності рецептору інсуліну, що призводить до послаблення виразності проявів ІР [26].

Згідно з даними літератури, високий рівень ВЖК у сироватці крові опосередковує розвиток низки небажаних метаболічних змін, зокрема – порушення функціонування інсулінових рецепторів та біосигнальних шляхів у клітині; активацію вільно радикальних процесів; інтенсифікацію утворення ендогенних ліпідів (насамперед – нейтральних жирів) та холестеролу, що у свою чергу супроводжується активною продукцією атерогенних фракцій ліпопротеїнів; зниження енергозабезпечення клітини через роз'єднання тканинного дихання та окисного фосфорилування [197]. Саме тому, зниження вмісту ВЖК за дії ФК є необхідною складовою для нормалізації перерахованих метаболічних порушень, викликаних високою концентрацією ВЖК. Імовірно, опосередкований внесок щодо нормалізації рівня ВЖК вносила також корекція синдрому ІР за дії ФК.

Отримані результати доводять, що ФК корегує дисліпідемічні порушення при МС на рівні метформіну, але переважає його за здатністю нормалізувати рівень Хс та достовірно перевершує Арфазетин за здатністю знижувати вміст ВЖК у сироватці крові.

В останні роки доведено, що оксидативний стрес є універсальним механізмом, який лежить в основі біохімічних порушень, індукованих гіперглікемією. При цьому пусковим моментом є зростання продукції вільних радикалів на мітохондріальному рівні внаслідок посиленого внутрішньоклітинного метаболізму глюкози [65]. Накопичено дані, що вказують на існування зв'язку між підвищеним рівнем вільних радикалів та ІР, яка є не тільки однією з ключових ланок патогенезу ЦД2, але й основною складовою МС та провідним чинником ризику судинної патології [110]. Беручи до уваги визначну роль активації вільнорадикальних процесів та залученні їх до патогенезу розвитку МС та його компонентів, наступним етапом нашої роботи було дослідження впливу ФК на

показники антиоксидантно-прооксидантної рівноваги.

Розвиток МС корелював із активацією процесу ПОЛ та виснаженням систем антиоксидантного захисту, свідченням чого було достовірне підвищення вмісту ТБК-реактантів в 2,3 рази на тлі зниження активності каталази у сироватці крові щурів з МС у 1,4 рази. Більш виразний дисбаланс у системі ПОЛ/АОС спостерігався у печінці, де відбувалося достовірне збільшення вмісту ТБК-Р в 2,6 рази та ДК 2 рази. Про виснаження захисних механізмів АОС свідчило вірогідне зниження в 2,7 рази GSH, в 2,5 рази СОД та каталази в 2,2 рази, що пояснюється великим навантаженням на печінку через надмірне надходження вуглеводів

ФК дозою 100 мг/кг у складі якого містяться арбутин, ХГК, таурин та інші природні біологічно активні речовини з відомими потужними антиоксидантними властивостями [128], гальмував інтенсивність ПОЛ, що відобразилось достовірним зниженням вмісту ТБК-Р і ДК, як в сироватці кров так і в печінці до інтактних показників та підвищенням рівня GSH, каталази і СОД й достовірно перевершував збір Арфазетин та метформін.

Таким чином, отримані результати свідчать про те, що застосування ФК дозою 100 мг/кг найбільш ефективно усуває наслідки окиснювального стресу, спричиненого продуктами ліпопероксидації, не поступаючись при цьому метформіну та Арфазетину.

Встановлена ефективність ФК за результатами біохімічних досліджень гомеостазу тварин була підтверджена морфологічними дослідженнями тканини підшлункової залози. Дослідження морфоструктури ПЗ показало що ФК, завдяки впливу на декілька патогенетичних ланцюгів МС, й особливо – антиоксидантним властивостям, чинив протекторну дію щодо β -клітин: покращував їх морфологічний стан, запобігав дистрофічним і некробіотичним змінам, що сприяло збереженню кількості функціонально активних середніх та великих ПО. Фарбування альдегід-фуксином показало насиченість цитоплазми більшості β -клітин у ПО специфічним синьо-фіолетовим кольором, що свідчило про достатню наявність гранул інсуліну. ФК запобігав виснаженню запасів глікогену та накопиченню жирів у печінці щурів. За вираженістю протекторного впливу на

інсулярний апарат ПЗ тварин ФК переважав Арфазетин та не поступався метформіну, а за ступенем відновлення порушених метаболічних змін у печінці перевищував обидва.

Виявлені у попередньому розділі виражені гіпоглікемічні, гіполіпідемічні, антиоксидантні та панкреопротекторні властивості ФК за умови МС стали обґрунтуванням для дослідження антидіабетичної дії природного засобу за умови експериментального ЦД2, викликаного різними чинниками.

Моделювання ЦД2 за допомогою дексаметазону характеризувалося розвитком комплексу порушень, притаманних МС та ЦД2, гіперінсулінемією та гіперглікемією [101], які можуть бути обумовлені зниженням утилізації глюкози периферичними тканинами внаслідок гальмування дексаметазоном експресії транспортерів глюкози GLUT 1 і GLUT4 [64].

Уведення протягом 14 днів ФК приводило до нормалізації вуглеводного обміну та підвищення чутливості периферичних тканин дослідних щурів до дії інсуліну, що підтверджувалося зменшенням гіперглікемії на 48%, гіперінсулінемії на 35%, зниженням індексу HOMA-IR на 45%.

Інсулін є потужним індуктором eNOS, активує надходження аргініну до клітин, чим стимулює продукцію NO. Гіперглікемія призводить до збільшення синтезу NO, але низької його доступності, яка активує NF-κB і тим самим породжує підвищену експресію індукцибельної NO-синтази й утворення АФК. Збільшення вмісту глюкози корелює зі зростанням утворення вільних радикалів, які, пошкоджуючи ліпідні та білкові компоненти структури клітин, сприяють накопиченню токсичних ліпопероксидів. Відповідно до збільшення продукції оксиду нітрогену зростає і вміст цитруліну, який нарівні з NO є продуктом реакції взаємодії аргініну з ферментом NO-синтази. Введення ФК позитивно впливало на маркери NO-синтазної системи, що проявлялось зменшенням рівня оксиду азоту на 33,5 % та цитруліну на 36 % і призводило до підвищення рівня аргініну на 56 % відносно контрольної групи.

Крім того, можна передбачати, що виразна гіполіпідемічна дія ФК пов'язана з антиоксидантними властивостями журавлини, оскільки відомо, що активація

вільнорадикальних процесів відіграє одну із провідних ролей у атерогенезі через окисні ушкодження ліпопротеїдів [27].

Під дією ФК рівень холестерину, загальних ліпідів та ТГ вірогідно знижувався в 1,4, 1,8 та 3,3 рази, відповідно, досягаючи рівня ІК. За застосування препаратів порівняння відбувалося достовірне зниження ТГ щодо значень КП, зменшувався рівень ЗЛ під дією метформіну, однак рівень Хс залишався підвищеним під впливом обох препаратів порівняння. При застосуванні досліджуваного фітозасобу спостерігалось підвищення концентрації Хс-ЛПВГ- в 1,4 рази та зниження концентрації Хс-ЛПНГ- в 1,4 рази відносно показників групи КП. За вираженістю гіполіпідемічної дії ФК переважав Арфазетин і дорівнював активності метформіну.

Добре відомо, що у патогенезі розвитку ЦД2 одна із ключових ролей належить інтенсифікації процесів вільнорадикального окиснення, що обумовлено формуванням метаболічного стресу внаслідок зростання концентрації ВЖК [218]. Порушення продукції жировою тканиною біологічно активних речовин, зокрема – прозапальних цитокінів, призводить до формування хронічного запалення, що супроводжується активацією вільнорадикальних процесів [202].

Стійка гіперглікемія при ЦД2 викликає АФК, які є фактором ризику розвитку макро- і мікрососудистих ускладнень при ЦД [215].

Ще одним фактором, що сприяє активізації вільнорадикального окиснення, є роз'єднання дихального ланцюга мітохондрій за дії ВЖК (які є протонофорами), внаслідок чого кисень приєднує лише один електрон, перетворюючись на вільний радикал. Згідно з даними численних досліджень, порушення антиоксидантно-прооксидантного балансу спричиняє каскад внутрішньоклітинних порушень – від окисного ушкодження ліпідного шару мембран до активації сигнальних шляхів, що запускають апоптоз [127,198]. Крім того, саме окисні модифікації ліпопротеїнів – один із головних факторів атерогенезу, оскільки відомо, що лише окиснені ліпопротеїни акцептуються рецепторами, що розташовані в інтимі судин [66].

Одним із способів запобігання активації процесів ПОЛ є застосування антиоксидантів, здатних гальмувати процес вільнорадикального окислення. За

умов десаметазон-індукованої ІР рівень ТБК-Р у гомогенаті печінки підвищувався у 2,6 рази, ДК – у 3,9 рази, а рівень GSH зменшувався у 2 рази, що свідчить про активацію процесів ПОЛ. Певною мірою це був передбачуваний результат, оскільки розвиток оксидативного стресу за умов ІР узгоджується з численними літературними даними [170,216].

Введення ФК попереджає розвиток оксидативного стресу в тканинах печінки на тлі експериментальної інсулінорезистентності пригнічуючи утворення активних форм кисню, і сприяє підвищенню активності ключових ферментів антиоксидантної системи. Застосування ФК супроводжувалося пригніченням виразності вільнорадикальних процесів, про що свідчило достовірне зниження вмісту як проміжних продуктів, так і кінцевих продуктів окиснення ліпідів - зменшення вмісту ДК у 3,3 рази, а ТБК-Р – 2,6 рази відносно групи тварин з контрольною патологією ($p \leq 0,05$).

Це співвідносилося зі зростанням активності GSH в 3 рази, порівняно з групою КП ($p \leq 0,05$), що свідчило про відновлення антиоксидантної системи захисту.

За здатністю відновлювати показники антиоксидантно-прооксидантного статусу ФК вірогідно перевищував ефективність збору «Арфазетин» та дорівнював активності метформіну. Основний компонент ФТ – сухий екстракт листя журавлини містить в своєму складі арбутин, флавоноїди, гідроксикоричні кислоти, які відомі своєю антиоксидантною активністю, тому можна передбачати наявність безпосереднього впливу екстракту щодо відновлення антиоксидантно-прооксидантної рівноваги [3].

Печінка є життєво важливим органом у метаболізмі, який відіграє важливу роль у регуляції гомеостазу глюкози. Визначення активності АлАТ, АсАТ та ГГТП може слугувати маркером дисфункції печінки, в тому числі у випадку ураження печінки, яке пов'язане з ІР та ризиком ЦД2. АлАТ вважається специфічним маркером ураження печінки та виявляється переважно в цьому органі, тоді як ГГТП мембраннов'язаний фермент, який дуже активний у печінці, ПЗ та нирках. ГГТП опосередковує поглинання глутатіону та, як вважають, збільшення її активності в

сироватці крові пов'язане з окислювальним стресом і хронічним запаленням, що, в свою чергу, вважаються важливими шляхами розвитку ЦД2 [73]. Таким чином, печінкові ферменти можуть бути біологічними маркерами, що допомагають діагностувати ураження печінки при ЦД2.

Встановлено, що за умов експериментальної дексаметазон-індукованого ЦД2 ФК чинив гепатопротекторну дію, що верифіковано зниженням активності в сироватці крові ферментів, які характеризують цілісність тканин печінки. Розвиток ЦД2 негативно впливав на стан печінки, активність досліджуваних ферментів зростала достовірно. Гепатопротекторна дія ФК доведена за статистично значущим зменшенням активності АлАТ і АсАТ у 2 рази відносно тварин з дексаметазон-індукованою інсулінорезистентністю.

Застосування ФК призвело до зменшення проявів холестатичного синдрому: спостерігалася нормалізація активності ЛФ та значне зниження активності ГГТП, відповідно у 1,4 та 1,8 рази.

Збір «Арфазетин», як препарат порівняння, також проявив гепатопротекторні властивості нормалізуючи рівень АлАТ, однак на інші маркери достовірно не впливав. Метформін сприяв значному поліпшенню зовнішньо-секреторної функції печінки та знижував активність маркерних ферментів, проте, на відміну від ФК, не нормалізував активність ЛФ.

Визначення впливу ФК на розвиток вторинної ІР проводили на класичній експериментальній моделі ЦД2, викликаного введенням стрептозотоцину з попереднім введенням нікотінамідом на тлі ВЖД. Дана модель за клінічними проявами адекватна ЦД2 у людини [46,161].

Розвиток ЦД2 у щурів супроводжувався вираженим підвищенням рівня базальної глікемії в середньому у 2,13 рази та інсуліну у 1,7 рази порівняно з ІК та зниженням чутливості периферичних тканин до глюкози та порушенням процесів її утилізації, про що свідчили результати НОМА-ІР.

Уведення досліджуваного фітозасобу піддослідним тваринам протягом 28 діб супроводжувалось достовірним зниженням усіх досліджуваних показників. Зокрема, рівень глюкози зменшився на 42,3%, гіперінсулінемія - на 36% порівняно

зі значеннями групи КП, в той час як під впливом Арфазетину рівень глюкози в крові не набував фізіологічних значень. Коефіцієнт чутливості до інсуліну у тварин, яким вводили ФК, наближався до значень ІК, в той час як Арфазетин не відновлював чутливість до гормону.

Розвиток ЦД2 у щурів супроводжувався вираженим зниженням запасів глікогену, що свідчить про активацію процесів глікогенолізу та підвищення глюконеогенезу у печінці тварин з групи КП, при цьому погіршувалися енергозабезпечення клітин печінки та деградація мембран гепатоцитів, про що свідчить зниження активності СДГ у 3,2 рази в печінці діабетичних щурів. На тлі застосування ФК відновлювався рівень глікогену в печінці та активність СДГ до півня ІК, в той час як під дією Арфазетину спостерігали тільки позитивну тенденцію до збільшення вмісту глікогену.

При моделюванні ЦД2 порушувались процеси утилізації глюкози, про що свідчило підвищення вмісту ПВК у 2,4 рази ($p < 0,05$) в сироватці крові щурів КП, тоді як при фітокорекції за допомогою Арфазетину даний показник знижувався відносно КП в 1,40 рази, ФК – у 1,8 рази ($p < 0,05$). Це свідчить про здатність фітозасобів позитивно впливати на процеси утилізації глюкози, а враховуючи те, що надмірне накопичення ПВК буває одним з факторів розвитку метаболічного ацидозу при ЦД2, можна зробити припущення і про їх позитивний вплив на кислотно-лужний баланс організму в цілому.

При введенні ФК протягом 4-х тижнів вміст глікозильованого гемоглобіну знизився на 36 %, при цьому за ефективністю впливу на процеси неферментативного глікозилювання досліджуваний засіб не відрізнявся від препарату порівняння «Метформін» та перевищував захисний вплив антидіабетичного фітозбору «Арфазетин» в 1,4 рази ($p < 0,05$).

Про порушення прооксидантно-антиоксидантного балансу свідчило зростання в крові тварин вмісту ТБК-реактивних у печінці у 2,5 рази порівняно з ІК, у сироватці крові – у 2,1 рази. Поряд з цим, у печінці тварин з діабетом реєстрували статистично значуще зниження активності каталази та виснаження пулу GSH, тобто порушення балансу окисно-відновлювальних процесів з переважанням

пероксидації ліпідів, про що свідчило підвищення $K_{red/ox}$ у 3 рази.

На тлі виснаження антиоксидантної системи у сироватці крові тварин контрольної патології достовірно підвищувався вміст АДФГ в 1,8 рази та КДФГ в 1,9 рази, що свідчило про значну активацію окиснення протеїнів.

За тривалого введення ФК відбувалася нормалізація процесів ПОЛ/АОС про що свідчило зниження рівня ТБК-Р в 2,7 рази у порівнянні з ІК, $K_{ПОЛ/АОС}$ до рівня ІК та пригнічення ОМБ: рівень ранніх та пізніх маркерів пошкодження клітинних білків був нижчим ніж у групі КП у середньому на 58 %, спостерігалось підвищення рівня антиоксидантних ферментів у гомогенаті печінки: каталази – в 1,4 рази та GSH – в 1,5 рази у порівнянні з КП. Арфазетин менш виражено впливав на гальмування процесів ПОЛ, активізацію АОС і не обмежував окиснювальну модифікацію білків.

Діабетична дисліпідемія – це сукупність порушень у ліпідному обміні, зокрема, підвищення рівня ЛПНГ в сироватці крові та зниження ЛПВГ. Таке порушення співвідношення вмісту ліпопротеїдів є надзвичайно атерогенним і супроводжується підвищеним рівнем ТГ у плазмі. У клінічній практиці це означає, що рівень ТГ слід підтримувати якомога нижчим у пацієнтів з ЦД2 [209].

Разом з тим відомо, що наявний сильний зворотний зв'язок між низьким рівнем ЛПВГ та ішемічною хворобою серця. Саме Хс-ЛПВГ, а не вміст Хс. Посилення синтезу Хс та ТГ у печінці сприяє синтезу ліпопротеїдів дуже низької густини (ЛПДНГ) у великій кількості. Дані ліпопротеїди, потрапляючи в кров'яне русло, піддаються дії ліпопротеїніпази, призводячи до утворення частинок ЛПНГ [183].

Особливості ліпідного спектру при ЦД2 характеризується гіперліпідемією, одним з факторів, який призводить до серцево-судинних захворювань. Підвищений рівень ТГ та ЛПНГ та низький рівень ЛПВГ навіть назвали «ліпідною тріадою». Такий стан обумовлений декількома причинами: в результаті ІР та недостатньої секреції інсуліну порушується постпрандіальна регуляція ліпідів, підвищується рівень ВЖК в сироватці крові, збільшується синтез печінкою ЛПДНГ та знижується їх гідроліз ліпопротеїніпазою, що призводить до зростання рівня

багатих на ТГ циркулюючих ліпопротеїдних частинок. Це призводить до зниження Хс-ЛПВГ за рахунок підвищеного переносу естерів Хс із ЛПВГ до ЛПДНГ і хіломікрони в обміні на ТГ [222].

Встановлена здатність ФК коригувати дисліпідемію, яка розвивається на тлі експериментального ЦД2, що підтверджено нормалізацією показників ліпідного спектру крові. В умовах експериментального ЦД2 у щурів групи КП вміст ТГ, Хс та ЛПНГ підвищувався у 2,7, 2 та 2,1 рази відповідно, а рівень Хс-ЛПВГ знижувався у 2,5 рази. За лікувально-профілактичного введення ФК вміст Хс знижувався в 2,3 рази, ТГ – в 3,5 рази, ЛПНГ – в 2 рази ($p < 0,05$) відносно групи КП. При цьому рівень антиатерогенної фракції Хс-ЛПВГ зростав, порівняно з аналогічним показником нелікованої групи, в 3,1 рази ($p < 0,05$). За здатністю пригнічувати атерогенні процеси та активізувати механізми антиатерогенного захисту ФК перевищував препарати порівняння.

Таким чином, встановлено виражену гіпохолестеринемічну та гіполіпідемічну дію ФК.

Гіперглікемія, гіперліпідемія та оксидативний стрес, які супроводжують ЦД2, і які спостерігались у щурів із експериментальним ЦД2, негативно впливають на ПЗ, що вимагає максимального захисту. При прогресуванні ЦД2 можуть бути залучені численні клітинно-специфічні відповіді, включно зі змінами передачі сигналу, починаючи з GLUT2 на ранніх стадіях [230], результатом яких є дисліпідемія, ураження печінки, оксидативний стрес у тканинах печінки та ПЗ та дегенеративні зміни ендокринної та, навіть, екзокринної частини ПЗ.

На основі отриманих даних встановлено, що стан ЦД2 після введення стрептозотоцину і нікотинамід у на тлі ВЖД призводить до виникнення морфологічних ознак певної пригніченості інсулярного апарату. Насамперед це проявляється у підвищенні чисельності дрібних панкреатичних островців та зменшенню частки середніх; посилений режим функціонування β -клітин призводить до гіпертрофії та дистрофії і, в подальшому, до їхньої загибелі та різного ступеню спустошеності, що є характерним для картини ЦД2.

У печінці щурів групи КП спостерігали різної виразності дифузні дистрофічні та некробіотичні зміни гепатоцитів. Унаслідок ШИК-реакції виявлено виразне зменшення інтенсивності фарбування цитоплазми гепатоцитів (зменшення глікогену), а після фарбування суданом – накопичення жирових крапель. Спостерігалась мікроскопічна картина токсико-дистрофічних змін з порушенням жирового, вуглеводного та білкового обмінів.

Встановлена ефективність ФК за результатами фармакологічних досліджень була підтверджена гістологічними дослідженнями тканини ПЗ [115]. Дослідження морфоструктури ПЗ показало, що ФК, завдяки впливу на декілька патогенетичних ланцюгів ЦД2, й особливо – антиоксидантним властивостям, виявляв виражений цитопротекторний ефект щодо β -клітин: покращував їх морфологічний стан, запобігав дистрофічним та некробіотичним змінам. Морфометрично збільшилась на 70 % ($p < 0,001$) оптична щільність ПО проти КП. Частка дрібних ПО зменшилася на 46,46 % ($p < 0,01$), а середніх ПО збільшилась у 2,9 рази ($p < 0,001$).

Спостерігали позитивний вплив ФК і на гістологічний стан печінки щурів. Радіальний балковий малюнок гепатоцитів не змінений. Не візуалізувалися цитоліз та каріолізис, прояви апоптозу [38].

Після аналогічного за схемою введення Арфазетину частина ПО містила дегенеративно та дистрофічно змінені β -клітини, була спустошена, у них спостерігали помірну проліферацію клітин з дрібними компактними темними ядрами і невеликою смужкою цитоплазми.

Морфометричний аналіз засвідчив підвищення на 63 % ($p < 0,001$) оптичної щільності ПО проти КП. Частка дрібних і середніх ПО змінювалась щодо патології: у 2,2 (менше) та у 2,6 рази (більше, $p < 0,001$) відповідно. Інтенсивність альдегід-фуксинофільного забарвлення становила 2,3 бала ($p < 0,05$). Гепатоцити у більшості тварин були дистрофічно змінені, жирові вакуолі мали дрібнокрапельний характер та були мозаїчно виявлені у всіх щурів.

Мікроскопічна картина інкреторного апарату щурів із ЦД2 після введення метформіну була така: частина ПО була візуально не змінена, частина – з ознаками зональної спустошеності й дистрофії клітин. Отримані гістологічні результати

печінки свідчать про наявність ознак гепатолізису, дрібно-крапельної дистрофії в окремих гепатоцитах.

За даними гістологічних досліджень і морфометричного аналізу доведено захисний вплив ФК на структурно-функціональний стан ПЗ та печінки на тлі експериментального ЦД2фи. За виразністю протекторного впливу на β -клітини ПЗ щурів та печінку ФК суттєво переважав препарати порівняння - Арфазетин і метформін.

Таким чином, результати фармакологічного вивчення ФК підтверджують доцільність його впровадження як ефективного антидіабетичного засобу для застосування у комплексній фармакотерапії ЦД2 та інсулінорезистентних станів. Встановлені антигіперглікемічна, антиоксидантна, гепатопротекторна, антиатерогенна дія ФК обумовлюють комплексну антидіабетичну дію засобу та можуть забезпечити профілактику мікро- та макросудинних ускладнень, впливаючи на ключові ланки патогенезу ЦД2.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі теоретично обґрунтовано та експериментально вирішено актуальне завдання фармакології по пошуку нових оригінальних засобів природного походження з антигіперглікемічною дією для профілактики та корекції цукрового діабету 2 типу та метаболічного синдрому.

1. При проведенні орального та внутрішньоочеревинного тестів толерантності до глюкози встановлена умовнотерапевтична доза сухого екстракту листя журавлини 100 мг/кг, яка спричиняє виражений антигіперглікемічний ефект на рівні 40% ($p < 0,05$). За вираженістю антигіперглікемічної дії сухий екстракт імбиру лікарського дозою 100 мг/кг не поступається метформіну у дозі 60 мг/кг та достовірно перевершує в 1,3 рази активність збору «Арфазетин» у дозі 18 мг/кг за умови орального тесту толерантності до глюкози. На моделі порушення толерантності до глюкози у щурів, викликаній дексаметазоном, встановлені виражені антигіперглікемічні властивості таблеток комбінованого складу «Фітаргін-комбі» у дозі 100 мг/кг. Під їх впливом рівень глікемії знижувався на 35,7% ($p < 0,05$), що можна порівняти з дією метформіну, який забезпечував зниження глікемії на 40,4%.

2. Одноразове внутрішньошлункове введення Фітаргін-комбі в дозі 5000 мг/кг не змінювало рівень глюкози у крові через 30, 60, 120 хвилин та через добу після введення, що свідчить про відсутність гіпоглікемічної дії у нормоглікемічних тварин і визначає його переваги перед синтетичними гіпоглікемічними препаратами. У ході вивчення параметрів гострої токсичності встановлено, що середньолетальні дози Фітаргін комбі для щурів обох статей перевищують 5000 мг/кг при внутрішньошлунковому введенні та 1000 мг/кг при внутрішньоочеревинному введенні, що свідчить про відсутність статевої чутливості до рослинного екстракту та за класифікацією Hodge та Sterner дозволяє віднести Фітаргін комбі до V класу токсичності – «практично нетоксичні речовини»

3. На моделі метаболічного синдрому встановлено, що комбінований засіб Фітаргін-комбі дозою 100 мг/кг сповільнював зростання маси тіла тварин,

достовірно підвищував толерантність до глюкози в 1,8 рази та синтез глікогену в печінці в 2,2 рази, знижував інсулінорезистентність в 2,9 рази, покращував процеси енергозабезпечення клітин печінки, підвищуючи активність сукцинатдегідрогенази в 2,2 рази та пригнічував глюконеогенез, зменшуючи рівень піровиноградної кислоти в 1,7 рази, перевершуючи за активністю збір Арфазетин дозою 18 мл/кг та не поступаючись метформіну дозою 60 мг/кг. У механізмі дії Фітаргін-комбі виявлені антиатерогенні властивості, які проявлялись нормалізацією ліпідного спектру (достовірно знижував вміст Хс в 2,4 рази, ВЖК у 2,8 рази, ЛПНГ у 2 рази, ТГ у 2,5 рази). Фітаргін-комбі значно обмежував процеси пероксидації ліпідів (достовірно знижував вміст у гомогенатах печінки ТБК-реактантів в 2,5 рази, ДК в 2 рази перевершуючи обидва препарати порівняння) та відновлював стан антиоксидантної системи за рахунок підвищення рівня відновленого глутатіону, каталази та супероксиддисмутази в 2,9, 2,1 та 2,3 рази відповідно у гомогенатах печінки ($p < 0,05$).

4. На моделі дексаметазон-індукованого ЦД2 застосування Фітаргін-комбі підвищував чутливість периферичних тканин дослідних щурів до дії інсуліну, що підтверджувалося зменшенням гіперглікемії на 48%, гіперінсулінемії на 35%, зниженням індексу НОМА-IR на 45%. Введення ФК позитивно впливало на маркери NO-синтазної системи, що проявлялось зменшенням рівня оксиду азоту на 33,5 % та цитруліну на 36 % і призводило до підвищення рівня аргініну на 56 % відносно контрольної групи.

Під впливом Фітаргін-комбі достовірно нормалізувався ліпідний обмін (зниження рівень холестерину, загальних ліпідів та ТГ вірогідно знижувався в 1,4, 1,8 та 3,3 рази, відповідно, досягаючи рівня ІК; підвищення концентрації Хс-ЛПВГ- в 1,4 рази та зниження концентрації Хс-ЛПНГ- в 1,4 рази відносно показників групи контролю.).

Введення Фітаргін-комбі попереджає розвиток оксидативного стресу в тканинах печінки на тлі десаметазон-індукованої ІР, пригнічуючи утворення АФК, і сприяє підвищенню активності ключових ферментів антиоксидантної системи. Вміст ТБК-Р знижувався в 2,6 рази, ДК – у 3,3 рази відносно групи тварин з

контрольною патологією ($p \leq 0,05$). Резерв GSH зростав в 3 рази порівняно з групою контролю ($p \leq 0,05$).

Гепатопротекторна дія ФК доведена за статистично значущим зменшенням активності АлАТ і АсАТ у 2 рази відносно тварин з дексаметазон-індукованою інсулінорезистентністю; зменшення проявів холестатичного синдрому підтверджувалось нормалізацією активності ЛФ та значне зниження активності ГГТП, відповідно у 1,4 та 1,8 рази. За гіпоглікемічною, гіполіпідемічною та антиоксидантною дією Фітаргін-комбі перевищував активність Арфазетину і метформіну.

5. На моделі ЦД2, викликаного введенням стрептозотоцину з попереднім введенням нікотінамідом на тлі ВЖД, встановлений виразний позитивний вплив Фітаргін-комбі на порушений вуглеводний обмін, що підтверджується достовірним зменшенням рівень глюкози на 42,3%, гіперінсулінемія - на 36%, зниженням індексу НОМА-IR на 45,6%, що свідчило про підвищення чутливості периферичних тканин до дії інсуліну; зростанням рівня глікогену у печінці в 1,9 рази та СДГ в 3,5 рази порівняно зі значеннями групи КП; зниженням рівня ПВК у 1,8 рази відносно КП, що свідчить про посилення процесів утилізації глюкози, а враховуючи те, що надмірне накопичення ПВК буває одним з факторів розвитку метаболічного ацидозу при ЦД2, можна зробити припущення про його позитивний вплив на кислотно-лужний баланс організму в цілому.

Фітаргін-комбі за умов лікувально-профілактичного введення нормалізував процеси ПОЛ/АОС, про що свідчило зниження рівня ТБК-Р в 2,7 рази у порівнянні з контролем, $K_{\text{ПОЛ/АОС}}$ до рівня ІК та пригнічення ОМБ: рівень ранніх і пізніх маркерів пошкодження клітинних білків був нижчим ніж у групі КП у середньому на 58 %, підвищувався рівень антиоксидантних ферментів у гомогенаті печінки: каталази – в 1,4 рази та GSH – в 1,5 рази у порівнянні з КП. Фітаргін комбі проявив виражений гіполіпідемічний та гіпохолестеринемічний ефект: вміст Хс знижувався в 2,3 рази, ТГ – в 3,5 рази, ЛПНГ – в 2 рази ($p < 0,05$). При цьому рівень антиатерогенної фракції Хс-ЛПВГ під впливом фітозасобу зростав, порівняно з аналогічним показником нелікованої групи, в 3,1 рази ($p < 0,05$). За здатністю

пригнічувати нормалізувати вуглеводний обмін, антиоксидантні та атерогенні процеси Фітаргін комбі значно перевищував препарати порівняння

6. За даними гістологічних досліджень і морфометричного аналізу, які здійснювали на тваринах з МС та ЦД2, викликаним уведенням дексаметазону, визначено панкреопротекторні властивості Фітаргін-комбі: у 100% тварин покращувався морфологічний стан β -клітин, зменшувалася їх вакуолізація, запобігались дистрофічні та некробіотичні зміни, що сприяло збереженню кількості функціонально активних середніх та великих островців ПЗ. Фітаргін-комбі запобігав виснаженню запасів глікогену та накопиченню жирів у печінці щурів. Оптична щільність ПО зростала після введення Фітаргін-комбі на 70%. За вираженістю протекторного впливу на інсулярний апарат ПЗ тварин Фітаргін-комбі переважав Арфазетин та не поступався метформіну, а за ступенем відновлення порушених метаболічних змін у печінці перевищував обидва.

7. Доведено виразну антидіабетичну дію комбінованого засобу Фітаргін-комбі, що дає підставу для подальших доклінічних та клінічних досліджень фітозасобу як ефективного лікарського препарату для фармакотерапії цукрового діабету 2 типу та корекції проявів метаболічного синдрому, як у вигляді монотерапії, так і у комплексі з пероральними цукрознижуючими засобами.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Алієв Р.Б. Епідеміологія метаболічного синдрому та концепції механізмів його розвитку. *Український журнал медицини, біології та спорту*. 2022. Т. 7. № 5(39). С. 8–14. <https://doi.10.26693/jmbs07.05.008>
2. Аналіз системи лікування та розрахунок економічних втрат від цукрового діабету в Україні. Київська школа економіки. Київ, 2020. 30 с.
3. Анісімова М. С., Кононенко Н. М. Вплив фітокомпозиції на основі сухого екстракту з листя журавлини та амінокислот на стан оксидантно-прооксидантного гомеостазу підшлункової залози за експериментальної інсулінорезистентності. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція: тез доп. VII наук.-практ. internet-конф. з міжнар. участю* (м. Харків, 14 лист. 2024 р.). Харків, 2024. С. 85-87.
4. Боєчко Ф. Ф., Боєчко Л. О., Шмиголь І. В. Лабораторний практикум з біохімії: навч.-метод. посіб. 2-ге вид., перероб. і допов. Черкаси: ЧНУ ім. Богдана Хмельницького, 2015. 279 с.
5. Бондаренко О.О., Сорочка М.І. Метаболічний синдром: довгий шлях еволюції – від повного заперечення до всесвітнього визнання проблеми. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2018. № 3. С. 13–19.
6. Влізло В. В., Федорук Р. С., Ратич І. Б. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: довідник. Львів: СПО-ЛОМ, 2012. 764 с.
7. Воскобойнікова Л., Богуславський Є., Довжук В., Коновалова Л., Довжук Н. Аспекти використання антидіабетичних засобів у фармацевтичній практиці на основі раціональної фармакотерапії. *Клінічна та профілактична медицина*. 2024. № 3 (33). С. 13-20. <https://doi.org/10.31612/2616-4868.3.2024.02>.
8. Гарник Т. П., Андріюк Л. В., Петріщева В. О., Гарник К. В., Мацко Н. В. Лікарські засоби рослинного походження у комплексній терапії і медичній

реабілітації хворих із деякими ендокринними захворюваннями. *Фітотерапія. Часопис*. 2018. № 2. С. 17–22.

9. Горбенко Н. І. Патогенетичне обґрунтування ефективності похідного янтарної кислоти – фенсукциналау в терапії цукрового діабету та його судинних ускладнень (експериментальне дослідження): автореф. дис. д-ра. біол. наук. Харків, 2004. 36 с.

10. Горбенко Н. І., Боріков О. Ю., Іванова О. В. Моделювання метаболічного синдрому різного генезу в експериментальних тварин: метод. реком. Харків, 2019. 38 с.

11. Горбенко Н. І., Полторак В. В., Караченцев Ю. І. Експериментальний цукровий діабет: патофізіологічна характеристика та особливості моделювання: монографія. Харків: ТОВ «Планета-Прінт», 2020. 100 с.

12. Гуржій О. В. Клінічна інтерференція при оцінці рівня глікозилизованого гемоглобіну. Опис клінічного випадку. *Ендокринологія*. 2021. Т. 26, № 2. С.199-204. <https://doi.org/10.31793/1680-1466.2021.26-2.199>.

13. Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рек. / за ред. О. В. Стефанова. Київ: Авіценна, 2001. 528 с.

14. Дуб А. І., Кліщ І. М., Вронська Л. В., Стечишин І. П. Вивчення гіпоглікемічної дії фітозасобу, що містить сухі екстракти листя шовковиці білої, стулок квасолі звичайної і пагонів чорниці. *Медична і клінічна хімія*. 2018. № 3. С. 43–49.

15. Ежнед М. А., Грошовий Т. А., Горошко О. М. Особливості цукрознижувальної дії сухого екстракту з коренів і кореневищ оману високого залежно від дози. *Фармацевтичний часопис*. 2015. № 3. С. 63–65.

16. Загайко А.Л., Брюханова Т.О., Шкапо А.І. Модифікація методу моделювання експериментальної інсулінорезистентності у щурів: Інформаційний лист Укрмедпатентінформу про нововведення в системі ОхорониЗдоров'я. № 86-2015, Київ. 4 с.

17. Ілащук Т., Бачук-Понич Н. Метаболічний синдром як медико-соціальна проблема. Режим доступу: <https://www.bsmu.edu.ua/blog/3446->

metabolichnyi-sindrom-yak-medikosotsialna-problema/ (дата звернення 15.01.2024).

18. Калмикова Ю.С. Поширеність ожиріння та метаболічного синдрому у осіб молодого віку: сучасний стан проблеми. *Rehabilitation & Recreation*. 2023. № 14. С. 49–55. <https://doi.org/10.32782/2522-1795.2023.14.5>

19. Ковалевська І. В., Рубан О. А., Євтушенко О. М. Дослідження асортименту препаратів для лікування цукрового діабету II типу на фармацевтичному ринку України. *Фармацевтичний журнал*. 2019. № 2. С. 13-23. <https://doi.org/10.32352/0367-3057.2.19.02>

20. Компанець І.В., Остапченко Л.І. Дослідження мембранних білків та ліпідів: навч. посіб. (для студентів ННЦ «Інститут біології»). Київ, 2013. 159 с.

21. Компендіум 2019 - лікарські препарати / за ред. В. М. Коваленка. Київ: МОРІОН, 2019. 2480 с.

22. Кононенко Н. М., Анісімова М. С. Вплив нової фітокомпозиції на основі екстракту з листя журавлини великоплідної та амінокислот на стан підшлункової залози й печінки щурів на моделі цукрового діабету 2 типу. *News of pharmacy*. 2024. №2 (108). С. 85-96. <https://doi.org/10.24959/nphj.24.149>.

23. Кононенко Н. М., Танська М. С. Вивчення ліпотропної активності фітокомпозиції на основі сухого екстракту з листя журавлини та амінокислот на моделі інсулінорезистентності у щурів. *Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації*: тез доп. IV наук.-практ. конф. студентів та молодих вчених з міжнар. участю (м. Харків, 19 трав. 2022 р.). Харків, 2022. С. 199-201.

24. Кононенко Н. М., Танська М. С. Вплив нової фітокомпозиції на процеси неферментативного глікозилювання, показники ліпідного обміну та баланс пероксидного окиснення ліпідів на моделі цукрового діабету 2 типу. *Фітотерапія. Часопис*. 2024. № 2. С. 97–103. <https://doi.org/10.32782/2522-9680-2024-2-97>.

25. Кононенко Н. М., Танська М. С. Вплив нової фітокомпозиції на формування ендотеліальної дисфункції та глюкозний гомеостаз у щурів за експериментальної інсулінорезистентності. *Health & Education*. 2024. Вип. 3. С. 64-69. <https://doi.org/10.32782/health-2024.3.8>.

26. Кононенко Н. М., Танська М. С. Дослідження антигіперглікемічних властивостей нової фітокомпозиції на моделі цукрового діабету 2 типу. *Фітотерапія. Часопис*. 2023. № 4 (55). С. 22-26. <https://doi.org/10.32782/2522-9680-2023-4-22>.

27. Кононенко Н. М., Танська М. С. Дослідження впливу фітокомпозиції на процеси неферментативного глікозилювання, активність цитолітичних процесів, показники ліпідного обміну та баланс пероксидного окиснення ліпідів на експериментальній моделі цукрового діабету 2 типу. *Сучасні аспекти досягнень фундаментальних та прикладних медико-біологічних напрямків медичної та фармацевтичної освіти та науки: матеріали I наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. участю, яка присвячена до 90-ї річниці з дня народження професора Л.Т.Киричок (м. Харків, 17 лист. 2022 р.)*. Харків, 2022. С. 100-104.

28. Кононенко Н. М., Танська М. С. Перспективи створення фітокомпозиції на основі сухого екстракту з листя журавлини та амінокислот для лікування метаболічного синдрому та цукрового діабету 2 типу. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція: тези доп. IV наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. участю (м. Харків, 18 лист. 2021 р.)*. Харків, 2021. С. 145-147.

29. Кононенко Н. М., Танська М.С., Чікіткіна В.В. Скринінг можливої гіпоглікемічної дії фітокомпозиції на основі екстракту з листя журавлини великоплідної та амінокислот при однократному введенні нормоглікемічним щурам. *Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації: тез доп. VI наук.-практ. конф. студентів та молодих вчених з міжнар. участю (м. Харків, 16 трав. 2024 р.)*. Харків, 2022. С. 121-122.

30. Кучеренко М. Е., Бабенюк Ю. Д., Войціцький В. М. Сучасні методи біохімічних досліджень: навч. посіб. Київ: Фітосоціоцентр, 2001. 424 с.

31. Левчук Н. І., Лукашеня О. С., Ковзун О. І. Експериментальне моделювання метаболічного синдрому, індукованого дієтою, у лабораторних тварин. *Ендокринологія*. 2021. Т. 26 (3). С. 298–310. <https://doi.org/10.31793/16801466.2021.263.298>.

32. Методичні рекомендації до спецкурсу і спецпрактикуму «Визначення структури та функцій біологічних мембран» (для студентів ННЦ «Інститут біології» (Упорядник – І. В. Компанієць). Київ, 2013. 45 с.

33. Насібуллін Б.А., Гуща С.Г., Олешко О.Я., Бахолдіна О.І., Кожем'якін Ю.М., Ярошенко Н.О. Робота з лабораторними тваринами: догляд та відтворення моделей патологічних станів (посібник). Одеса: «Поліграф», 2023. 96 с.

34. Петровська І., Салига Ю., Вудмаска І. Статистичні методи в біологічних дослідженнях: навч.-метод. посіб. Київ: Аграрна наука, 2022. 172 с.

35. Погребняк О.О. Недооцінені грані метформіну в профілактиці та лікуванні предіабету та цукрового діабету 2-го типу в світлі сучасних рекомендацій. *Ліки України*. 2023. №1 (267). С. 8-12. [https://doi.org/10.37987/1997-9894.2023.1\(267\).281395](https://doi.org/10.37987/1997-9894.2023.1(267).281395)

36. Порядок проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах: Наказ Міністерства освіти, молоді та спорту України від 01.03.2012 р. № 249. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0416-12#Text> (дата звернення 12.01.2023).

37. Предіабет і цукровий діабет: стратегії, що допомагають зупинитися вчасно. *Здоров'я України 21 сторіччя*. 2020. № 24 (493). С. 51–52. URL: <https://health-ua.com/article/63342-predabet--tcukrovij-dabet--strateg-shodopomagayut-zupinitisya-vchasno> (дата звернення 19.05.2024).

38. Савич А. О., Марчишин С. М., Лар'яновська Ю. Б. Дослідження гепатопротекторного впливу збору антидіабетичного на гістологічний стан печінки щурів зі стрептозотоцин-нікотинамід-індукованим цукровим діабетом 2 типу. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2016. № 4 (4). С. 36–42.

39. Страхова О.П. Статистичні методи опрацювання результатів медично-біологічних досліджень: навч.-метод. посіб. Київ, 2023. 164 с.

40. Танська М. С., Кононенко Н. М. Вивчення параметрів гострої токсичності фітокомпозиції на основі сухого екстракту з листя журавлини та амінокислот. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція: тези доп. V наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. участю* (м. Харків, 17 лист. 2022 р.). Харків, 2022. С. 317-318.

41. Тронько М. Д., Калинська Л. М., Топорова О. К., Ковзун О. І., Гулько Т. П., Кордюм В. А. Дослідження терапевтичних ефектів введення рекомбінантних молекул днк, що містять цільовий ген препроінсуліну людини, на моделях стрептозотоциніндукованого діабету у мишей і щурів. *Ендокринологія*. 2016. Т. 21, № 4. С. 321-326.

42. Тронько М.Д., Большова О.В., Соколова Л.К., Бельчіна Ю.Б. Цукровий діабет 2-го типу: етіологія, патогенез, клініка, діагностика та лікування. *Практикуючий лікар*. 2021. Т.10, № 4. С. 35-44.

43. Цитовский М.Н. Статистичні, клінічні та морфологічні аспекти впливу цукрового діабету на стан серцево-судинної системи. *Наук. вісник Ужгородського університету, серія "Медицина"*. 2017. №1 (55). Р. 168-177.

44. Чікіткіна В., Танська М. С. Скринінгові дослідження гіпоглікемічної дії фітокомпозиції на основі поліфенольного екстракту з листя журавлини та амінокислот. *Сучасна медицина, фармація та психологічне здоров'я*. 2024. Вип. 1(15). С. 119-125. <https://doi.org/10.32689/2663-0672-2024-1-21>.

45. Шаєнко З. О., Попруга А. О., Лігоненко О. В. Патогенез та перебіг цукрового діабету 2 типу на тлі ожиріння. *Світ медицини та біології*. 2021. № 2 (76). С. 159–162. <https://doi.org/10.26724/2079-8334-2021-2-76-159-162>

46. Abduh M. S. Arbutin ameliorates hyperglycemia, dyslipidemia and oxidative stress and modulates adipocytokines and PPAR γ in high-fat diet/streptozotocin-induced diabetic rats. *Life sciences*. 2023. № 321. Art. 121612. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2023.121612>.

47. Achari A. E., Jain S. K. l -Cysteine supplementation increases insulin

sensitivity mediated by upregulation of GSH and adiponectin in high glucose treated 3T3-L1 adipocytes. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2017. № 630. P. 54-65. <http://doi.org/10.1016/j.abb.2017.07.016>.

48. Aedh A. I. Glimpse into Milestones of Insulin Resistance and an Updated Review of Its Management. *Nutrients*. 2023. № 15(4). P.921. <https://doi.org/10.3390/nu15040921>.

49. Agrawal N. Recent Advances of α -Glucosidase Inhibitors: A Comprehensive Review. *Current topics in medicinal chemistry*. 2022. № 22 (25). P. 2069–2086. <https://doi.org/10.2174/1568026622666220831092855>.

50. Akinmokun A., Selby P. L., Ramaiya K. The short insulin tolerance test for determination of insulin sensitivity: a comparison with euglycaemic clamp. *Diabet. Med.* 1992. Vol. 9, № 5. P. 432–437.

51. Aktan R., Yılmaz H., Demir İ., Özalevli S. Agreement between tele-assessment and face-to-face assessment of 30-s sit-to-stand test in patients with type 2 diabetes mellitus. *Irish Journal of Medical Science*. 2022. P. 1-6. <https://doi.org/10.1007/s11845-022-03238-w>

52. Alam M. A., Subhan N., Hossain H., Hossain M. Hydroxycinnamic acid derivatives: a potential class of natural compounds for the management of lipid metabolism and obesity. *Nutrition & Metabolism*. 2016. № 13. P. 27. <https://doi.org/10.1186/s12986-016-0080-3>.

53. Alam S. Antidiabetic Phytochemicals from Medicinal Plants: Prospective Candidates for New Drug Discovery and Development. *Front. Endocrinol.* 2022. № 13. P. 800714. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.800714>.

54. Alaofè H., Amoussa Hounkpatin W., Djrolo F. Factors Associated with Quality of Life in Patients with Type 2 Diabetes of South Benin: A Cross-Sectional Study. *International journal of environmental research and public health*. 2022. Vol.19, № 4. P. 2360. <https://doi.org/10.3390/ijerph19042360>.

55. American Diabetes Association Professional Practice Committee; 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: *Standards of Medical Care in Diabetes—*

2022. *Diabetes Care* 1 January 2022; 45 (Supplement_1): S17–S38. <https://doi.org/10.2337/dc22-S002>.

56. American Diabetes Association. Pharmacologic approaches to glycemic treatment: Standards of Medical Care in Diabetes-2019. *Diabetes Care*. 2019. Vol. 42, Suppl. 1. P. 90-102.

57. Anisimova M., Kononenko N., Chikitkina V. Effect of a new phytocomposition based on polyphenolic extract from cranberry leaves and amino acids on the state of the pancreas in metabolic syndrome. *Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science»*. 2024. № 6 (52). P. 47-59. DOI: 10.15587/2519-4852.2024.318509.

58. Arunkumar E. A., Sushil K. J. l-Cysteine supplementation increases insulinsensitivity mediated by upregulation of GSH and adiponectin in high glucose treated 3T3-L1 adipocytes. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2017. № 630. P. 54-65. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2017.07.016>.

59. Bhat G.A., Khan H.A., Alhomida A.S., Sharma P., Singh R.LP-I secretion in healthy and diabetic Wistar rats in response to aqueous extract of *Momordica charantia*. *BMC Complement Altern Med*. 2018. № 18. P. 162. <https://doi.org/10.1186/s12906-018-2227-4>.

60. Boland B.B., Rhodes C.J., Grimsby J.S. The dynamic plasticity of insulin production in β -cells. *Mol Metab*. 2017. № 6 (9). P. 958-973. <https://doi.org/10.1016/j.molmet>.

61. Botta M. PPAR Agonists and Metabolic Syndrome: An Established Role? *Int J Mol Sci*. 2018. № 19(4). P. 1197. <https://doi.org/10.3390/ijms19041197>.

62. Buege J. A., Aust S. D. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol*. 1978. № 52. P. 302-310. [http://dx.doi.org/10.1016/s0076-6879\(78\)52032-6](http://dx.doi.org/10.1016/s0076-6879(78)52032-6).

63. Beutler E., Duron O., Kelly BM. Improved method for the determination of blood glutathione. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. 1963. Vol. 61. № 5. P. 882-888.

64. Buren J., Ereksso J. Dexamethasone decreases GLUT 1 and GLUT 4 content in primary cultured rat adipocytes. *Diabetology*. 1999. 42 (1). P. A170.

65. Burgos-Morón E. Relationship between oxidative stress, ER stress, and inflammation in type2 diabetes: the battle continues. *J Clin Med*. 2019. № 8(9). P. 1385. <https://doi.org/10.3390/jcm8091385>.
66. Cai Z. Amelioration of Endothelial Dysfunction in Diabetes: Role of Takeda G Protein-Coupled Receptor 5. *Front Pharmacol*. 2021. № 12. P. 637051. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.637051>.
67. Chadt A., Al-Hasani H. Glucose transporters in adipose tissue, liver, and skeletal muscle in metabolic health and disease. *Pflugers Arch*. 2020. № 472(9). 1273-1298. <http://dx.doi.org/10.1007/s00424-020-02417-x>.
68. Chaimum-aom N., Chomko S., Talubmook C. Toxicology and Oral Glucose Tolerance Test (OGTT) of Thai Medicinal Plant Used for Diabetes control, *Phyllanthus acidus* L. (EUPHORBIACEAE). *Pharmacognosy Journal*. 2017. № 9 (1)58–61. <https://doi.org/10.5530/pj.2017.1.11>.
69. Chatterjee S., Khunti K., Davies M.J. Type 2 diabetes. *Lancet*. 2017. Vol. 389. P. 2239–2251. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)30058-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)30058-2).
70. Chinedu E., Arome D., Ameh F. S. A new method for determining acute toxicity in animal models. *Toxicology International*. 2013. Vol. 20, № 3. P. 224–226. <https://doi.org/10.4103/0971-6580.121674>.
71. Clemmensen C. Oral L-arginine stimulates GLP-1 secretion to improve glucose tolerance in male mice. *Endocrinology*. 2013. № 154(11). P. 3978-83. <https://doi.org/10.1210/en.2013-1529>.
72. Confederat L., Constantin S., Lupașcu F., Pânzariu A. Hypoglycemia Induced by Antidiabetic Sulfonylureas. *Revista medico-chirurgicala a Societatii de Medici si Naturalisti din Iasi*. 2015. № 119(2). P. 579–584. PMID: 26204670.
73. Corona-Pérez A, Díaz-Muñoz M, Cuevas-Romero E. Interactive effects of chronic stress and a high-sucrose diet on nonalcoholic fatty liver in young adult male rats. *Stress*. 2017. № 20 (6). P. 608-617. <https://doi.org/10.1080/10253890.2017.1381840>.
74. Correa L. B. Methyl gallate attenuates inflammation induced by Toll-like receptor ligandsby inhibiting MAPK and NF-Kb signaling pathways. *Inflammation*

research. 2020. № 69 (12). P. 1257–1270. <https://doi.org/10.1007/s00011-020-01407-0>.

75. Costello R.A., Nicolas S., Shivkumar A. Sulfonylureas. 2023 Mar 7. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan. PMID: 30020597 (дата звернення 04.02.2024).

76. Dabelea D. Association of type 1 diabetes vs type 2 diabetes diagnosed during childhood and adolescence with complications during teenage years and young adulthood. *Jama*. 2017. Vol. 317, №. 8. P. 825-835. <https://doi.org/10.1001/jama.2017.0686>.

77. Daniela Matei. Impact of Non-Pharmacological Interventions on the Mechanisms of Atherosclerosis [Electronic resource] *International Journal of Molecular Sciences*. 2022. Vol. 23, №. 16. P. 9097. URL:<https://doi.org/10.3390/ijms23169097> (дата звернення 11.02.2024).

78. Davies M. J. Management of Hyperglycemia in Type 2 Diabetes. A Consensus Report by the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Diabetes Care*. 2018. № 41(12). P. 2669-2701. <https://doi.org/10.2337/dci18-0033>.

79. Deacon C. F. Physiology and Pharmacology of DPP-4 in Glucose Homeostasis and the Treatment of Type 2 Diabetes. *Frontiers in Endocrinology*. 2019. № 10. Art. 80. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00080>.

80. Deka H., Choudhury A., Dey B. K. An Overview on Plant Derived Phenolic Compounds and Their Role in Treatment and Management of Diabetes. *J Pharmacopuncture*. 2022. № 25 (3). P. 199-208. <https://doi.org/10.3831/KPI.2022.25.3.199>.

81. Dham D., Roy B., Gowda A., Pan G., Sridhar A., Zeng X., Thandavarayan R. A., Palaniyandi S. S. 4-Hydroxy-2-nonenal, a lipid peroxidation product, as a biomarker in diabetes and its complications: challenges and opportunities. *Free Radic Res*. 2021. 55(5). P. 547-561. <https://doi.org/10.1080/10715762.2020.1866756>.

82. Drucker D. J. Mechanisms of Action and Therapeutic Application of Glucagon-like Peptide-1. *Cell Metab.* 2018. Vol. 27, № 4. P. 740–756. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.03.001>.

83. Eckstein S. S., Weigert C., Lehmann R. Divergent Roles of IRS (Insulin Receptor Substrate) 1 and 2 in Liver and Skeletal Muscle. *Current medicinal chemistry.* 2017. № 24 (17). P. 1827–1852. <https://doi.org/10.2174/0929867324666170426142826>.

84. Eguchi N. The role of oxidative stress in pancreatic β cell dysfunction in diabetes. *Int J Mol Sci.* 2021. № 22. P.1509. <https://doi.org/10.3390/ijms22041509>.

85. ElSayed N.A., Aleppo G., Aroda V.R. Introduction and Methodology: Standards of Care in Diabetes – 2023. *Diabetes Care.* 2023. Vol. 46 (1). P. 51–54. <https://doi.org/10.2337/dc23-Sint>.

86. Endocrine Society. "Diabetes and Endocrine Function | Endocrine Society." Endocrine.org, Endocrine Society, 30 September 2022, URL:<https://www.endocrine.org/patient-engagement/endocrine-library/diabetes-and-endocrine-function> (дата звернення 20.04.2024).

87. Entezari M. AMPK signaling in diabetes mellitus, insulin resistance and diabetic complications: A pre-clinical and clinical investigation. *Biomed. Pharmacother.* 2022. № 146. P. 112563. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112563>.

88. Esser N., Utzschneider K.M., Kahn S.E. Early beta cell dysfunction vs insulin hypersecretion as the primary event in the pathogenesis of dysglycaemia. *Diabetologia.* 2020. № 63, P. 2007–2021. <https://doi.org/10.1007/s00125-020-05245-x>.

89. Fahed G., Aoun L., Bou Zerdan M. Metabolic Syndrome: Updates on Pathophysiology and Management in 2021. *International Journal of Molecular Sciences.* 2022. Vol. 23, № 2. P. 786. <https://doi.org/10.3390/ijms23020786>.

90. Fang J.Y. In Vivo Rodent Models of Type 2 Diabetes and Their Usefulness for Evaluating Flavonoid Bioactivity. *Nutrients*. 2019. № 11(3). P. 530. <http://doi.org/10.3390/nu11030530>.
91. FDA. Label information: glucophage tablets and glucophage XR extended-release tablets. 2019. URL: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2017/020357s037s039,021202s021s023lbl.pdf.
92. Galicia-Garcia U., Benito-Vicente A., Jebari S. Pathophysiology of Type 2 Diabetes Mellitus. *International journal of molecular sciences*. 2020. Vol. 21, № 17. P. 6275. <https://doi.org/10.3390/ijms21176275>.
93. Gao J. A Role of Gallic Acid in Oxidative Damage Diseases: A Comprehensive Review. *Natural Product Communications*. 2019. № 14(8). <https://doi.org/10.1177/1934578X19874174>.
94. Ghosal S., Ghosal S. The Side Effects of Metformin - A Review. *J Diabetes Metab Disord*. 2019. № 6. Art. 030. <https://doi.org/10.24966/DMD-201X/100030>.
95. Guo X. F. Apple and pear consumption and type 2 diabetes mellitus risk: a meta- analysis of prospective cohort studies. *Food Funct*. 2017. № 8. P. 927–934. <https://doi.org/10.1039/c6fo01378c>.
96. Hafeman D.G., Sunde R.A., Hoekstra W.G. Effect of dietary selenium on erythrocyte and liver glutathione peroxidase in the rat. *J Nutr*. 1974. № 104(5). P. 580-587. <https://doi.org/10.1093/jn/104.5.580>.
97. Hannou S. A. Fructose metabolism and metabolic disease. *Journal of clinical investigation*. 2018. № 28 (2). P. 545–555. <https://doi.org/10.1172/JCI96702>.
98. Himanshu D., Ali W., Wamique M. Type 2 diabetes mellitus: pathogenesis and genetic diagnosis. *Journal of diabetes and metabolic disorders*. 2020. № 19 (2). P.1959–1966. <https://doi.org/10.1007/s40200-020-00641-x>.
99. Hira T. Improvement of Glucose Tolerance by Food Factors Having Glucagon-LikePeptide-1 Releasing Activity. *Int J Mol Sci*. 2021. № 12. Art. 6623.

<https://doi.org/10.3390/ijms22126623>.

100. Hodge H. C., Gosselin R. E., Smith R. P., Gleason M. N. *Clinical Toxicology of Commercial Products / Acute Poisoning*. 4th ed. Baltimore : Williams & Wilkins, 1975. 427 p. <https://doi.org/10.1293/tox.2016-0016>.

101. Huang J.Q. Role of glutathione peroxidase 1 in glucose and lipid metabolism-related diseases. *Free Radic Biol Med*. 2018. № 127. P. 108-115. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.05.077>.

102. Huang X. The PI3K/AKT pathway in obesity and type 2 diabetes. *Int J Biol Sci*. 2018. № 14 (11). P.1483-1496. <https://doi.org/10.7150/ijbs.27173>.

103. Hudish L. I., Reusch J. E., Sussel L. β Cell dysfunction during progression of metabolic syndrome to type 2 diabetes. *J Clin Invest*. 2019. № 129 (10). P. 4001– 4008. <https://doi.org/10.1172/JCI129188>.

104. Hurrell S., Hsu W.H. The etiology of oxidative stress in insulin resistance. *Biomed J*. 2017. № 40 (5). P. 257-262. <https://doi.org/10.1016/j.bj.2017.06.007>.

105. IDF Diabetes Atlas 2022 Reports / International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas. 2022. URL: <https://diabetesatlas.org/2022-reports/> (дата звернення 15.04.2024).

106. Ikegami H., Babaya N., Noso S. β -Cell failure in diabetes: Common susceptibility and mechanisms shared between type 1 and type 2 diabetes. *Journal of diabetes investigation*. 2021. № 12(9). P. 1526–1539. <https://doi.org/10.1111/jdi.13576>.

107. Islam S. Prevalence of elevated liver enzymes and its association with type 2 diabetes: A cross-sectional study in Bangladeshi adults. *Endocrinol Diabetes Metab*. 2020. № 3(2). P. e00116. <https://doi.org/10.1002/edm2.116>.

108. Islam S., Choi H. Nongenetic Model of Type 2 Diabetes: A Comparative Study. *Pharmacology*. 2007. Vol. 79. P. 243-249.

109. James D.E., Stöckli J., Birnbaum M.J. The aetiology and molecular landscape of insulin resistance. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2021. № 22. P. 751–771. <https://doi.org/10.1038/s41580-021-00390-6>.

110. Janczura M. Potential roles of psychological and oxidative stress in

insulin resistance: a cohort-based study. *Diabetology & metabolic syndrome*. 2020. № 12. P. 58. <http://doi.org/10.1186/s13098-020-00566-8>.

111. Kaludercic N., Fabio Di L. Mitochondrial ROS Formation in the Pathogenesis of Diabetic Cardiomyopathy. *Frontiers in cardiovascular medicine*. 2020. № 7. Art. 12. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2020.00012>.

112. Khalid M. Insulin Signal Transduction Perturbations in Insulin Resistance. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021. № 22(16). P. 8590. <https://doi.org/10.3390/ijms22168590>.

113. Khawandanah J. Double or hybrid diabetes: A systematic review on disease prevalence, characteristics and risk factors. *Nutrition & diabetes*. 2019. № 9 (1). Art. 33. <https://doi.org/10.1038/s41387-019-0101-1>.

114. Kiernan J. A. Histological and histochemical methods: theory and practice. 5th ed. Banbury : Scion Publishing, 2015. 571 p.

115. Kiernan J. Histological and histochemical methods: theory and practice. Jordan Hill, Oxford, UK: Linacre House. 1999. 94 p.

116. Kim H.J. Prevention of Oxidative Stress-Induced Pancreatic Beta Cell Damage by Broussonetia Kazinoki Siebold Fruit Extract Via the ERK-Nox4 Pathway. *Antioxidants (Basel)*. 2020. № 9(5). P. 406. <https://doi.org/10.3390/antiox9050406>.

117. Klip A., McGraw T. E., James D. E. Thirty sweet years of GLUT4. *The Journal of biological chemistry*. 2019. Vol. 294, № 30. P. 11369–11381. <https://doi.org/10.1074/jbc.REV119.008351>.

118. Kolczynska K., Loza-Valdes A., Hawro I., Sumara G. Diacylglycerol-evoked activation of PKC and PKD isoforms in regulation of glucose and lipid metabolism: a review. *Lipids Health*. 2020. № 19. Art. 113. <https://doi.org/10.1186/s12944-020-01286-8>.

119. Koshovyi O., Vlasova I., Jakštas V. et al. American Cranberry (*Oxycoccus macrocarpus* (Ait.) Pursh) Leaves Extract and Its Amino-Acids Preparation: The Phytochemical and Pharmacological Study. *Plants (Basel)*. 2023. Vol. 12, № 10. P. 2010. <https://doi.org/10.3390/plants12102010>.

120. Kourouma A., Keita H., Duan P. et al. Effects of 4-nonylphenol on oxidant/antioxidant balance system inducing hepatic steatosis in male rat. *Toxicol Rep.* 2015. 2: 1423-1433. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2015.10.006>.
121. Kowalski R., Gonzalez de Mejia E. Phenolic composition, antioxidant capacity and physical characterization of ten blackcurrant (*Ribes nigrum*) cultivars, their juices, and the inhibition of type 2 diabetes and inflammation biochemical markers. *Food Chemistry.* 2021. № 359. P. 29889. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129889>.
122. Kuo T. Regulation of Glucose Homeostasis by Glucocorticoids. *AdvExp Med Biol.* 2015. № 872. P. 99-126. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2895-8_5.
123. LaMoia, T. E., Shulman, G. I. Cellular and Molecular Mechanisms of Metformin Action. *Endocrine reviews.* 2021. № 42(1). P. 77–96. <https://doi.org/10.1210/endrev/bnaa023>.
124. Lebovitz H.E. Thiazolidinediones: The Forgotten Diabetes Medications. *Curr Diab Rep.* 2019. № 19 (12). Art. 151. <https://doi.org/10.1007/s11892-019-1270-y>.
125. Lee S. H., Park S. Y., Choi C. S. Insulin Resistance: From Mechanisms to Therapeutic Strategies. *Diabetes Metab J.* 2022. № 46 (1). P.15-37. <https://doi.org/10.4093/dmj.2021.0280>.
126. Lehtonen S. SHIPping out diabetes-Metformin, an old friend among new SHIP2 inhibitors. *Acta Physiol (Oxf).* 2020. № 228(1). Art. e13349. <https://doi.org/10.1111/apha.13349>.
127. Lennicke C., Cochemé H. M. Redox regulation of the insulin signalling pathway. *Redox biology.* 2021. № 42, Art. 101964. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2021.101964>.
128. Li H. Arbutin alleviates diabetic symptoms by attenuating oxidative stress in a mouse model of type 1 diabetes / *International Journal of Diabetes in Developing Countries.* 2021. № 41. 586–592. <https://doi.org/10.1007/s13410-021-00920-0>.
129. Li J.X., Cummins C.L. Fresh insights into glucocorticoid-induced

diabetes mellitus and new therapeutic directions. *Nat Rev Endocrinol*. 2022. № 18(9). P. 540- 557. <https://doi.org/10.1038/s41574-022-00683-6>.

130. Li. M. Trends in insulin resistance: insights into mechanisms and therapeutic strategy. *Sig Transduct Target Ther*. 2022. № 7. P. 216. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01073-0>.

131. Liu Z., Ma S. Recent Advances in Synthetic α -Glucosidase Inhibitors. *Chem Med Chem*. 2017. № 12(11). P. 819–829. <https://doi.org/10.1002/cmdc.201700216>.

132. Lu Y. Gallic acid impairs fructose-driven de novo lipogenesis and ameliorates hepatic steatosis via AMPK-dependent suppression of SREBP-1/ACC/FASN. *Eur J Pharmacol*. 2023. № 940. P. 175457. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2022.175457>.

133. Lv W. Mechanisms and Characteristics of Sulfonylureas and Glinides / *Current topics in medicinal chemistry*. 2020. № 20 (1), P. 37–56. <https://doi.org/10.2174/1568026620666191224141617>.

134. Marín-Peñalver J.J. Update on the treatment of type 2 diabetes mellitus. *World J Diabetes*. 2016. № 7 (17). P. 354-95. <https://doi.org/10.4239/wjd.v7.i17.354>.

135. Martet G.A. Vaccinium Species (Ericaceae): Phytochemistry and Biological Properties of Medicinal Plants. *Molecules*. 2023. № 28. P. 1533. <https://doi.org/10.3390/molecules28041533>.

136. Matthews D. R. Homeostasis model assessment: insulin resistance and b-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man *Diabetologia*. 1985. Vol. 28, № 3. P. 412-419.

137. McCord J.M., Fridovich I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein). *J Biol Chem*. 1969. № 244(22). P. 6049-6055. PMID: 5389100.

138. Medha B. Pharmacological Aspects of a Bioactive Compound Arbutin: A Comprehensive Review. *Biointerface Research in Applied Chemistry*. 2023. № 2(13). P. 1-14. <https://doi.org/10.33263/BRIAC132.119>.

139. Melanie J. Davies, Vanita R. Aroda, Billy S. Collins. Management of Hyperglycemia in Type 2 Diabetes, 2022. A Consensus Report by the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Diabetes Care*. 2022. Vol. 45, № 11. P.2753–2786. <https://doi.org/10.2337/dci22-0034>
140. Meng S. Roles of chlorogenic Acid on regulating glucose and lipids metabolism: a review. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2013. № 2013. Art. 801457. <https://doi.org/10.1155/2013/801457>.
141. Mengstie M. A. Endogenous advanced glycation end products in the pathogenesis of chronicdiabetic complications *Front. Mol. Biosci*. 2022. № 9. P. 1002710. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2022.1002710>.
142. Menge Q. Flavonoids extracted from mulberry (*Morus alba* L.) leaf improve skeletal muscle mitochondrial function by activating AMPK in type 2 diabetes. *J. Ethnopharmacol*. 2020. № 248. P. 112326. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112326>.
143. Mennatallah A. A new approach in Type 2 diabetes mellitus treatment: Evaluation of the beneficial effect of L-cysteine in the treatment of type 2 diabetes mellitus. Anchor Academic Publishing. 2015. 248 p.
144. Miller G. L. Protein determination for large numbers of samples. *AnaliticalChemistry*. 1959. № 31 (5). P. 964-966.
145. Mirmiran P. Habitual intake of dietary L-arginine in relation to risk of type 2 diabetes: a prospective study. *BMC Endocr Disord*. 2021. № 21. P. 113. <https://doi.org/10.1186/s12902-021-00774-x>.
146. Missoun F. Antidiabetic bioactive compounds from plants. *Medical Technologies Journal*. 2018. № 2 (2). P. 199–214. <https://doi.org/10.26415/2572-004x-vol2iss2p199-214>.
147. Modvig I. M. Amino acids differ in their capacity to stimulate GLP-1 release from the perfused rat small intestine and stimulate secretion by different sensing mechanisms. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2021. № 320. P. E874–E885. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00026.2021>.

148. Moron M. S., Depierre J. W., Mannervik B. Levels of glutathione, glutathione reductase and glutathione S-transferase activities in rat lung and liver. *Biochim Biophys Acta*. 1979. № 582(1). P. 67-78. [http://dx.doi.org/10.1016/0304-4165\(79\)90289-7](http://dx.doi.org/10.1016/0304-4165(79)90289-7).
149. Mukai E., Fujimoto S., Inagaki N. Role of Reactive Oxygen Species in Glucose Metabolism Disorder in Diabetic Pancreatic β -Cells. *Biomolecules*. 2022. №12(9). P. 1228. <https://doi.org/10.3390/biom12091228>.
150. Mutiu K. Functional foods with dipeptidyl peptidase-4 inhibitory potential and management of type 2 diabetes: A review. *Food Frontiers*. 2021. № 2(5). P. 1-10. <https://doi.org/10.1002/fft2.71>.
151. Nasri H., Rafieian-Kopaei M. Metformin: Current knowledge. *International Journal of Research in Medical Sciences*. 2014. Vol. 19, № 7. P. 658–664.
152. Natesan V., Kim S. J. Lipid Metabolism, Disorders and Therapeutic Drugs - Review. *Biomol Ther (Seoul)*. 2021. № 29 (6). P. 596-604. <https://doi.org/10.4062/biomolther.2021.122>.
153. Nathan D. M. Realising the long-term promise of insulin therapy: the DCCT/EDIC study [Electronic resource] *Diabetologia*. 2021. Vol. 64, № 5. P. 1049–1058. URL: <https://doi.org/10.1007/s00125-021-05397-4> (дата звернення 01.05.2024).
154. Ndumele C. E., Neeland I. J., Tuttle K. R. et al. A Synopsis of the Evidence for the Science and Clinical Management of Cardiovascular-Kidney-Metabolic (CKM) Syndrome: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation*. 2023. Vol. 148, № 20. P. 1636-1664. <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000001186>.
155. Neslihan D. Telerehabilitation intervention for type 2 diabetes. *World journal of diabetes*. 2020. Vol. 11, № 6. P. 218–226. <https://doi.org/10.4239/wjd.v11.i6.218>.
156. Newsholme P., Kevin N Keane K.N., Carlessi R., Cruzat V. Oxidative stress pathways in pancreatic β -cells and insulin-sensitive cells and tissues:

importance to cell metabolism, function, and dysfunction. *American journal of physiology. Cell physiology*. 2019. № 317 (3). P. 420-433. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00141.2019>.

157. Nolan C. J., Prentki M. Insulin resistance and insulin hypersecretion in the metabolic syndrome and type 2 diabetes: Time for a conceptual framework shift. *Diabetes & vascular disease research*. 2019. № 16(2). P. 118–127. <https://doi.org/10.1177/1479164119827611>.

158. Novelli M., Barbera M., Fierabracci V. et al. Effect of the age and dexamethasone treatment on insulin secretion from isolated perfused rat pancreas. *Diabetologia*. 1996. Vol. 39, Suppl. 1. P. A124.

159. Nurdiana S. Changes in pancreatic histology, insulin secretion and oxidative status in diabetic rats following treatment with *Ficus deltoidea* and vitexin. *BMC Complement Altern Med*. 2017. № 17(1). P. 290. <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1762-8>.

160. Nwaneri Ch., Cooper H., Bowen-Jones D. Mortality in type 2 diabetes mellitus: magnitude of the evidence from a systematic review and meta-analysis. *British Journal of Diabetes and Vascular Disease*. 2013. Vol. 13, № 4. P. 192–207.

161. Oboh G. Can gallic acid potentiate the antihyperglycemic effect of acarbose and metformin? Evidence from streptozotocin-induced diabetic rat model. *Archives of physiology and biochemistry*. 2022. № 128(3). P. 619–627. <https://doi.org/10.1080/13813455.2020.1716014>.

162. Odia A., Esezobor O. Z. Therapeutic Uses of Amino Acids. InTech. 2017. 294 p. <https://doi.org/10.5772/intechopen.68932>.

163. Ong K. W., Hsu A., Tan B. K. Anti-diabetic and anti-lipidemic effects of chlorogenic acid are mediated by AMPK activation. *Biochemical pharmacology*. 2013. № 85(9). P. 1341–1351. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2013.02.008>.

164. Ouchi N., Parker J. L., Lugus J. J., Walsh K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat. Rev. Immunol*. 2011. Vol. 11, № 2. P. 85-97.

165. Padda I.S., Mahtani A.U., Parmar M.S. Sodium-Glucose Transport Protein 2 (SGLT2) Inhibitors. *HPD Articles*. 2022. 157. https://nsuworks.nova.edu/hpd_facarticles/157
166. Padhi S., Nayak A. K., Behera A. Type II diabetes mellitus: a review on recent drug-based therapeutics. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2020. № 131. Art. 110708. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110708>.
167. Pandey M. K., DeGrado T. R. Glycogen Synthase Kinase-3 (GSK-3)-Targeted Therapy and Imaging. *Theranostics*. 2016. № 6(4). P. 571-93. <https://doi.org/10.7150/thno>.
168. Panic A. Oxidative stress in obesity and insulin resistance. *Explor Med*. 2022. № 3. P. 58–70. <https://doi.org/10.37349/emed.2022.00074>.
169. Park S.Y., Gautier J.F., Chon S. Assessment of Insulin Secretion and Insulin Resistance in Human. *Diabetes & Metabolism Journal*. 2021. 45(5). P. 641–654. <https://doi.org/10.4093/dmj.2021.0220>.
170. Pasupuleti V. R. A Review on Oxidative Stress, Diabetic Complications, and the Roles of Honey Polyphenols. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2020. Art. 23. 8878172. <https://doi.org/10.1155/2020/8878172>
171. Peg R. J. Determination of conjugated dienes and trienes. In: Wrolstad, R, E. (Ed.). *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. John Wiley & Sons, New York, 2001. P. D2.1.1–D2.1.3.
172. Petersen M. C., Shulman G. I. Mechanisms of Insulin Action and Insulin Resistance. *Physiol Rev*. 2018. № 98(4). P. 2133–2223. <https://doi.org/10.1152/physrev.00063.2017>.
173. Prasatthonget P., Meephat S., Rattanakanokchai S. Hesperidin ameliorates signs of the metabolic syndrome and cardiac dysfunction via IRS/Akt/GLUT4 signaling pathway in a rat model of diet-induced metabolic syndrome. *Eur. J. Nutr*. 2021. № 60. P. 833–848. <https://doi.org/10.1007/s00394-020-02291-4>.
174. Qasim N. Hyperglycemia enhances the generation of ROS and RNS that impair antioxidant power and cause oxidative damage in human erythrocytes.

Biochemistry and cell biology. 2023. № 101. P 64-76. <https://doi.org/10.1139/bcb-2022-0008>.

175. Reed J., Bain S., Kanamarlapudi V. A Review of Current Trends with Type 2 Diabetes Epidemiology, Aetiology, Pathogenesis, Treatments and Future Perspectives. *Diabetes, metabolic syndrome and obesity: targets and therapy*. 2021. №14 P. 3567–3602. <https://doi.org/10.2147/DMSO.S319895>.

176. Rehman K., Akash M. S. Mechanism of Generation of Oxidative Stress and Pathophysiology of Type 2 Diabetes Mellitus: How Are They Interlinked? *J. Cell. Biochem*. 2017. № 118. P. 3577-3585. <https://doi.org/10.1002/jcb.26097>.

177. Rena G., Hardie D.G., Pearson E.R. The mechanisms of action of metformin. *Diabetologia*. 2017. № 60 (9). P. 1577-1585. <https://doi.org/10.1007/s00125-017>.

178. Ridnour L., Sim J. E., Hayward M. A spectrophotometric method for the direct detection and quantitation of nitric oxide, nitrite, and nitrate in cell culture media. *Anal. Biochem*. 2000. Vol. 281. P. 223-229.

179. Rochlani Y., Pothineni N. V., Kovelamudi S., Mehta J. L. Metabolic syndrome: pathophysiology, management, and modulation by natural compounds. *Ther Adv Cardiovasc Dis*. 2017. 11(8). P. 215-225. <https://doi.org/10.1177/1753944717711379>.

180. Rohli K.E. Nutrient Regulation of Pancreatic Islet β -Cell Secretory Capacity and Insulin Production. *Biomolecules*. 2022. № 12. P. 335. <https://doi.org/10.3390/biom12020335>.

181. Ruderman N., Carling D., Prentki M., Cacicedo J. AMPK, insulin resistance, and the metabolic syndrome. *J. Clin. Investig*. 2013. № 123. P. 2764–2772. <https://doi.org/10.1172/JCI67227>.

182. Russo B. Flavonoids and Insulin-Resistance: From Molecular Evidences to Clinical Trials. *International journal of molecular sciences*. 2019. № 20(9). P. 2061. <https://doi.org/10.3390/ijms20092061>.

183. Saeed A. Lipoprotein(a) levels and risk of cardiovascular disease events in individuals with diabetes mellitus or prediabetes: The Atherosclerosis Risk in

Communities study. *Atherosclerosis*. 2019. № 282. P. 52–56.
<https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2018.12.022>.

184. Saeedi M. A comprehensive review of the therapeutic potential of α -arbutin. *Phytotherapy research: PTR*. 2021. № 35 (8). P. 4136–4154.
<https://doi.org/10.1002/ptr.7076>.

185. Saeedi P., Petersohn I., Salpea P., Malanda B., Karuranga S., Unwin N., Colagiuri S. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2019. Vol. 157. P. 107843.
<https://doi.org/10.1016/j.diabres.2019.107843>.

186. Sakaguchi K. Glucose area under the curve during oral glucose tolerance test as an index of glucose intolerance. *Diabetol Int.* 2015. № 7(1). P. 53-58.
<https://doi.org/10.1007/s13340-015-0212-4>.

187. Salehi B. Antidiabetic Potential of Medicinal Plants and Their Active Components. *Biomolecules*, 2019. № 9 (10). P. 551.
<https://doi.org/10.3390/biom9100551>.

188. Saltiel A. R. Insulin signaling in health and disease. *The Journal of clinical investigation*. 2021. № 131 (1). Art. e142241.
<https://doi.org/10.1172/JCI142241>.

189. Sanches J. M. Pathophysiology of type 2 diabetes and the impact of altered metabolic interorgan crosstalk. *The FEBS journal*. 2023. № 290 (3). P. 620-648. <https://doi.org/10.1111/febs.16306>.

190. Saroj D., Neera G. Biochemical methods of analysis theory and applications. Alpha Science. 2010. 220 p.

191. Sayem A. S. Action of Phytochemicals on Insulin Signaling Pathways Accelerating Glucose Transporter (GLUT4) Protein Translocation. *Molecules (Basel, Switzerland)*. 2018. № 23(2). P. 258.
<https://doi.org/10.3390/molecules23020258>.

192. Shabalala S. C., Johnson R., Basson A., Ziqubu K. Detrimental Effects of Lipid Peroxidation in Type 2 Diabetes: Exploring the Neutralizing Influence of

Antioxidants. *Antioxidants*. 2022. № 11(10). Art. 2071.
<https://doi.org/10.3390/antiox11102071>.

193. Shanak S. Drug Discovery of Plausible Lead Natural Compounds That Target the Insulin Signaling Pathway: Bioinformatics Approaches. *Based Complement Alternat Med*. 2022. № 2022. Art. 2832889.
<https://doi.org/10.1155/2022/2832889>.

194. Sharma V. K., Singh T. G. Chronic Stress and Diabetes Mellitus: Interwoven Pathologies. *Curr Diabetes Rev*. 2020. № 16(6). P. 546–556.
<https://doi.org/10.2174/1573399815666191111152248>.

195. Shengdi H. L-Arginine Modulates Glucose and Lipid Metabolism in Obesity and Diabetes. *Curr Protein Pept Sci*. 2017. № 18 (6). P. 599-608.
<https://doi.org/10.2174/1389203717666160627074017>.

196. Shi Q. Benefits and harms of drug treatment for type 2 diabetes: systematic review and network meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ (Clinical research ed.)*. 2023. № 381. P. e074068. <https://doi.org/10.1136/bmj-2022-074068>.

197. Simon-Szabó L., Greff Z., Boros S. Novel compounds reducing IRS-1 serine phosphorylation for treatment of diabetes. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*. 2016. № 26 (2). P. 424–428.
<https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2015.11.099>.

198. Sivasangari S., Asaikumar L., Vennila L. Arbutin prevents alterations in mitochondrial and lysosomal enzymes in isoproterenol-induced myocardial infarction: An in vivo study. *Hum. Exp. Toxicol*. 2021. № 40, Art. 100112.
<https://doi.org/10.1177/0960327120945790>.

199. Sola D. Sulfonylureas and their use in clinical practice. *Arch Med Sci*. 2015. № 11(4). P. 840-8. <https://doi.org/10.5114/aoms.2015.53304>.

200. Son J. BACH2 inhibition reverses β cell failure in type 2 diabetes models. *The Journal of clinical investigation*. 2021. № 131 (24). Art. e153876.
<https://doi.org/10.1172/JCI153876>.

201. Standards of medical care in diabetes – 2020 abridged for primary care

providers / American Diabetes Association. *Clin. Diabetes*. 2020. Vol. 38, № 1. P. 10–38. <https://doi.org/10.2337/cd20-as01>.

202. Sujan B., Ghosh A. The association of oxidative stress biomarkers with type2 diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. *Health science reports* vol.2021. № 4. Art. e389. <https://doi.org/10.1002/hsr2.389>.

203. Suman R. K. Metformin ameliorates diabetes with metabolic syndrome induced changes in experimental rats. *International Journal of Biomedical Research*. 2016. № 7(2). P. 055-065. <https://doi.org/10.7439/IJBR.V7I2.2987>.

204. Summary of Revisions: Standards of Medical Care in Diabetes – 2022. *Diabetes Care*. 2022. Vol. 45, Suppl. 1. P. S4–S7. <https://doi.org/10.2337/dc22-SREV>.

205. Tang C. Glucose-induced β -cell dysfunction in vivo: evidence for a causal role of C-jun N-terminal kinase pathway. *Endocrinology*. 2018. № 159 (11). P. 3643–3654. <https://doi.org/10.1210/en.2018-00566>.

206. Tenovuo J., Pruitt K. M., Mansson-Rahemtulla B., Harrington P., Baldone D. C. Products of thiocyanate peroxidation: properties and reaction mechanisms. *Biochim Biophys Acta*. 1986. 870(3). P. 377-384. [https://doi.org/10.1016/0167-4838\(86\)90244-x](https://doi.org/10.1016/0167-4838(86)90244-x).

207. Test No. 423: Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method // OECD. 2012. P. 1–14. <https://doi.org/10.1787/9789264071001>.

208. Thorens B. GLUT2, glucose sensing and glucose homeostasis. *Diabetologia*. 2015. № 58 (2). P. 221-232. <https://doi.org/10.1007/s00125-014-3451-1>.

209. Tomkin G. H., Owens D. Diabetes and dyslipidemia: characterizing lipoprotein metabolism. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2017. № 10. P. 333-343. <https://doi.org/10.2147/DMSO.S115855>.

210. Tsuchitani M., Sato J., Kokoshima H. A comparison of the anatomical structure of the pancreas in experimental animals. *J Toxicol Pathol*. 2016. № 29 (3). P.147-154.

211. Type 2 diabetes in adults: management : Guidance / The National Institute for Health and Care Excellence. 2022. URL: <https://www.nice.org.uk/guidance/ng28/chapter/Recommendations> (дата звернення 11.01.2024).

212. Van Sloun B. The Impact of Amino Acids on Postprandial Glucose and Insulin Kinetics in Humans: A Quantitative Overview. *Nutrients*. 2020. № 12 (10). P. 3211. <https://doi.org/10.3390/nu12103211>.

213. Vinogradov A. D., Ackrell B. A. C., Singer T. P. On the possible interrelations of the reactivity of soluble succinate dehydrogenase with ferricyanide, reconstitution activity, and the HiPiP iron sulfur center. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1975. Vol. 67. P. 803-809.

214. Vistoli G., De Maddis D., Cipak A., Zarkovic N., Carini M., Aldini G. Advanced glycoxidation and lipoxidation end products (AGEs and ALEs): an overview of their mechanisms of formation. *Free Radic Res.* 2013. 47 Suppl 1. P. 3-27. <https://doi.org/10.3109/10715762.2013.815348>.

215. Wang K., Ahmadizar F. Lipids Abnormality and Type 2 Diabetes Mellitus: Causes and Consequences. *IntechOpen*. 2021. <https://doi.org/10.5772/intechopen.96592>.

216. Wang P. N-acetyl-L-cysteine ameliorates gestational diabetes mellitus by inhibiting oxidative stress. *Biotechnology and applied biochemistry*. 2022. № 10. Art. 1002. <https://doi.org/10.1002/bab.2426>.

217. Wei Q. Pathological mechanisms in diabetes of the exocrine pancreas: what's known and what's to know. *Front Physiol.* 2020. № 28 (11). P. 570276. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.570276>.

218. Weinberg R., Segev O., Dor S., Raz I. Overview of oxidative stress and inflammation in diabetes. *J Diabetes*. 2024. №16 (10):e70014. <https://doi.org/10.1111/1753-0407.70014>.

219. White M. F., Kahn R. Insulin action at a molecular level – 100 years of progress. *Molecular Metabolism*. 2021. № 52. P. 101304. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2021.101304>.

220. Williamson G., Sheedy K. Effects of Polyphenols on Insulin Resistance. *Nutrients*. 2020. № 12 (10). Art. 3135. <http://doi.org/10.3390/nu12103135>.

221. Wiviott S. D. Dapagliflozin and Cardiovascular Outcomes in Type 2 Diabetes. *N. Engl. J. Med.* 2019. Vol. 380, № 4. P. 347–357. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1812389>.

222. Wong N.D., Zhao Y., Patel R., Patao C., Malik S., Bertoni A.G., Correa A. Cardiovascular Risk Factor Targets and Cardiovascular Disease Event Risk in Diabetes: A Pooling Project of the Atherosclerosis Risk in Communities Study, Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis, and Jackson Heart Study. *Diabetes Care*. 2016. Vol. 39. P. 668–676. <https://doi.org/10.2337/dc15-2439>.

223. Woods S. C., Seeley R. J., Rushing P. A. Controlled high-fat diet induces an obese syndrome in rats. *J. Nutr.* 2003. Vol. 133, № 4. P. 1081-1087.

224. World Health Organization. Diabetes key facts. World Health Organization. Accessed February 2, 2021. 2021. URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/en/> (дата звернення 07.03.2024).

225. Yan Y. Use of Chlorogenic Acid against Diabetes Mellitus and Its Complications. *J Immunol Res*. 2020. № 28. P. 9680508. <https://doi.org/10.1155/2020/9680508>.

226. Yaribeygi H. Insulin resistance: Review of the underlying molecular mechanisms. *Journal of cellular physiology*. 2019. № 234(6). P. 8152–8161. <https://doi.org/10.1002/jcp.27603>

227. Ye R. Lipotoxicity and β Cell Maintenance in Obesity and Type 2 Diabetes. *Journal of the Endocrine Society*. 2019. № 3(3). P. 617–631. <https://doi.org/10.1210/js.2018-00372>.

228. Yousefi F. Hypoglycemic activity of *Pyrus bioessieriana* Buhse leaf extract and arbutin: Inhibitory effects on alpha amylase and alpha glucosidase. *J. Intern. Med*. 2013. № 4. P. 763. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24294470/>.

229. Zhang D.M., Jiao R.Q., Kong L.D. High Dietary Fructose: Direct or

Indirect Dangerous Factors Disturbing Tissue and Organ Functions. *Nutrients*. 2017. № 9(4). P. 335. <https://doi.org/10.3390/nu9040335>.

230. Zhang M. Yang H., Yang E., Li J. Berberine Decreases Intestinal GLUT2 Translocation and Reduces Intestinal Glucose Absorption in Mice. *J. Mol. Sci*. 2021. № 23 (1). P. 327. <https://doi.org/10.3390/ijms23010327>.

231. Zhang X. The Potential Roles of Post-Translational Modifications of PPAR γ in Treating Diabetes. *Biomolecules*. 2022. № 12(12). P. 1832. <https://doi.org/10.3390/biom12121832>.

232. Zhao Y. Long-Term High-Fat High-Fructose Diet Induces Type 2 Diabetes in Rats through Oxidative Stress. *Nutrients*. 2022. № 14 (11) P. 2181. <https://doi.org/10.3390/nu14112181>.

ДОДАТКИ

Додаток А

Список публікацій здобувача

Статті в наукових фахових виданнях

1. Кононенко Н.М., Танська М.С. Дослідження антигіперглікемічних властивостей нової фітокомпозиції на моделі цукрового діабету 2 типу. *Фітотерапія. Часопис*. 2023. № 4 (55). С. 22-26. <https://doi.org/10.32782/2522-9680-2023-4-22>. (Scopus). (Особистий внесок - проведення експериментальних досліджень, статистичної обробки результатів, узагальнення результатів, написання та оформлення статті до друку; Кононенко Н.М. – формулювання цілей та задач дослідження, допомога в проведенні дослідження та аналізі результатів).
2. Кононенко Н.М., Танська М.С. Вплив нової фітокомпозиції на процеси неферментативного глікозилювання, показники ліпідного обміну та баланс пероксидного окиснення ліпідів на моделі цукрового діабету 2 типу. *Фітотерапія. Часопис*. 2024. № 2. С. 97-103. <https://doi.org/10.32782/2522-9680-2024-2-97>. (Scopus). (Особистий внесок - проведення експериментальних досліджень, статистичної обробки результатів, узагальнення результатів, написання та оформлення статті до друку; Кононенко Н.М. – формулювання цілей та задач дослідження, допомога в проведенні дослідження та аналізі результатів).
3. Чікіткіна В., Танська М.С. Скринінгові дослідження гіпоглікемічної дії фітокомпозиції на основі поліфенольного екстракту з листя журавлини та амінокислот. *Сучасна медицина, фармація та психологічне здоров'я*. 2024. Випуск 1 (15). С. 119-125. <https://doi.org/10.32689/2663-0672-2024-1-21>. (Особистий внесок - проведення експериментальних досліджень, статистичної обробки результатів, узагальнення результатів, написання та оформлення статті до друку; Чікіткіна В. – формулювання цілей та задач дослідження, допомога в проведенні дослідження та аналізі результатів).
4. Кононенко Н.М., Танська М.С. Вплив нової фітокомпозиції на формування ендотеліальної дисфункції та глюкозний гомеостаз у щурів за експериментальної інсулінорезистентності. *Health & Education*. 2024. Вип. 3. С.

64-69. <https://doi.org/10.32782/health-2024.3.8>. (Особистий внесок - проведення експериментальних досліджень, статистичної обробки результатів, узагальнення результатів, написання та оформлення статті до друку; Кононенко Н.М. – формулювання цілей та задач дослідження, допомога в проведенні дослідження та аналізі результатів).

5. Кононенко Н.М., Анісімова М.С. Вплив нової фітокомпозиції на основі екстракту з листя журавлини великоплідної та амінокислот на стан підшлункової залози й печінки щурів на моделі цукрового діабету 2 типу. *News of pharmacy*. 2024. №2 (108). С. 85-96. <https://doi.org/10.24959/nphj.24.149>. (Особистий внесок - проведення експериментальних досліджень, статистичної обробки результатів, узагальнення результатів, написання та оформлення статті до друку; Кононенко Н.М. – формулювання цілей та задач дослідження, допомога в проведенні дослідження та аналізі результатів).

6. Mariia Anisimova, Nadiia Kononenko, Valentyna Chikitkina. Effect of a new phytocomposition based on polyphenolic extract from cranberry leaves and amino acids on the state of the pancreas in metabolic syndrome. *Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science»*. 2024. №6 (52). Р. 47-59. DOI: 10.15587/2519-4852.2024.318509. (Scopus). (Особистий внесок - проведення експериментальних досліджень, статистичної обробки результатів, узагальнення результатів, написання та оформлення статті до друку; Кононенко Н.М. – формулювання цілей та задач дослідження, допомога в проведенні дослідження та аналізі результатів; Чікіткіна В.В. - допомога в проведенні дослідження та аналізі результатів).

Тези

7. Кононенко Н.М., Танська М.С. Перспективи створення фітокомпозиції на основі сухого екстракту з листя журавлини та амінокислот для лікування метаболічного синдрому та цукрового діабету 2 типу. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція: збірник тез IV Наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. Участю, 18 листопада 2021 р. Х.: Вид-во НФаУ, 2021. С. 145-147.*

8. Кононенко Н.М., Танська М.С. Вивчення ліпотропної активності

фітокомпозиції на основі сухого екстракту з листя журавлини та амінокислот на моделі інсулінорезистентності у щурів. *Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації*: збірник тез IV науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю, 19 травня 2022 р. Х.: Вид-во НФаУ, 2022. С. 199-201.

9. Танська М.С., Кононенко Н.М. Вивчення параметрів гострої токсичності фітокомпозиції на основі сухого екстракту з листя журавлини та амінокислот. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція*: збірник тез V науково-практичної інтернет- конференції з міжнародною участю, 17 листопада 2022 р. Х.: Вид-во НФаУ, 2022. С. 317-318.

10. Кононенко Н.М., Танська М.С. Дослідження впливу фітокомпозиції на процеси неферментативного глікозилювання, активність цитолітичних процесів, показники ліпідного обміну та баланс пероксидного окиснення ліпідів на експериментальній моделі цукрового діабету 2 типу. *Сучасні аспекти досягнень фундаментальних та прикладних медико-біологічних напрямків медичної та фармацевтичної освіти та науки*: матеріали I науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю, яка присвячена до 90-ї річниці з дня народження професора Л.Т.Киричок, 17 листопада 2022 р. Х.: ХНМУ, 2022. С. 100-104.

11. Кононенко Н. М., Танська М.С., Чікіткіна В.В. Скринінг можливої гіпоглікемічної дії фітокомпозиції на основі екстракту з листя журавлини великоплідної та амінокислот при однократному введенні нормоглікемічним щурам. *Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації*: збірник тез VI науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю, 16 травня 2024 р. Х.: Вид-во НФаУ, 2022. С. 121-122.

12. Анісімова М.С., Кононенко Н.М. Вплив фітокомпозиції на основі сухого екстракту з листя журавлини та амінокислот на стан оксидантно-прооксидантного гомеостазу підшлункової залози за експериментальної інсулінорезистентності. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція*: збірник тез VII науково-практичної internet-конференції з міжнародною участю, 14 листопада 2024 р. Х.: НФаУ, 2024. С. 85-87.

Продовж. дод. А

Апробація результатів дисертації

Основні положення роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня:

1. IV Науково-практичній інтернет-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція» (м. Харків, 18 листопада 2021 р., форма участі – публікація тез);
2. V науково-практичній інтернет-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція» (м. Харків, 17 листопада 2022 р., форма участі – публікація тез, усна доповідь);
3. IV науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації» (м. Харків, 19 травня 2022 р., форма участі – публікація тез);
4. I науково-практичній інтернет-конференції з міжнародною участю, яка присвячена до 90-ї річниці з дня народження професора Л.Т. Киричок «Сучасні аспекти досягнень фундаментальних та прикладних медико-біологічних напрямків медичної та фармацевтичної освіти та науки» (м. Харків, 17 листопада 2022 р., форма участі – публікація тез);
5. VI науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації» (м. Харків, 16 травня 2024 р., форма участі – публікація тез, усна доповідь);
6. VII науково-практичній internet-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція» (м. Харків, 14 листопада 2024 р., форма участі – публікація тез, усна доповідь).



ПРОГРАМА
V науково-практичної інтернет-конференції
з міжнародною участю

**«МЕХАНІЗМИ РОЗВИТКУ
ПАТОЛОГІЧНИХ ПРОЦЕСІВ І ХВОРОБ
ТА ЇХ ФАРМАКОЛОГІЧНА КОРЕКЦІЯ»**

17 листопада 2022 р.
м. Харків



Знай

- 14.15–14.30

Семетська Тетяна Михайлівна¹, Ломаченко В.В.²
**ВПЛИВ ІМЕРСИЙНОЇ ГІПОТЕРМІЇ НА ПРОЦЕСИ
ПРОТЕОЛІЗУ**
¹Державна установа «Національний інститут тиреоїдної
патології І.Т. Малий Національної академії медичних наук
України», м. Харків, Україна
²Інститут проблем кріобіології і кріомедицини
Національної академії наук України, м. Харків, Україна
- 14.30–14.45

Васильченко Сергій Павлович
**МОНООКСИДІ КАРБОНУ ТА ДИМЕР
ТРИКАРБОНІДІШІДРОГЕНІВ (П) ЗНИЖУЮТЬ
ЕКСПРЕСІЮ АQP3 ПІСЛЯ ОБРОБКИ
ПОШКОДЖЕНОЇ ШКІРИ**
¹Харківський державний університет, м. Харків, Україна
- 14.45–15.00

Волохов Ігор Вікторович, Рибак В.А.
**АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ ТАРГЕТНОЇ ТЕРАПІЇ
ФЕТОПЛАЦЕНТАРНОЇ НЕДОСТАТНОСТІ**
¹Національний фармацевтичний університет,
м. Харків, Україна
- 15.00–15.15

Ганська Марія Сергіївна
**ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИГІПЕРГЛІЦЕМИЧНИХ
ВЛАСТИВОСТЕЙ ФІТОКОМПОНЕНТІВ НА
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ МОДЕЛІ ЦУКРОВОГО
ДІАБЕТУ 2 ТИПУ**
¹Національний фармацевтичний університет,
м. Харків, Україна
- 15.15–15.30

Кутюва Ольга Вячеславівна, Сасидас-Нілтхак Р.В.
**ВІЗНАЧЕННЯ РІВНЯНЬ РЕГРЕСІЇ ДЛЯ
ХАРАКТЕРИСТИКИ ВПЛИВУ ДОПОМОЖНИХ
РЕЧОВИН НА ПОКАЗНИК ЯКОСТІ ТАБЛЕТОК
ЗА ДАННИМИ ЕКСПЕРИМЕНТУ ТИПУ 2¹**
¹Національний фармацевтичний університет, м. Харків,
Україна
- 15.30–15.45

Андрушко Наталія Володимирівна,
Сасидас-Нілтхак Р.В.
**ТЕОРЕТИЧНІ ЗАСАДИ КЛІМАТУ
ПСИХОСОЦІАЛЬНОЇ БЕЗПЕКИ В ТРУДОВОМУ
КОЛЛЕКТИВІ АПТЕЧНОГО ЗАКЛАДУ**
¹Національний фармацевтичний університет, м. Харків,
Україна
- 15.45–16.00

**ДИСКУСІЙНА ПАНЕЛЬ
УРОЧІСТЕ ЗАКРИТТЯ КОНФЕРЕНЦІЇ**

6

З



ПРОГРАМА
VI науково-практичної конференції
студентів та молодих вчених з міжнародною участю

**«ВІД ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ТА КЛІНІЧНОЇ
ПАТОФІЗІОЛОГІЇ ДО ДОСЯГНЕНЬ
СУЧАСНОЇ МЕДИЦИНИ І ФАРМАЦІЇ»**

16 травня 2024 р.
м. Харків



- 15.00–15.15

Національний фармацевтичний університет, м. Харків,
Україна
Саусуни Яна Сергіївна, Селюкова Н. Ю.
ІПОТЕРАПІЯ ДЛЯ ВІЙСЬКОВИХ
¹Національний фармацевтичний університет, м. Харків,
Україна
- 15.15–15.30

Волохов Ігор Вікторович, Рибак В.А.
**ВПЛИВ ПАСИВНОГО ПЛЮТІОНОПІДІННЯ МАТЕРІВ
ПІД ЧАС ВАГІТНОСТІ НА ГІСТОМОРФОЛОГІЧНІ
ОСОБЛИВОСТІ ПЕЧІНКИ НАЩАДКІВ ШУРІВ**
¹Національний фармацевтичний університет, м. Харків,
Україна
- 15.30–15.45

Кірюнова Ганна Філодоровна, Рибак В.А.
**ПЕРСПЕКТИВИ ЗАСТОСУВАННЯ СУХИХ ЕКСТРАКТІВ
ЛІСТЬ І КОРЕНЕВИЩІ ІRIS HUNGARICA В МЕДИЧНІЙ
ПРАКТИЦІ**
¹Національний фармацевтичний університет, м. Харків,
Україна
- 15.45–16.00

Кононенко Т. Р., Єрьомов Р. Ф., Чистікіна В. В.
**ВІВЧЕННЯ ПРОТИШЕМИЧНОЇ ДІЇ КОМБІНОВАНОГО
ЗАСОБУ НА ОСНОВІ МОРКВИ ПОСІВНОЇ
КОРЕНЕПЛОДИВ ЕКСТРАКТУ ГУСТОГО ТА
КВЕРЦЕТИНУ НА МОДЕЛІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО
ІНФАРКТУ МІОКАРДА У ШУРІВ**
¹Національний фармацевтичний університет, м. Харків,
Україна
- 16.00–16.15

Кононенко Н. М., Танська М. С., Чистікіна В. В.
**СКРИНІНГ МОЖЛИВОЇ ГІПОГЛІЦЕМІЧНОЇ ДІЇ
ФІТОКОМПОНЕНТІВ НА ОСНОВІ ЕКСТРАКТУ З ЛІСТЬ
ЖУРАВЛИНИ ВЕЛИКОПІЛІДНОЇ ТА АМІНОКІСЛОТ
ПРИ ОДНОКРАТНОМУ ВВЕДЕННІ
НОРМОГЛІЦЕМІЧНИМ ШУРАМ**
¹Національний фармацевтичний університет, м. Харків,
Україна
- 16.15–16.30

**ДИСКУСІЙНА ПАНЕЛЬ
УРОЧІСТЕ ЗАКРИТТЯ КОНФЕРЕНЦІЇ**

ПРОГРАМА	
VII науково-практичної internet-конференції з міжнародною участю	
«МЕХАНІЗМИ РОЗВИТКУ ПАТОЛОГІЧНИХ ПРОЦЕСІВ І ХВОРОБ ТА ЇХ ФАРМАКОЛОГІЧНА КОРЕКЦІЯ»	
14 листопада 2024 р. м. Харків	
	
ПРОГРАМА	
ХОЛЕСТЕРИНОВОГО АТЕРОАРТЕРІОСКЛЕРОЗУ У	
ЩУРІВ	
Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна	
13.30-13.45	Валашов Ігор Вікторович, Рибак В. А. СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ОСОБЛИВОСТІ ПЛАЦЕНТИ ЩУРІВ ПІД ВПЛИВОМ ФАРМАЦЕВТИЧНОЇ КОМПОЗИЦІЇ НА ОСНОВІ ЛІВКАРНИТИНУ ПРИ МОДЕЛЮВАННІ ПАСИВНОГО ТРОТНОПАЛІННЯ
Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна	
13.45-14.00	Крилевська Катерина Андріївна, Жаботинська Н. В. ФІЗИЧНА ТЕРАПІЯ ПРИ ОСТЕОАРТРОЗІ КУЛЬШОВОГО СУТЛОБА
Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна	
14.00-14.15	Патє Юлія, Таможанська Г. В. РЕАБІЛІТАЦІЯ УКРАЇНСЬКИХ ВІЙСЬКОВОСЛУЖБОВЦІВ В РЕСПУБЛІЦІ СЛОВЕНІ
Міжнародна академія S.P.E.K.T.R. Республіка Словенія, Великі Оряхи, Ново Место	
14.15-14.30	Анісімова Марія Сергіївна, Кононенко Н. М. ВПЛИВ ФІТОКОМПОЗИЦІЇ НА ОСНОВІ СУХОГО ЕКСТРАКТУ З ЛИСТЯ ЖУРАВЛИНИ ТА АМІНОКІСЛОТ НА СТАН ОКСИДАНТНО- ПРООКСИДАНТНОГО ГОМЕОСТАЗУ ПІДШТУНКОВОЇ ЗАЛОЖИ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ІНСУЛІНОРЕЗИСТЕНТНОСТІ
Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна	
14.30-14.45	Симошенко Дмитро Ігорович, Галашко В. В. ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ШОТЕРАПІ ТА ТРАДИЦІЙНИХ МЕТОДІВ ФІЗИЧНОЇ ТЕРАПІЇ У ЛІТЕЙ ІЗ ПОРУШЕННЯМИ ПОСТАВИ
Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна	

Додаток Б

Патенти, інформаційні листи та акти впровадження за темою дисертації



ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи
Національного фармацевтичного університету

д. мед. н., професор Владимирова І. М.

2024 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції:** Експериментальне обґрунтування застосування фітокомпозиції на основі сухого екстракту з листя журавлини для лікування метаболічного синдрому та цукрового діабету 2 типу.

2. **Ким і коли запропонований:** аспірантом кафедри фізичної реабілітації і здоров'я Національного фармацевтичного університету Анісімовою Марією Сергіївною, 2024 р.

3. **Джерело інформації:**

1) Кононенко Н.М., Танська М.С. Дослідження антигіперглікемічних властивостей нової фітокомпозиції на моделі цукрового діабету 2 типу. Фітотерапія. Часопис. 2023. № 4 (55). С. 22-26. <https://doi.org/10.32782/2522-9680-2023-4-22>.

2) Кононенко Н.М., Танська М.С. Вплив нової фітокомпозиції на процеси неферментативного глікозилювання, показники ліпідного обміну та баланс перекисного окиснення ліпідів на моделі цукрового діабету 2 типу. Фітотерапія. Часопис. 2024. № 2. С. 97-103. <https://doi.org/10.32782/2522-9680-2024-2-97>.

3) Кононенко Н.М., Анісімова М.С. Вплив нової фітокомпозиції на основі екстракту з листя журавлини великоплідної та амінокислот на стан підшлункової залози й печінки шурів на моделі цукрового діабету 2 типу. News of pharmacy. 2024. №2 (108). С. 85-96. <https://doi.org/10.24959/nphj.24.149>.

4) Кононенко Н.М., Танська М.С. Вплив нової фітокомпозиції на формування ендотеліальної дисфункції та глюкозний гомеостаз у шурів за експериментальної інсулінорезистентності. Health & Education. 2024. Вип. 3. С. 64-69. <https://doi.org/10.32782/health-2024.3.8>.

5) Mariie Anisimova, Nadiia Kononenko, Valentyna Chikitkina. Effect of a new phytocomposition based on polyphenolic extract from cranberry leaves and amino acids on the state of the pancreas in metabolic syndrome. Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science». 2024. №6 (52). P. 47-59. DOI: 10.15587/2519-4852.2024.318509.

4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Національний фармацевтичний університет (м. Харків), кафедра фармакології та клінічної фармації.

5. **Форма впровадження:** використовується під час проведення лекцій та практичних занять.

6. **Ефективність впровадження:** підвищення якості знань здобувачів вищої освіти з питань патогенезу та лікування метаболічного синдрому та цукрового діабету 2 типу.

7. **Зауваження та пропозиції.** Не виносилися. Обговорено та затверджено на засіданні кафедри фармакології та клінічної фармації, протокол № 9 від «19» грудня 2024 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри фармакології та клінічної фармації
Національного фармацевтичного університету
д. мед. н., професор

Сергій ШТРИГОЛЬ

Продовж. дод. Б



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції:** Експериментальне обґрунтування застосування фітокомпозиції на основі сухого екстракту з листя журавлини для лікування метаболічного синдрому та цукрового діабету 2 типу.
2. **Ким і коли запропонований:** аспірантом кафедри фізичної реабілітації і здоров'я Національного фармацевтичного університету Анісімовою Марією Сергіївною, 2024 р.
3. **Джерело інформації:**
 - 1) Кононенко Н.М., Танська М.С. Дослідження антигіперглікемічних властивостей нової фітокомпозиції на моделі цукрового діабету 2 типу. Фітотерапія. Часопис. 2023. № 4 (55). С. 22-26. <https://doi.org/10.32782/2522-9680-2023-4-22>.
 - 2) Кононенко Н.М., Танська М.С. Вплив нової фітокомпозиції на процеси неферментативного глікозильовання, показники ліпідного обміну та баланс перекисного окиснення ліпідів на моделі цукрового діабету 2 типу. Фітотерапія. Часопис. 2024. № 2. С. 97-103. <https://doi.org/10.32782/2522-9680-2024-2-97>.
 - 3) Кононенко Н.М., Анісімова М.С. Вплив нової фітокомпозиції на основі екстракту з листя журавлини великоплідної та амінокислот на стан підшлункової залози й печінки щурів на моделі цукрового діабету 2 типу. News of pharmacy. 2024. №2 (108). С. 85-96. <https://doi.org/10.24959/nphj.24.149>.
 - 4) Кононенко Н.М., Танська М.С. Вплив нової фітокомпозиції на формування ендотеліальної дисфункції та глюкозний гомеостаз у щурів за експериментальної інсулінорезистентності. Health & Education. 2024. Вип. 3. С. 64-69. <https://doi.org/10.32782/health-2024.3.8>.
 - 5) Mariia Anisimova, Nadiia Kononenko, Valentyna Chikitkina. Effect of a new phytocomposition based on polyphenolic extract from cranberry leaves and amino acids on the state of the pancreas in metabolic syndrome. Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science». 2024. №6 (52). P. 47-59. DOI: 10.15587/2519-4852.2024.318509.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Національний фармацевтичний університет (м. Харків), Навчально-науковий інститут прикладної фармації.
5. **Форма впровадження:** використовується під час проведення доклінічного вивчення лікарських засобів для корекції цукрового діабету, ожиріння та метаболічного синдрому.
6. **Ефективність впровадження:** підвищення якості доклінічних досліджень лікарських засобів.
7. **Зауваження та пропозиції.** Не вносилися. Обговорено та затверджено на засіданні Навчально-наукового інституту прикладної фармації, протокол № 2 від «12» грудня 2024 р.

Відповідальний за впровадження:

Заступник директора з наукової роботи
Навчально-наукового інституту прикладної фармації

 Тетяна ЮДКЕВИЧ

Продовж. дод. Б

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

В.о. проректора з наукової роботи

Харківського національного медичного університету



Д. мед. н., професор Ігор ЗАВГОРОДНІЙ

2024 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції:** Експериментальне обґрунтування застосування фітокомпозицій на основі сухого екстракту з листя журавлини для лікування метаболічного синдрому та цукрового діабету 2 типу.
2. **Ким і коли запропонований:** аспірантом кафедри фізичної реабілітації і здоров'я Національного фармацевтичного університету Анісімовою Марією Сергіївною, НФаУ, вул. Г. Сковороди, 53, м. Харків, 61002.
3. **Джерело інформації:**
 - 1) Кононенко Н.М., Танська М.С. Дослідження антигіперглікемічних властивостей нової фітокомпозиції на моделі цукрового діабету 2 типу. Фітотерапія. Часопис. 2023. № 4 (55). С. 22-26. <https://doi.org/10.32782/2522-9680-2023-4-22>.
 - 2) Кононенко Н.М., Танська М.С. Вплив нової фітокомпозиції на процеси неферментативного глікозилювання, показники ліпідного обміну та баланс пероксидного окиснення ліпідів на моделі цукрового діабету 2 типу. Фітотерапія. Часопис. 2024. № 2. С. 97-103. <https://doi.org/10.32782/2522-9680-2024-2-97>.
 - 3) Кононенко Н.М., Анісімова М.С. Вплив нової фітокомпозиції на основі екстракту з листя журавлини великоплідної та амінокислот на стан підшлункової залози й печінки щурів на моделі цукрового діабету 2 типу. News of pharmacy. 2024. №2 (108). С. 85-96. <https://doi.org/10.24959/nphj.24.149>.
 - 4) Кононенко Н.М., Танська М.С. Вплив нової фітокомпозиції на формування ендотеліальної дисфункції та глюкозний гомеостаз у щурів за експериментальної інсулінорезистентності. Health & Education. 2024. Вип. 3. С. 64-69. <https://doi.org/10.32782/health-2024.3.8>.
 - 5) Mariia Anisimova, Nadiia Kononenko, Valentyna Chikitkina. Effect of a new phytocomposition based on polyphenolic extract from cranberry leaves and amino acids on the state of the pancreas in metabolic syndrome. Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science». 2024. №6 (52). P. 47-59. DOI: 10.15587/2519-4852.2024.318509.
4. **Де і коли впроваджено:** Результати досліджень, пропонується впровадження на кафедрі фармакології та медичної рецептури при проведенні лекційного курсу та практичних занять за темою «Протидіабетичні препарати»
5. **Результати застосування методу за період 2024-2025 рр** Дослідження Анісімової М.С. обґрунтовують ефективність застосування фітокомпозиції на основі сухого екстракту з листя журавлини для лікування метаболічного синдрому та цукрового діабету 2 типу.
6. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п.3):** підвищення якості знань здобувачів вищої освіти з питань лікування метаболічного синдрому та цукрового діабету 2 типу.

7. **Зауваження та пропозиції.** Не виносилися. Обговорено та затверджено на засіданні кафедри фармакології та медичної рецептури, протокол № 9 від « 19 грудня» 2024 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувачка кафедри фармакології та
медичної рецептури Харківського національного
медичного університету університету
д. фарм. н., професор

Тамара СРМОЛЕНКО

Продовж. дод. Б

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Професор з науково-педагогічної роботи
 кафедри фізіології та патології
 Національного фармацевтичного університету

д. мед. н., професор *Вадим ВІЗІР*
Визир 2024 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції:** Експериментальне обґрунтування застосування фітокомпозиції на основі сухого екстракту з листя журавлини для лікування метаболічного синдрому та цукрового діабету 2 типу.

2. **Ким і коли запропонований:** аспірантом кафедри фізичної реабілітації і здоров'я Національного фармацевтичного університету Анісімовою Марією Сергіївною, 2024 р.

3. **Джерело інформації:**

- 1) Кононенко Н.М., Танська М.С. Дослідження антигіперглікемічних властивостей нової фітокомпозиції на моделі цукрового діабету 2 типу. Фітотерапія. Часопис. 2023. № 4 (55). С. 22-26. <https://doi.org/10.32782/2522-9680-2023-4-22>.
- 2) Кононенко Н.М., Танська М.С. Вплив нової фітокомпозиції на процеси неферментативного глікозилювання, показники ліпідного обміну та баланс пероксидного окиснення ліпідів на моделі цукрового діабету 2 типу. Фітотерапія. Часопис. 2024. № 2. С. 97-103. <https://doi.org/10.32782/2522-9680-2024-2-97>.
- 3) Кононенко Н.М., Анісімова М.С. Вплив нової фітокомпозиції на основі екстракту з листя журавлини великоплідної та амінокислот на стан підшлункової залози й печінки щурів на моделі цукрового діабету 2 типу. News of pharmacy. 2024. №2 (108). С. 85-96. <https://doi.org/10.24959/nphj.24.149>.
- 4) Кононенко Н.М., Танська М.С. Вплив нової фітокомпозиції на формування ендотеліальної дисфункції та глюкозний гомеостаз у щурів за експериментальної інсулінорезистентності. Health & Education. 2024. Вип. 3. С. 64-69. <https://doi.org/10.32782/health-2024.3.8>.
- 5) Mariia Anisimova, Nadiia Kononenko, Valentyna Chikitkina. Effect of a new phytocomposition based on polyphenolic extract from cranberry leaves and amino acids on the state of the pancreas in metabolic syndrome. Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science». 2024. №6 (52). Р. 47-59. DOI: 10.15587/2519-4852.2024.318509.

4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, кафедра патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології.

5. **Форма впровадження:** використовується під час проведення лекцій та практичних занять.

6. **Ефективність впровадження:** підвищення якості знань здобувачів вищої освіти з питань патогенезу та лікування метаболічного синдрому та цукрового діабету 2 типу.

7. **Зауваження та пропозиції.** Не виносилися. Обговорено та затверджено на засіданні кафедри патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології, протокол № 8 від «09» грудня 2024 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувачка кафедри патологічної
 фізіології з курсом нормальної фізіології
 Запорізького державного
 медико-фармацевтичного університету
 д. мед. н., професор

Ольга ГАНЧЕВА

Ольга ГАНЧЕВА