

ДЕРЖАВНА УСТАНОВА
«ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ ЕНДОКРИННОЇ ПАТОЛОГІЇ
ІМ. В. Я. ДАНИЛЕВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ
МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ»

На правах рукопису

ЗВЯГІНА ТЕТЯНА СЕРГІЇВНА

УДК 616.43:616.08+616.06+616.1+615.22

**ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ
ЗАСТОСУВАННЯ КОМБІНОВАНОГО ТАУРИН-ВМІСНОГО
ПРЕПАРАТУ ДЛЯ ПРОФІЛАКТИКИ І ЛІКУВАННЯ
МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ ТА ДІАБЕТИЧНОЇ НЕФРОПАТІЇ**

14.01.14-ендокринологія

Дисертація
на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Науковий керівник
Горбенко Наталія Іванівна
професор, доктор
біологічних наук

Харків - 2016

ЗМІСТ

	С.
ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ ТА УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	6
ВСТУП	8
 РОЗДІЛ 1	
Сучасні аспекти патофізіології кардіометаболічних порушень за умов синдрому інсулінорезистентності і цукрового діабету та перспективність застосування таурину й інших природних засобів для їх корекції	16
1.1. Метаболічний синдром як предиктор розвитку серцево-судинних захворювань та цукрового діабету 2-го типу..	16
1.2. Основні молекулярні механізми, які обумовлюють підвищення кардіометаболічного ризику за умов метаболічного синдрому	19
1.3. Патогенез діабетичної нефропатії – одного з чинників ризику серцево-судинних ускладнень.	26
1.4. Потенційна роль таурину, екстрактів глоду та кропиви собачої в профілактиці та терапії синдрому інсулінорезистентності та цукрового діабету.	29
 РОЗДІЛ 2	
Матеріали та методи досліджень	38
2.1. Характеристика матеріалів дослідження.	38
2.2. Експериментальні моделі метаболічного синдрому	39
2.3. Методи досліджень	41
 РОЗДІЛ 3	
Вплив комбінованого таурин-вмісного препарату на основні чинники кардіометаболічного ризику у самців-щурів із метаболічним синдромом, індукованим високожировою дієтою	46
3.1. Визначення ефекту комбінованого таурин-вмісного препарату на чутливість до інсуліну та толерантність до вуглеводів у	

тварин із метаболічним синдромом.	46
--	----

3.2. Оцінка впливу комбінованого таурин-вмісного препарату на вісцеральне ожиріння та порушення ліпідного обміну . у щурів за умов високожирової дієти	49
---	----

3.3. Дослідження інтенсивності перекисного окиснення ліпідів та активності системи антиоксидантного захисту за умов синдрому інсулінорезистентності при застосуванні комбінованого таурин-вмісного препарату.	53
--	----

3.4. Визначення порушень обміну оксиду нітрогену та агрегаційної активності тромбоцитів у експериментальних тварин під впливом комбінованого таурин-вмісного препарату.	57
--	----

РОЗДІЛ 4

Дослідження впливу комбінованого таурин-вмісного препарату на прояви метаболічного синдрому, індукованого високожировою дієтою, у самиць щурів на тлі дефіциту естрогенів	61
--	----

4.1 Визначення ефекту комбінованого таурин-вмісного препарату на показники вуглеводного обміну в експериментальних тварин	61
--	----

4.2. Оцінка вісцерального ожиріння та дисліпідемії у щурів з метаболічним синдромом за умов гіпоестрогенії при застосуванні комбінованого таурин-вмісного препарату.	65
---	----

4.3 Дослідження впливу комбінованого таурин-вмісного препарату на про/антиоксидантний статус та порушення обміну оксиду нітрогену у щурів із синдромом інсулінорезистентності у сполученні з дефіцитом естрогенів.	68
---	----

4.4. Визначення ефекту комбінованого таурин-вмісного препарату на АДФ-індуковану агрегацію тромбоцитів в оварієктомованих тварин із метаболічним синдромом.	71
--	----

РОЗДІЛ 5

Визначення кардіопротекторної дії комбінованого таурин-вмісного	
---	--

препарату у щурів із метаболічним синдромом індукованим високофруктозною дієтою. 74

5.1. Характеристика основних складових метаболічного синдрому, індукованого високофруктозною дієтою у самців щурів, під впливом комбінованого таурин-вмісного препарату. 74

5.2. Визначення впливу комбінованого таурин-вмісного препарату на біоенергетичні процеси та оксидантний статус мітохондрій серця експериментальних тварин. 79

5.3. Дослідження функціонального стану серцево-судинної системи при застосуванні комбінованого таурин-вмісного препарату у щурів із синдромом інсулінорезистентності. 82

РОЗДІЛ 6

Оцінка протективного впливу комбінованого таурин-вмісного препарату на розвиток діабетичної нефропатії у щурів із стептозотоциновим діабетом. 92

6.1. Оцінка порушень вуглеводного обміну за умов цукрового діабету та застосування комбінованого таурин-вмісного препарату . . 92

6.2. Вивчення функціонального стану нирок тварин із діабетичною нефропатією, які отримували комбінований таурин-вмісний препарат. 93

6.3. Дослідження ефекту комбінованого таурин-вмісного препарату на інтенсивність оксидативного та нітрозивного стресу в експериментальних тварин 96

6.4. Визначення впливу комбінованого таурин-вмісного препарату на ультраструктурні зміни в нирках щурів із діабетичною нефропатією. 100

РОЗДІЛ 7

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ. 106

ВИСНОВКИ	132
ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ	134

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ ТА СКОРОЧЕНЬ

AGEs – кінцеві продукти посиленого неферментативного глікозилювання

Akt – протеїнкіназа B

eNOS – ендотеліальна синтаза оксиду нітрогену

IR – інсуліновий рецептор

IRS – субстрат інсулінового рецептора

NK-κB – ядерний фактор капа B

NO – оксид нітрогену

NO_x – стабільні метаболіти оксиду нітрогену

TGF – трансформуючий фактор росту

V₃ – швидкість дихання мітохондрій у метаболічному стані 3 за Чансом

V₃/V₄ – дихальний контроль

V₄ – швидкість дихання мітохондрій у метаболічному стані 4 за Чансом

АлАТ – аланінамінотрансфераза

АТФ – аденозинтрифосфат

АФК – активні форми кисню

ВГ – відновлений глутатіон

ВЖД – високожирова дієта

ВФД – високофруктозна дієта

ВЧТТГ – внутрішньочеревний тест толерантності до глюкози

ВЧТТІ – внутрішньочеревний тест толерантності до інсуліну

Г6Фаза – глюкозо-6-фосфатаза

Г6Ф-ДГ – глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа

ГПО – глутатіонпероксидаза

ДК – дієтові кон'югати

ДН – діабетична нефропатія

ЕКГ – електрокардіограма

ЕТЛ – електрон-транспортний ланцюг

ІЛ – інтерлейкін

ІР – інсулінорезистентність

КАТ – каталаза

ЛПВЩ – ліпопротеїни високої щільності

ЛПНЩ – ліпопротеїни низької щільності

МДА – малоновий діальдегід

МС – метаболічний синдром

НАД⁺ – нікотинаміддинуклеотид окиснений

НАДН – нікотинамідаденіндинуклеотид відновлений

НАДФН – нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат відновлений

НЕЖК – неетерифіковані жирні кислоти

O₂^{•-} – супероксиданіон

ПК – протеїнкіназа

ПОЛ – перекисне окиснення ліпідів

ППК – площа під глікемічною кривою

СОД – супероксиддисмутаза

ССЗ – серцево-судинні захворювання

КТП – комбінований таурин-вмісний препарат

ТГ – тригліцериди

ФА – фруктозамін

ФАДН₂ – флавінаденіндинуклеотид відновлений

ФНП – фактор некрозу пухлин

ХС – холестерин

ЦД – цукровий діабет

ЧСС – частота серцевих скорочень

ВСТУП

Актуальність теми. Пандемічний характер розповсюдженості метаболічного синдрому (МС) та цукрового діабету (ЦД) 2-го типу в останні роки призвів до драматичного зростання інвалідизації та смертності населення внаслідок серцево-судинних захворювань (ССЗ) [1, 2, 3]. МС являє собою комплекс гормональних та метаболічних порушень, які збільшують ризик кардіоваскулярної патології вдвічі, а розвиток ЦД 2-го типу – в п'ять разів у порівнянні з особами без ознак даного синдрому [4]. В Україні захворювання серця та судин спричиняють приблизно 67 % смертельних випадків щороку, що є одним із найвищих показників в Європі [5].

Головними компонентами МС є інсулінорезистентність (ІР), дисглікемія, гіперінсулінемія, абдомінальне ожиріння, атерогенна дисліпідемія, гіпертензія. До зазначеного переліку компонентів в останні роки було додано мікроальбумінурію, підвищений рівень сечової кислоти, протромбічний та прозапальний стан [6, 7].

ЦД 2-го типу являє собою кінцеву стадію тривалих метаболічних змін, індукованих інсулінорезистентністю, яка з плином часу переростає в абсолютнону інсулінову залежність [8].

Слід зазначити, що наявність МС у хворих на ЦД 2-го типу є незалежним чинником ризику всіх діабетичних судинних ускладнень, тоді як за умов ЦД 1-го типу стійка кореляція відмічається тільки з діабетичною нефропатією (ДН) та нейропатією [9]. У свою чергу, ДН, яка супроводжується мікроальбумінурією, підвищенням артеріального тиску, зниженням рівня клубочкової фільтрації та розвитком запальних процесів в нирках, також значно підвищує ризик інвалідизації та смертності хворих внаслідок серцево-судинної патології [6, 10].

Оскільки метаболічні порушення, які спричиняють розвиток ЦД 2-го типу та його судинних ускладнень, виникають задовго до клінічної маніфестації ЦД, їх фармакологічну корекцію необхідно розпочинати вже на

стадії предіабету, яка характеризується інсулінорезистентністю, порушеною толерантністю до вуглеводів і може супроводжуватися наявністю інших компонентів метаболічного синдрому [11].

До основних причин розвитку ІР (та інших складових кардіометаболічного ризику) на сьогодні, окрім генетичних факторів та малорухомого способу життя, також відносять високовуглеводну, високожирову дієту (ВЖД) та гормональний дисбаланс, зокрема, дефіцит естрогенів за умов менопаузи [12], наслідком чого є введення додаткового терміну – «постменопаузальний метаболічний синдром» [13, 14].

В останні роки було показано, що оксидативний стрес виступає патогенетичним механізмом, який поєднує ІР із дисфункцією панкреатичних β -клітин та ендотелію, що обґрунтовує доцільність використання антиоксидантів з метою профілактики та лікування ЦД і його мікро- та макросудинних ускладнень [15, 16]. При цьому особлива увага приділяється застосуванню антиоксидантних препаратів на основі природних компонентів, які містять комплекси біологічно активних речовин, структурно подібних метаболітам організму, і мають більш низьку токсичність у порівнянні з синтетичними лікарськими засобами.

У зв'язку з цим привертають увагу дані стосовно фармакологічних властивостей природної амінокислоти таурину, яка завдяки своїй унікальній хімічній структурі, залучена до таких фундаментальних клітинних процесів, як осмотична регуляція, іонний гомеостаз, посттранскрипційна регуляція активності ферментів і модуляція внутрішньоклітинного сигналіngu. Встановлено, що таурин бере участь в широкому спектрі біологічних функцій, включаючи кон'югацію жовчних кислот, стабілізацію фоторецепторних клітин сітківки, має антиоксидантні, протизапальні властивості, проявляє антиаритмічну, іонотропну та хронотропну дії, є нейромодулятором центральної нервової системи [17, 18, 19].

В останні роки також було виявлено наявність антиоксидантних, антигіперглікемічних, гіполіпідемічних та протизапальних властивостей у

таких рослинних препаратів як екстракти глоду та кропиви собачої, що може бути використано у фармакотерапії метаболічного синдрому та ЦД.

В Україні зареєстровано комбінований таурин-вмісний препарат (КТП), який, окрім таурину, також містить екстракт плодів глоду та кропиви собачої. Препарат проявляє кардіотонічну дію, антиангінальний, антиаріtmічний, антиагрегантний та седативний ефект, успішно застосовується при нейроциркуляторній дистонії, хронічній ішемічній хворобі серця та пострадіаційному синдромі. [20, 21,]. Оскільки, згідно з літературними даними [22], кожний компонент КТП в різній мірі впливає на основні патогенетичні ланки МС та ЦД, можна очікувати, що їх поєднання призведе до синергізму антидіабетичної дії.

Таким чином, існує теоретичне обґрунтування перспективності застосування комбінованого таурин-вмісного препарату для корекції метаболічних порушень, що спричиняють розвиток метаболічного синдрому, передчасного атеросклерозу та діабетичних судинних ускладнень.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота була виконана відповідно до плану науково-дослідних робіт ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України» і є фрагментом наукової теми лабораторії біохімічних досліджень АМН 03.07 «Визначення особливостей прояву метаболічного синдрому та потенційних засобів для його корекції за умов дефіциту естрогенів (експериментальне дослідження) (№ держреєстрації 0107 U 000425) (2008 р.) та госпрозрахункових тем «Доклінічне вивчення впливу таблеток «Кратал» на основні чинники ризику серцево-судинної патології за умов пре- та діабету у щурів» (2008 р.), «Вивчення впливу таблеток «Кратал» на біоенергетичні процеси та окислантий статус мітохондрій серця у щурів із метаболічним синдромом» (2010 р.).

Мета і завдання дослідження. Мета – експериментально обґрунтувати ефективність застосування комбінованого таурин-вмісного препарату для корекції основних складових кардіометаболічного ризику за умов

метаболічного синдрому та гальмування розвитку діабетичної нефропатії.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити низку завдань:

1. Оцінити вплив комбінованого таурин-вмісного препарату на вуглеводний та ліпідний обмін, розвиток оксидативного та нітрозивного стресу, стан системи згортання крові у самців щурів із метаболічним синдромом, індукованим високожировою дієтою.

2. Дослідити вплив перорального введення комбінованого таурин-вмісного препарату на метаболічні порушення, індуковані високожировою дієтою у щурів-самиць із синдромом інсулінорезистентності на тлі гіпоестрогенії.

3. Вивчити вплив комбінованого таурин-вмісного препарату на метаболічні прояви синдрому інсулінорезистентності, індукованого високофруктозною дієтою у самців щурів.

4. Дослідити можливі механізми кардіопротекторної дії комбінованого таурин-вмісного препарату за умов метаболічного синдрому, індукованого високофруктозною дієтою, за показниками біоенергетичних процесів та про/антиоксидантного статусу в мітохондріях серця щурів.

5. Дослідити вплив комбінованого таурин-вмісного препарату на функціональний стан серцево-судинної системи у щурів із метаболічним синдромом різного генезу.

6. Оцінити вплив комбінованого таурин-вмісного препарату на розвиток діабетичної нефропатії у щурів із стрептозотоциновим діабетом (за показниками глікемії та глюкозурії, інтенсивністю перекисного окиснення ліпідів у нирках, товщиною базальної гломерулярної мембрани, кліренсом креатиніну, рівнем стабільних метаболітів оксиду нітрогену в сечі та сироватці крові).

Об'єкт дослідження — метаболічні прояви синдрому інсулінорезистентності та діабетичної нефропатії та їх фармакологічна корекція.

Предмет дослідження – метаболічні та функціональні показники у тварин із синдромом інсулінорезистентності різного генезу, морфофункціональний стан нирок за умов діабетичної нефропатії, фармакологічні властивості комбінованого таурин-вмісного препарату..

Методи дослідження. Біохімічні, фізіологічні, гістологічні, біофізичні, фармакологічні, статистичні.

Наукова новизна. У дисертаційній роботі вперше виявлено протективний вплив КТП щодо метаболічних та функціональних проявів синдрому інсулінорезистентності різного генезу (індукованого високовуглеводною, високожировою дієтою або комбінацією дефіциту естрогенів та дієти з високим вмістом жирів) та розвитку діабетичної нефропатії.

Встановлено, що застосування КТП у самців щурів із МС, індукованим ВЖД або високовуглеводною дієтою, гальмує розвиток таких чинників ризику серцево-судинної патології, як ІР, інтолерантність до вуглеводів, абдомінальне ожиріння, гіпертригліцеридемія, гіперхолестеринемія, оксидативний стрес, ендотеліальна дисфункція, протромбічний стан, порушення біоенергетичних процесів у мітохондріях серця та дисфункція серцево-судинної системи.

У роботі вперше доведено, що використання КТП у тварин із МС на тлі гіпоестрогенії призводить до зниження ІР, поліпшення толерантності до вуглеводів, зменшення відносної маси вісцерального жиру та оксидативного стресу, підвищення ендогенної продукції оксиду нітрогену та поліпшення гемореологічних властивостей крові.

Вперше встановлено, що застосування КТП у щурів із стрептозотоциновим діабетом гальмує розвиток ДН, знижуючи базальну гіперглікемію, глюкозурію, нормалізуючи кліренс креатиніна та швидкість клубочкової фільтрації, ослаблюючи нітрозивний та оксидативний стрес, зменшуючи виразність мікроальбумінурії та морфоструктурних змін у нирках.

Наукова новизна отриманих результатів підтверджена патентами-аналогами на винахід (1 патент України, 1 – Російської Федерації).

Обґрунтованість і достовірність наукових положень, висновків та рекомендацій. Положення та висновки ґрунтуються на достатній кількості спостережень (роботу виконано на 90 щурах) з використанням сучасних методів досліджень. Статистичний аналіз даних проведено за допомогою параметричних методів. Результати дослідження проаналізовано й обговорено з урахуванням даних літератури. Положення та висновки дисертації базуються на результатах проведеного дослідження.

Наукове значення роботи. Одержані дані розкривають особливості біологічної активності та механізму дії КТП за умов метаболічного синдрому різного генезу (індукованого високовуглеводною, високожировою дієтою або комбінацією дефіциту естрогенів та дієти з високим вмістом жирів) та діабетичної нефропатії. Проведений комплекс досліджень надає підстави для розширення спектра фармакологічного застосування КТП, які можуть бути використані в фармакотерапії метаболічного синдрому та цукрового діабету.

Практичне значення одержаних результатів. Отримані результати стали підґрунтям для проведення клінічних досліджень, в результаті яких були внесені зміни до інструкції з медичного застосування препарату «Кратал», що розширюють показання для його клінічного використання у складі комбінованої терапії за умов цукрового діабету 2-го типу (Наказ МОЗ України № 193 від 18.03.2014).

Особистий внесок здобувача. Автором самостійно здійснено патентно-інформаційний пошук, узагальнення даних літератури за проблемою, відтворення експериментальних моделей МС різного генезу і ЦД, проведення біохімічних, біофізичних та фармакологічних досліджень, статистичний аналіз та обговорення одержаних даних, сформульовано основні положення та висновки роботи, підготовлено наукові праці до друку.

Дизайн дисертаційного дослідження розроблено під керівництвом проф., д.б.н. Н. І. Горбенко. Електрокардіографічні дослідження проведено за участю с.н.с., к.б.н. О. В. Іванової, гістологічні – к.б.н. О. П. Лукашової.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи доповідалися та обговорювалися на III міжнародній конференції молодих науковців „Біологія: від молекули до біосфери” (Харків, 2008), науково-практичних конференціях з міжнародною участю «Проблемні питання ендокринології у віковому аспекті» (Харків, 2009), «Досягнення та перспективи експериментальної та клінічної ендокринології» (Дев’яти Данилевські читання) (Харків, 2010), V міжнародній конференції молодих науковців „Біологія: від молекули до біосфери” (Харків, 2010), «Досягнення та перспективи експериментальної та клінічної ендокринології» (Десяті Данилевські читання) (Харків, 2011), «Досягнення та перспективи експериментальної та клінічної ендокринології» (Одинадцяті Данилевські читання) (Харків, 2012), II конгресі асоціації ендокринологів України (Київ, 2012), міжнародному медичному конгресі (Київ, 2012), VI національному конгресі патофізіологів України (Місхор, 2012); 5-му щорічному з’їзді з питань діабету та кардіоваскулярних захворювань (EASD study group) (Париж, 2012), «Досягнення та перспективи експериментальної та клінічної ендокринології» (Дванадцяті Данилевські читання) (Харків, 2013), 8-й науково-практичній конференції «Активные формы кислорода, оксид азота, антиоксиданты и здоровье человека» (Смоленск, 2014).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 21 наукова праця, з яких 7 статей у наукових фахових виданнях, що затверджені Міністерством освіти і науки України (6 – у співавторстві, 1 з яких опубліковано в журналі, що індексується в міжнародних наукометричних базах, та 1 одноосібна), 2 патенти-аналоги (1 патент України, 1 Російської Федерації), 12 матеріалів тез з’їздів та конференцій.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційну роботу викладено на 161 сторінках друкованого тексту і включає: вступ, огляд літератури, розділ

матеріалів та методів дослідження, 4 розділи власних експериментальних досліджень, аналіз та обговорення отриманих результатів, висновки, список використаних джерел, що містить 261 посилання та займає 27 сторінок. Роботу проілюстровано 35 таблицями та 5 рисунками.

РОЗДІЛ 1
СУЧАСНІ АСПЕКТИ ПАТОФІЗІОЛОГІЇ
КАРДІОМЕТАБОЛІЧНИХ ПОРУШЕНЬ ЗА УМОВ
СИНДРОМУ ІНСУЛІНОРЕЗИСТЕНТНОСТІ І ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ
ТА ПЕРСПЕКТИВНІСТЬ ЗАСТОСУВАННЯ ТАУРИНУ Й ІНШИХ
ПРИРОДНИХ ЗАСОБІВ ДЛЯ ЇХ КОРЕКЦІЇ

1.1. Метаболічний синдром як предиктор розвитку серцево-судинних захворювань та цукрового діабету 2-го типу

В останні роки було показано, що МС зустрічається не лише серед дорослого населення, але все частіше серед підлітків та дітей країн, що розвиваються та розвинутих, в тому числі в Європі та Північній Америці [24]. Виявлено, що наслідком метаболічного дисбалансу за умов синдрому інсулінорезистентності або ЦД є розвиток серцево-судинних ускладнень, зокрема, атеросклерозу, інфаркту міокарда, ішемічної хвороби серця, тромбозів, аритмій, інсультів, нефро- та ретинопатії, що спричиняють глобальні соціально-економічні втрати населення [4, 23].

МС визначається взаємодією фізіологічних, біохімічних, клінічних та метаболічних факторів, а саме вживанням висококалорійної дієти та алкоголю, зниженням фізичних навантажень, палінням, стресами, гормональними порушеннями та генетичними особливостями. Встановлено, що наявність даної патології безпосередньо підвищує ризик розвитку ЦД 2-го типу в п'ять разів, а ССЗ в два рази, зокрема в 2-4 рази підвищується частота серцевих нападів, в 3-4 рази ризик інфаркту міокарда та в два рази смертельні випадки у порівнянні з особами без ознак даного синдрому [4].

В результаті чисельних фундаментальних та клінічних досліджень виявлено, що хронічна гіперглікемія, гіпертензія, ожиріння, гіперліпідемія та інші компоненти МС в значній мірі корелюють із розвитком та прогресуванням ДН, а в подальшому кінцевої ниркової недостатності [25].

ДН складає 47,66 % мікросудинних ускладнень і є причиною 60 % смертельних випадків серед хворих на ЦД. Пацієнти, що мають ниркову недостатність та ЦД одночасно, вмирають в 17 разів частіше, ніж без діабету [26, 27].

Вперше термін МС (інші його назви: синдром «Х», синдром інсулінорезистентності чи кардіометаболічний синдром) ввів *Reaven* в 1988 році, визначивши кластер факторів ризику серцево-судинних порушень, головними серед яких виступають вісцеральне (центральне або абдомінальне) ожиріння, інсулінорезистентність, гіперглікемія, дисліпідемія, гіперінсулінемія та гіпертензія. Пізніше було встановлено, що до вказаного симптомокомплексу також входять підвищення вмісту сечової кислоти в сироватці крові, мікроальбумінурія, прозапальний та протромбічний стан [28, 29, 30].

Виявлено, що жінки репродуктивного віку мають меншу частоту кардіоваскулярних захворювань, ніж чоловіки тієї ж вікової категорії, але дефіцит естрогенів в постменопаузальний період є додатковим фактором, що спричиняє метаболічні порушення характерні для синдрому інсулінорезистентності, саме тому «жіночі переваги» після 45-50 років зникають [31, 32].

Вісцеральне ожиріння також має пандемічний характер розповсюдженості та пов'язане з кардіометаболічним ризиком, особливо у менопаузальних жінок [33]. МС не завжди зустрічається у поєднанні з ожирінням вісцерального типу, але ожиріння є однією з умов його розвитку [29].

Накопичення вісцерального жиру пов'язане не лише з кількісними, але й з якісними змінами ліпідного профілю в сироватці, а саме із підвищенням ТГ, НЕЖК, аполіпропротеїну В, загального холестерину (ХС), холестерину ліпопротеїнів низької щільності (ХС-ЛПНЩ) та зниженням холестерину ліпопротеїнів високої щільності (ХС-ЛПВЩ) [33, 34].

Відомо, що адипоцити запасують енергію у вигляді тригліцеридів, які за необхідності мобілізуються у жирні кислоти під час ліполізу. Жирова тканина являє собою не лише депо ліпідів, але й місце синтезу адипокінів (адипоцитокінів) – біологічно активних молекул, які здатні впливати на центри контролю насичення та голоду в центральній нервовій системі, модулювати споживання енергії іншими тканинами, впливати на метаболізм ліпідів та вуглеводів, диференціювання адипоцитів, виконують імунну регуляцію та нейроендокринну функцію [35, 36].

Збільшення маси білої жирової тканини в результаті переїдання відзначається глибокою перебудовою її клітинних компонентів, а саме: гіпертрофією адипоцитів, інфільтрацією імунних клітин, надмірним синтезом компонентів позаклітинного матриксу та посиленою продукцією прозапальних цитокінів [37].

Ожиріння характеризується хронічним запаленням низького ступеня, причиною якого є гіперплазія та гіпертрофія жирових клітин, що призводить до дисбалансу в продукції цитокінів, наслідком чого є зниження чутливості до інсуліну, посилення запалення та розвиток гіпертензії, атеросклерозу та дисфункції судин [38]. Зокрема, підвищується рівень прозапальних адипоцитокінів – ФНП- α , ІЛ-6 та лептину, проте кількість адипонектину знижується [39]. В біологічних дослідженнях на клітинах показано, що адипонектин має антиатерогенні [33], протизапальні та інсулін-сенсibiliзуючі властивості [39, 40]. Дефіцит адипонектину відіграє важливу роль в патофізіологічному аспекті пацієнтів із порушеним глюкозним гомеостазом, а його недостатність пов'язана з розвитком альбумінурії в суб'єктів з ожирінням [41]. Виявлено негативну кореляцію між концентрацією адипонектину в плазмі крові та масою вісцерального жиру, а також той факт, що його рівень у чоловіків нижчий, ніж у жінок [42].

Встановлено, що розмір інтраабдомінальних накопичень жиру тісно пов'язаний із розвитком не лише МС, але й гепатостеатозу та печінкової ІР [43]. В умовах неадекватного адипогенезу, що є наслідком ожиріння,

ліпіди накопичуються в інших органах, відкладання жирів в яких є нетиповим, зокрема печінці, серці, скелетній мускулатурі, вказаний процес має назву «ектопічного відкладання ліпідів» [43].

Таким чином, метаболічний синдром являє собою симптомокомплекс, компоненти якого зумовлюють збільшення ризику розвитку кардіоваскулярних захворювань та цукрового діабету.

1.2. Основні молекулярні механізми, які обумовлюють підвищення кардіометаболічного ризику за умов метаболічного синдрому

Встановлено, що в результаті взаємодії інсуліну з позаклітинним доменом інсулінового рецептору (IR) фосфорилуються субстрати інсулінового рецептора 1-4 (IRS), Shc, білок зв'язаний із Grb-2, Dock1, Cbl та APS адапторний білок. Існує три основних каскади, що активуються інсуліном: 1) фосфатидилінозитол-3 кіназний (PI3P), основний, 2) шлях мітоген-активуємої протеїн кінази (MAPK) та 3) асоційований із Cbl протеїном [39].

Активація IR та послідовне фосфорилування IRS призводять до запуску IRS/PK-13 (або PI3K/Akt) шляху й активації фосфатидилінозитол-3 залежних кіназ. [44]. Принципова роль Akt (або ПК-В) полягає в тому, що вона: 1) стимулює захват глюкози скелетними м'язами та жировою тканиною, 2) сприяє відкладанню глюкози в печінці у вигляді глікогену, 3) посилює в печінці перетворення надлишку глюкози в ліпіди, 4) індукує синтез білків в м'язах, 5) інгібує розпад глікогену в печінці та скелетній мускулатурі, 6) супресує вивільнення жирних кислот з жирової тканини, 7) пригнічує продукцію глюкози печінкою *de novo*, 8) затримує катаболізм білків в м'язах [45].

За умов ІР змінюється експресія генів ліпідного, глюкозного та білкового метаболізму, запалення, редокс балансу, мітохондріальної функції [47]. МС включає ІР в різних органах: мозку, печінці, підшлунковій

залозі, жировій тканині, скелетних м'язах та серцево-судинній системі [39]. Встановлено, що в міокарді вона може призвести до розвитку кардіоміопатії [48] та в різних тканинах проявляється по-різному: в клітинах м'язів порушується захват глюкози та інших поживних речовин у відповідь на дію інсуліну, в той час як в жировій тканині збільшується гідроліз відкладених ТГ у поєднанні зі зниженням захвату нутрієнтів [46].

Запропоновано кілька механізмів, що пояснюють розвиток ІР та порушення секреції інсуліну: ліпотоксичність, глюкотоксичність, низький ступінь запалення, оксидативний стрес та стрес в ендоплазматичному ретикулумі, але єдиним механізмом, що об'єднує всі ці шляхи є активація стрес-чутливих серін/треонінових кіназ, зокрема JNK, ПК-С (протеїн кіназа С), GSK-3, p38 MAPK та транскрипційного ядерного фактору капа Б (NF-κB) [45, 46, 47].

На сьогодні добре відомо, що системний дисбаланс ліпідів є спільним компонентом між МС, предіабетом та ЦД 2-го типу, і ліпотоксичність може індукувати дисрегуляцію глюкозного гомеостазу та патогенез вказаних порушень [45].

Існує кілька гіпотез щодо ролі насичених жирних кислот в розвитку ІР: цикл Randle, оксидативний стрес, модуляція генної транскрипції, запалення, накопичення внутрішньоклітинних дериватів ліпідів (діацилгліцеролів та церамідів), а також мітохондріальна дисфункція. Ліпіди можуть знижувати чутливість до інсуліну завдяки активації ізоформ ПК-С, а також іншими шляхами, наприклад, активуючи протеїнфосфатазу 2A, серін-треонінову фосфатазу, що знижує активацію Akt в скелетних м'язах [49, 50].

Встановлено, що в залежності від ступеня насиченості жирні кислоти мають різний вплив на інсуліновий сигналінг: насичені, зокрема пальмітинова (16:0) та стеаринова (18:0) погіршують чутливість до інсуліну, в той час як моно- або поліненасичені ніяк не впливають, або навіть поліпшують дію інсуліну. Що саме є причиною такої різниці – не ясно, але відомо, що ненасичені жирні кислоти переважно є субстратами для синтезу

ТГ, насичені – критичних ліпідних інтермедіатів (діацилгліцеролу та церамідів), що накопичуються в органах, які в нормі не являють собою депо ліпідів [45].

Підвищений рівень жирних кислот в плазмі крові пригнічує транспорт глюкози і/або її фосфорилування з подальшим зниженням швидкості окиснення та синтезу глікогену в печінці [34].

В дослідях на мишах було показано, що вживання дієти з високим вмістом жирів призводить до активації JNK1 в інсулін-чутливих тканинах. JNK1 протеїн кіназа залучена до розвитку ІР, ймовірно завдяки фосфорилуванню IRS за залишком серіну 307, що порушує його взаємодію із фосфорильованим за тирозіновим доменом IR [51].

За патологічних умов ЦД імунцити (макрофаги) та адипоцити можуть продукувати ІЛ-6 та ФНП- α , які індукують фосфорилування IRS за залишками серіну за допомогою активації JNK та NF- κ B шляхів, що є одним з механізмів розвитку ІР. Подальша продукція вказаних цитокінів спричиняє панкреатичну дисфункцію та сприяє прогресії ЦД [52]. ФНП- α та ІЛ-6 також погіршують інсуліновий сигналінг шляхом активації MAPK, PK-C, mTOR/S6K1 та SOCS-3 опосередкованої деградації IRS1 [48].

Показано, що в печінці ІЛ-6 може викликати ІР шляхом зниження експресії IR та SOCS3, адапторного білка, який зв'язує IRS1, що сприяє його убіквітизації та деградації [53].

Отже, жирні кислоти одночасно виступають медіаторами запалення та ІР, будучи пов'язаними з маніфестацією запального процесу шляхом модуляції кількох сигнальних шляхів запаленням. Наприклад, прямо активують толуолоподібні рецептори (TLRs), рецептори, асоційовані з G-протеїнами (GPCRs), рецептор фактору некрозу пухлин- α , а також залучаються до посилення секреції цитокінів (ІЛ-1 β , ІЛ-6 та ФНП- α), оксидативного та нітрозивного стресу, мітохондріальної дисфункції, стресу в ендоплазматичному ретикулумі та експресії генів запалення. Наслідком вищевказаних процесів є зниження окиснення жирів, посилення

ектопічного відкладання ліпідів, погіршення шляху передачі інсулінового сигналу [47].

Гіпертрофовані адипоцити є джерелом активних форм кисню (АФК), які, в свою чергу, посилюють дисфункцію жирової тканини та значно змінюють продукцію адипокінів. Існує кілька місць утворення АФК: 1) посилене надходження субстратів до мітохондрій підвищує активність електрон-транспортного ланцюга (ЕТЛ); 2) члени сімейства НАДФН-оксидаз (нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат відновлений) (NOX), які є мембрано-зв'язаними ферментами, що сприяють утворенню $O_2^{\cdot-}$, який в подальшому перетворюється за допомогою супероксиддисмутази (СОД) на перекис водню (H_2O_2), молекулу із більшою тривалістю життя; 3) в клітинах білої жирової тканини у пацієнтів із ожирінням високий рівень експресії як ендотеліальної форми синтази оксиду нітрогену (eNOS), так і індукцибельної (iNOS), які продукують значну кількість оксиду нітрогену (NO), що реагує із $O_2^{\cdot-}$, утворюючи пероксинітрит. Незважаючи на наявність активної системи антиоксидантного захисту в адипоцитах, за умов ожиріння антиоксидантний статус значно знижується: зменшується експресія СОД, глутатіонпероксидази (ГПО) та каталази (КАТ) [54].

АФК, що генеруються під час гіперглікемії, порушують не лише активацію Akt у відповідь на дію інсуліну, але й функцію eNOS, знижуючи біодоступність NO та клітинний рівень тетрагідробіоптерину (кофактору, необхідного для нормальної роботи вказаного ферменту), наслідком чого є гіперпродукція $O_2^{\cdot-}$ [34].

Встановлено, що оксидативний стрес відіграє ключову роль в розвитку ІР та асоційованих із нею порушень. На сьогодні чітко виявлений негативний взаємозв'язок між посиленням утворення АФК внаслідок хронічної гіперглікемії та діабетичних ускладнень (ендотеліальних, ниркових та нейрональних) [55].

В патологічних умовах мітохондрія стає одночасно головним індуктором та мішенню радикалів кисню, маючи при цьому нижчий, ніж в

цитоплазмі рівень антиоксидантів [56]. Накопичення АФК призводить до розвитку оксидативного стресу, наслідком чого є окиснення різних компонентів клітини, в тому числі дезоксирибонуклеїнових кислот (ДНК), мембранних фосфоліпідів та протеїнів, знижується афінність білків мітохондрій до субстратів та коферментів, змінюється проникність мембрани та зміни ДНК призводять до апоптозу й мутацій [47, 57, 58]. За умов оксидативного стресу пошкоджуються макромолекули не лише в середині мітохондрії, але й поза її межами. АФК можуть взаємодіяти із NO утворюючи токсичний продукт – пероксинітрит, який реагує із залишками тирозину [56].

Мітохондріальна дисфункція характеризується пригніченням споживання кисню та β -окиснення жирних кислот, змінами мембранного потенціалу та зниженням рівня аденозинтрифосфату (АТФ) внаслідок дисбалансу між надходженням та витратами енергії. Зниження окиснення жирних кислот призводить до накопичення ацил-коензимів та дериватів ліпідів у середині клітин різних органів (адипоцитах, скелетних м'язах та печінці), що стає причиною погіршення інсулінового сигналіngu [56].

Окрім ЕТЛ в мітохондріях, існують інші ферменти, що генерують активні форми кисню та азоту, провокуючи оксидативний та нітрозивний стрес: НАДФН-оксидаза та мієлопероксидаза фагоцитуючих імунних клітин, CYP2E1 (етанол-індуцибельний цитохром P450 2E1) та CYP4A ізоим ендоплазматичного ретикулуму, цитоплазматична ксантинооксидаза та NO-синтаза, включаючи індукцибельну форму. Більшість з вказаних ферментів активується у відповідь на вплив токсичних агентів, в тому числі ВЖД [56].

Існує гіпотеза, що гіперглікемія призводить до посиленого надходження донорів електронів – ФАДН₂ (флавінаденіндинуклеотид відновлений) та НАДН (нікотинамідаденіндинуклеотид відновлений), в результаті підвищується потік електронів крізь ЕТЛ та зростає співвідношення АТФ/АДФ та гіперполяризується мітохондріальна мембрана.

Вказаний процес призводить до високої різниці електрохімічних потенціалів, що частково інгібує комплекс ЕТЛ та накопичення електронів на коензимі Q, підвищуючи рівень відновленого коензиму Q та $O_2^{\cdot-}$ й інших АФК, що стають причиною мітохондріальної дисфункції [58].

Підвищення продукції $O_2^{\cdot-}$ спричиняє активацію п'яти головних шляхів, пов'язаних із патогенезом діабетичних ускладнень, які є незначними за умов еуглікемії: 1) поліолового шляху; 2) посиленого утворення кінцевих продуктів посиленого неферментативного глікозилювання (AGEs); 3) підвищеної експресії рецепторів до AGEs; 4) активації ізоформ ПК-С та 5) гіперфункції гексозамінного шляху. Вказані порушення призводять до інактивації ключових антиатеросклеротичних ферментів: eNOS та простациклінсинтази. Всі п'ять шляхів активуються єдиним пусковим фактором – надмірною продукцією АФК в мітохондріях, що спричиняє ще більше утворення останніх на внутрішньоклітинному рівні, результатом чого є порушення ангіогенезу, активація прозапальних шляхів та епігенетичні зміни, що залишаються навіть після нормалізації глікемії («глікемічна пам'ять») [59].

На сьогодні добре відомо, що AGEs відіграють активну роль у розвитку кардіо-, міо-, нефро- та ретинопатії за умов ЦД. Існує чотири основних механізми негативного впливу AGEs на судини: 1) модифікація протеїнів в середині клітини, що впливає на регуляцію генної транскрипції; 2) зміна молекул позаклітинного матриксу з послідуєчим порушенням сигналіngu між матриксом та клітинами, утворення поперечних зв'язків між ключовими молекулами базальної мембрани та колагеном, ламініном, вітронектином та еластином, вплив на гнучкі характеристики протеїнів матриксу, що робить його непіддатливим і знижує контрактильну функцію міокарда та судин; 3) пошкодження білків кров'яного русла та негативний вплив на їх роботу, оскільки вони змінюють свою молекулярну конформацію і ферментативну активність, взаємодію з рецепторами та інші функції; 4) AGEs можуть активувати спеціальні рецептори на поверхні клітин, RAGEs – один з видів

рецепторів, взаємодія з якими призводить до змін каскаду внутрішньоклітинних сигналів, провокує розвиток запалення, апоптозу, протромбічного стану, фіброзу шляхом активації TGF- β , посилення синтезу колагенів III, IV, V, VI типів, ламініну та фібрoneктину, індукує NF- κ B, експресію молекул адгезії та оксидативний стрес. Окрім того, активація вказаних рецепторів в подальшому сприяє індукції iNOS та підвищенню вмісту NO до токсичних концентрацій, що, в свою чергу, після взаємодії із киснем призводить до утворення пероксинітриту (нітрозивний стрес), активного метаболіту, який пошкоджує білки, ДНК, активує NF- κ B, каспазу-3 та індукує апоптоз клітин судин [60, 61].

Виявлено, що глікозильовані білки в комбінації з ліпідами можуть утворювати кінцеві продукти посиленої ліпопероксидації, які чинять негативний вплив на судини сітківки та неоваскуляризацію, вказаний процес частково блокується антиоксидантами [57].

Поліоловий шлях активується хронічною гіперглікемією, завдяки чому близько 30 % глюкози відновлюється за допомогою альдозоредуктази до сорбітолу та під впливом сорбітолдегідрогенази перетворюється на фруктозу. Під час вказаних процесів знижується вміст НАД⁺ (нікотинамідаденіндинуклеотид окиснений) та підвищується НАДН, результатом чого є розвиток відновлювального стресу. Більш того, перша реакція призводить до зниження НАДФН, необхідного для відновлення окисненого глутатіону, наслідком чого є зниження антиоксидантних властивостей та посилення утворення АФК. В подальшому сорбітолдегідрогеназа конкурує з гліцеральдегідфосфатдегідрогеназою за НАД⁺, що робить його менш доступним для синтезу NO, необхідного для вазоконстрикції та агрегації тромбоцитів [62].

Гексозамінний шлях є альтернативою гліколітичному та включає утворення з фруктозо-6-фосфату за допомогою глютамінфруктозо-6-фосфатамінотрансферази глюкозаміно-6-фосфату з подальшим його перетворенням в UDP-N-ацетилглюкозамін, субстрат специфічний для

O-GlcNAc трансферази, що каталізує посттрансляційні модифікації протеїнів за залишками серину та треоніну [62].

Фруктозо 1:6-біфосфат розщеплюється на дигідроксиацетонфосфат та гліцеральдегід-3-фосфат, які можуть перетворюватися одне в одного за допомогою реакції ізомеризації. Накопичення гліцеральдегід 3-фосфату може посилювати синтез діацилгліцеролу, активатора ПК-С, яка, в свою чергу, сприяє підвищенню вмісту ФНП-1 β , ендотеліну-1, NF- κ B та фактору росту ендотелію судин, а також індукує утворення АФК НАДФН-оксидазою. Встановлено, що ПК-С активує НАДФН-оксидазу шляхом фосфорилування p47^{phox} субодиниці, посилюючи її транслокацію з цитозоля до місця збірки компонентів вказаного ферменту на мембрані. Окрім того активація ПК-С індукує IP, шляхом пригнічення Akt-залежної функції NO-синтази, експресію TGF- β , головного медіатора фіброзу при захворюваннях, пов'язаних з атеросклерозом, зокрема ДН [62, 63]. Показано, що активація ПК-С модифікує транскрипцію генів колагену, фібронектину, контрактильних та білків позаклітинного матриксу в ендотеліальних клітинах та нейронах, залучається до зниження кількості періцитів за умов розвитку ретинопатії [57, 58].

Таким чином, за умов синдрому інсулінорезистентності підвищується кардіометаболічний ризик за рахунок таких молекулярних механізмів, як: оксидативний стрес, дисглікемія, дисліпідемія та прозапальний стан.

1.3. Патогенез діабетичної нефропатії – одного з чинників ризику серцево-судинних ускладнень

В результаті фундаментальних та клінічних досліджень показано, що ожиріння, гіпертензія, гіперглікемія, гіперліпідемія, гіперінсулінемія та інші складові МС тісно корелюють з розвитком та прогресуванням ДН. Взаємодія перерахованих компонентів з індивідуальними факторами призводить до

множинних метаболічних аномалій, що ініціюють ниркову вазодилатацію, гломерулярну гіперфільтрацію та альбумінурію [25, 64, 65].

Відомо, що приблизно у 20 % пацієнтів із ЦД 1-го або 2-го типу після кількох років захворювання розвивається ДН [66].

Механізми, що складають основу патофізіологічних змін в нирках за умов МС включають посилення гломерулярної фільтрації, ниркову ендотеліальну дисфункцію, активацію ренін-ангіотензин-альдостеронової системи, оксидативний стрес та аномальну секрецію факторів росту. Результатом вищезазначених порушень є розвиток мікроальбумінурії, проліферація мезангіальних та судинних клітин нирок, розростання позаклітинного матриксу [65]. Швидкість екскреції альбуміну із сечею та швидкість гломерулярної екскреції є предикторами нефропатії та хронічного захворювання нирок вже на стадії предіабету [67]. Отже контроль глікемії, рівня ліпідів, артеріального тиску та зниження альбумінурії може сприяти уповільненню або попередженню прогресування нефропатії [25].

Встановлено, що надмірний рівень глюкози натще є патологічною умовою для посилення утворення $O^{2\bullet-}$, який в свою чергу активує основні метаболічні шляхи, запропоновані *Brownlee та співавт.*, що спричиняють розвиток оксидативного стресу, і є унікальним механізмом патогенезу порушень ЦД та МС, зокрема ДН [64]. Показано, що введення антиоксидантів (темполу, тіолу, калістатину) поліпшувало індуковане оксидативним стресом пошкодження нирок, знижуючи рівень альбумінурії та фіброз [68].

Наявність оксидативного стресу було зафіксовано як на моделях ІР у тварин, так і у пацієнтів із ЦД 1-го та 2-го типу. Високий рівень глюкози посилює утворення АФК в мітохондріях ендотеліальних клітин нирок, наслідком чого є дисрегуляція редокс-чутливих сигнальних шляхів та окиснення ДНК, ліпідів, протеїнів, в результаті синтез компонентів матриксу підвищується, а металопротеїнази, що відповідає за його деградацію

знижується. ФНП- α також посилює генерацію АФК в клітинах проксимальних каналців та капсули нефрону [65].

AGEs, які утворюються в результаті хронічної гіперглікемії, підвищують рівень експресії компонентів позаклітинного матриксу, цитокінів, факторів росту, результатом чого є потовщення базальної мембрани та розвиток гломерулосклерозу. Взаємодія AGEs з RAGEs індукує експресію інгібітора-1 активатора плазміногену та мРНК (матрична рибонуклеїнова кислота) трансглютамінази в тубулярних епітеліальних клітинах. Глюкозо-6-фосфат, продукт гексозамінного шляху, стимулює транскрипцію TGF- β , що також спричиняє гломерулосклероз [65, 66].

Встановлено, що ліпотоксичність також впливає на розвиток ниркових порушень, оскільки гіперліпідемія посилює пошкодження в клітинах капсул нефронів шляхом позитивної регуляції SREBP-1 та 2 (білки 1 і 2, що зв'язуються зі стерол-регуляторним елементом) [25, 69].

Виявлено, що у суб'єктів із ожирінням та діабетом механізм гломерулозу є подібним та пов'язаний з інфільтрацією макрофагів в нирки, посиленням продукції ФНП- α , ІЛ-6 та MCP-1, С-реактивного білка, молекули-1 адгезії клітин судин (VCAM-1) та розвитком оксидативного стресу. Хронічна гіперглікемія спричиняє активацію гормональних шляхів, зокрема ренін-ангіотензин-альдостеронової системи та ендотеліну; ПК-С, MAPK, транскрипційного фактору NF- κ B, результатом чого є зміна експресії значної кількості цитокінів та факторів росту, насамперед трансформуючого фактору росту- β (TGF- β), ключового тригера апоптозу подоцитів, проліферації мезангіальних клітин та синтезу компонентів позаклітинного матриксу, зокрема колагену VI та фібронектину [25, 68, 26].

Встановлено, що адипонектин має ренопротекторні властивості, пригнічуючи оксидативний стрес, запалення та фіброз, незалежно від його системної дії, та його рівень в сироватці крові негативно корелює із швидкістю екскреції альбуміну. У пацієнтів із ЦД 2-го типу було виявлено зниження концентрації вказаного цитокіну та посилення альбумінурії [70].

Але є цитокіни, що негативно впливають на функції нирок, зокрема лептин: існує прямий зв'язок між його концентрацією, жировими накопиченнями в інтраабдомінальній області та посиленою активацією в гіпоталамусі симпатичної нервової системи, результатом чого є підвищення артеріального тиску [65].

Таким чином, розвиток ДН, як одного з чинників ризику серцево-судинних ускладнень, є результатом кумулятивної дії багатьох метаболічних та гемодинамічних факторів, що активують універсальні внутрішньоклітинні сигнальні шляхи, які спричиняють посилення продукції прозапальних цитокінів та факторів росту.

1.4. Потенційна роль таурину, екстрактів глоду та кропиви собачої в профілактиці та терапії синдрому інсулінорезистентності та цукрового діабету

Таурин – природна аміносультфокислота, яку вперше було виділено з жовчі бика (*lat. Bos taurus*) в 1827 році, присутня в клітинах майже всіх органів ссавців. Вміст таурину залежить від типу тканини та клітин, висока концентрація цієї сполуки виявлена в жовчі, кишечнику, серці, скелетних м'язах, мозку та нервових волокнах, печінці, нирках, сітківці ока та лейкоцитах. Основна маса таурину надходить в організм людини з їжею тваринного походження (молоко, яйця, м'ясо, риба, морепродукти), але в незначній кількості він також може синтезуватися з цистеїну за участю декарбоксилази цистеїнсультфонилової кислоти та в присутності вітаміну B₆, являючись кінцевим продуктом обміну сірковмісних амінокислот. Для деяких видів тварин, наприклад кішок, він є незамінним компонентом, оскільки вони нездатні його синтезувати, тому обов'язково мають отримувати з кормом. Таурин абсорбується в шлунково-кишковому тракті та транспортується крізь апікальну мембрану за допомогою високоафінного транспортеру таурину (TauT), також значна його кількість проходить шляхом

дифузії. Таурин є Na-Cl-залежним та експресується в усіх тканинах ссавців, завдяки чому можливий транспорт таурину проти градієнту концентрації, оскільки в тканинах його в 100 разів більше, ніж в плазмі (20-100 μM). Екскреція таурину у ссавців відбувається, головним чином, нирками, швидкість якої залежить від вживання продуктів, що містять вказану амінокислоту [71, 72, 73, 74, 75, 76].

Встановлено, що в клітинному середовищі таурин існує як цвіттеріон при фізіологічних рН, добре розчиняється у воді та не входить до складу протеїнів, виконує багато біологічних функцій, включаючи детоксикацію, стабілізацію мембрани, регуляцію осмотичного тиску, кон'югацію жовчних кислот (таурохолієвої та тауроксенодеоксихолієвої) та сприяє засвоєнню ліпідів при травленні, регулює рівень кальцію, натрію, та калію, підтримує баланс нейротрансмітерів. Впливаючи на внутрішньоклітинну концентрацію розчинених речовин та розчинників, проявляє антиаритмічний, ізо- та хронотропний ефекти, відіграє важливу роль в розвитку сітківки ока, нирок, репродуктивної, ендокринної, імунної та центральної нервової систем. Вказана амінокислота може діяти не лише як органічний осмоліт, але й в якості шаперону модулювати фолдинг протеїнів в ендоплазматичному ретикулумі. Таурин впливає на скорочувальну функцію скелетних м'язів, здатен зменшувати пошкодження ДНК, індуковані фізичними вправами, позитивно впливаючи, таким чином, на працездатність; разом із гормонами росту бере участь в регуляції росту кісток [76, 77, 78, 79, 80, 81]. Встановлено, що таурин впливає на здатність навчатися та покращує пам'ять, функціонує як нейромодулятор, послаблюючи глутамат-індуковану нейротоксичність в центральній нервовій системі [82].

Існує багато повідомлень щодо патологічних станів за умов дефіциту таурину: дегенерація сітківки ока, серцево-судинні порушення, імунодефіцит, атрофія м'язів, репродуктивна дисфункція та передчасне старіння [72]. Наприклад, за наявності ЦД, значно знижується внутрішньоклітинний рівень таурину [83]. *О. Р. Wujcik зі спіавт.* виявили

зворотню залежність між концентрацією таурину в сироватці крові та ризиком кардіоваскулярних захворювань серед жінок з високим рівнем ХС, що не спостерігається за умов нижчого рівню ХС [84].

В результаті епідеміологічних досліджень в багатьох країнах світу виявлена негативна кореляція між вживанням таурину з дієтою та смертності від ішемічної хвороби серця [80]. В нормі він складає значну кількість вільних амінокислот міокарда (50-60 %) [85], зниження концентрації якого корелює з аритмією, що пов'язано з його роллю в буферизації кальцію [86].

На сьогодні накопичено велику кількість експериментальних та клінічних даних про позитивні результати застосування таурину для запобігання розвитку МС, ЦД та його ускладнень, ожиріння, дисліпідемії та гіпертензії [87].

Виявлено, що пероральне застосування таурину у щурів із стрептозотоциновим діабетом призводило до зниження співвідношення маси серця до маси тіла (що підвищується у тварин із патологією), швидкості та частоти серцевих скорочень, нормалізує внутрішній діаметр лівого шлуночка у стані систоли та серцевий викид [88].

Показано, що таурин здатен впливати на морфологічні та функціональні характеристики серця, його дефіцит призводить до структурних та функціональних порушень, які частково стосуються лівого шлуночка. В серцевому м'язі вказана амінокислота виконує роль осморегулятора, непрямого регулятора оксидативного стресу, має протизапальну дію, стабілізує мембрану взаємодіючи з фосфоліпідами, впливаючи на контрактильну функцію, модулює внутрішньоклітинний рівень кальцію, активність протеїнкіназ та фосфатаз, пригнічуючи апоптоз [89].

Застосування таурину у пацієнтів із захворюванням коронарних судин серця, які були на стандартній терапії, може підвищувати їх здатність переносити більші фізичні навантаження. Позитивний вплив таурину на функцію лівого шлуночка може реалізуватися завдяки його ролі в регуляції Ca^{2+} гомеостазу, а саме ефекту на потенціал-залежні Ca^{2+} канали, Na^{+} канали,

Na^+ - Ca^{2+} обмінник та шляхом котранспорту Na^+ -таурин [90].

Відомо, що таурин проявляє протифіброзний ефект в деяких органах, зокрема печінці та легенях, пригнічує панкреатичний фіброз у щурів. Хронічні панкреатити часто призводять до розвитку діабету, таурин може позитивно впливати як на ендо-, так і екзокринну функції підшлункової залози. Введення таурину в фізіологічних дозах пригнічувало апоптоз та фіброз ацинарних клітин, завдяки своїм антиоксидантним властивостям проявляє протекторну дію щодо оксидативних порушень в β -клітинах, що є підґрунтям для застосування таурину в медичній практиці для лікування хронічних панкреатитів [91, 92].

Показано, що таурин складає майже половину вільних амінокислот клітин сітківки та бере участь в активації каналів, асоційованих з циклічним гуанозинмонофосфатом, ключового етапу в сигнальному каскаді фототрансдукції [93]. Цитопротекторна дія таурину проявляється в пригніченні глюкозо-індукованого апоптозу завдяки антиоксидантним властивостям, гальмуванню каспази-3 та PPAR- γ -залежних ефекторів (PPAR- γ /каспаза-3 шлях). Завдяки вищеназваним властивостям таурин використовують для попередження розвитку діабетичної ретинопатії [94].

Показано ряд позитивних ефектів таурину в нирках: він впливає на резистентність ренальних судин та контроль автономною нервовою системою артеріального тиску у щурів; його пренатальне застосування пов'язане з довготривалими ефектами на артеріальний тиск та ниркову функцію у дорослих, знижує активність ренін-ангіотензин-альдостеронової системи та підвищення рівня цитокінів та ендотеліну. На щурах продемонстровано, що дефіцит таурину в пренатальний та фетальний періоди внутрішньоутробного розвитку призводить до підвищення кров'яного тиску у дорослих особин [77]. Вказана амінокислота, ймовірно завдяки своїм антиоксидантним властивостям та відновленню рівня нефрину, зниження експресії ниркового VEGF, може попереджувати прогресування діабетична нефропатія [95].

Виявлено, що додавання 1 % розчину таурину протягом 52-х тижнів знижувало загальну протеїнурію та альбумінурію на 50 %, попереджувало гіпертрофію клубочків, пригнічувало гломерулосклероз та тубулоінтестинальний фіброз у діабетичних тварин [27].

Показано, що таурин поліпшує метаболізм вуглеводів у пацієнтів із ЦД 1-го типу, зменшує гіперглікемію, індуковану стрептозотоцином, у щурів, позитивно впливає на розмір та кількість панкреатичних островців у тварин із аллоксановими порушеннями функції підшлункової залози. Виявлено, що застосування таурину призводило до підвищення як базального, так і стимульованого інсуліном фосфорилування тирозину IR в скелетних м'язах та печінці. У мишей, що отримували таурин, відмічено посилення експресії генів залучених до стимулів секреції інсуліну, а саме: глюкозного транспортеру 2, глюкокінази, рецептора 1 сульфонілсечовини та панкреатичного дуоденального гомеобоксу. Таурин здатен посилювати чутливість до інсуліну в печінці, стимулює синтез глікогену та захват глюкози периферичними тканинами. Існують дані, що таурин здатен прямо взаємодіяти з рецептором інсуліну. Отже, гіпоглікемічні властивості вказаної амінокислоти опосередковані модуляцією чутливості до інсуліну та посиленням його секреції [87].

Було продемонстровано, що таурин має вазодилататорні властивості, інгібує апоптоз, запалення та оксидативний стрес в ендотеліальних клітинах під час підвищеної генерації NO. Також додавання вказаної амінокислоти відновлює секрецію інсуліну в островцях у щурів, яких утримували на низькобілковій дієті та щойно припинили годувати молоком матері [96]. Хронічне додавання таурину відновлювало ендотелій-залежну ацетилхолін-індуковану релаксацію аорти щурів з дефіцитом білка, що пов'язано зі зниженням генерації АФК та посиленням ацетилхолін-індукованого вивільнення NO. Розглядають три головні механізми протективного ефекту в ендотелії: 1) зниження в судинах продукції супероксиданіону НАДФН-оксидазою з нормалізацією експресії цитозольної субодиниці $p47^{phox}$,

- 2) часткове відновлення фосфорилювання eNOS за серіном¹¹⁷⁷ та
- 3) підвищення експресії позаклітинної форми СОД [96].

Антидіабетична дія таурину у складі КТП може бути посилена за рахунок інших антиоксидантів рослинного походження, зокрема екстрактів глоду та кропиви собачої.

Екстракт плодів глоду (*Crataegus oxyacantha* L.). Глід протягом багатьох століть використовується в традиційній та народній медицині різних країн світу для лікування ССЗ. Спектр найбільш досліджених фармакологічних властивостей глоду включає кардіотропну, гіполіпідемічну, антиоксидантну, прозапальну та седативну активність [21, 97].

Нещодавно було отримано експериментальні дані, які свідчать про наявність у екстрактів глоду також антидіабетичних властивостей. Так, в дослідях на C57BL/6J мишах із ЦД, індукованим ВЖД, було виявлено, що застосування даного екстракту призводить до зниження гіперглікемії, гіпертригліцеридемії та гіперхолестеринемії [98].

Вважають, що механізм антигіперглікемічної дії глоду полягає в активації АМФ-залежної кінази (АМРК) шляхом посилення її фосфорилювання, в результаті чого знижується активність фосфоенолпіруваткарбоксикінази (РЕРСК) [98]. Окрім того, поліпшенню глюкозного гомеостазу може сприяти підвищення синтезу та транслокації глюкозного транспортера GLUT 4. З іншого боку, активація АМРК в печінці під впливом глоду призводить до зниження рівня мРНК синтази жирних кислот, посилення β -окиснення за рахунок підвищення експресії генів ферментів окиснення жирних кислот та зниження концентрації циркулюючих ТГ і холестерину [99]. Зниження синтезу тригліцеридів в печінці під впливом глоду також супроводжується зменшенням маси жирової тканини, переважно за рахунок зниження числа адипоцитів великого розміру, які посилюють атерогенність у діабетичних тварин [99].

В інших дослідженнях показано, що застосування настоянки плодів *Crataegus oxyacantha* у щурів, які вживали гіперліпідемічну дієту попереджує

підвищення концентрації ліпідів в плазмі крові та жирових депо в печінці й аорті [100]. Окрім того, екстракт глоду посилював зв'язування ЛПНЩ-1251 із плазматичною мембраною печінки *in vitro* та їх взаємодію з рецепторами, підвищував екскрецію жовчних кислот, знижував синтез холестеролу у щурів, які знаходилися на атерогенній дієті. Відомо, що глід також може знижувати абсорбцію холестеролу шляхом пригнічення активності кишкової ацилкоензим А: холестеролацилтрансфери [101].

Вказані фармакологічні ефекти можуть досягатися завдяки синергічній дії флавоноїдів, тритерпенів, сапонінів та деяких амінів, що входять до складу настоянки з плодів глоду [102].

Екстракт кропиви собачої (*Leonurus cardiaca L.*). Кропива собача володіє широким спектром фармакологічних властивостей та має довгу історію використання в фітотерпії різних захворювань, завдяки наявності таких фізіологічно активних речовин, як алкалоїди, флавоноїди, терпени, органічні кислоти та їх деривати, антиоциани, стероли, глікозиди та інші [103, 21]. Відомо, що екстракт рослини виявляє антибактеріальну, седативну, анальгетичну, протисудомну, антиангінальну, гіпотензивну, спазмолітичну, діуретичну та м'яку кардіотонічну активність [104].

Крім того, було показано, що кропива собача знижує рівень прозапальних цитокінів; ФНП- α , індукує синтез оксиду нітрогену, виявляє антиоксидантні властивості. В дослідях на C57BL/6 мишах, які отримували атерогенну дієту, було показано, що застосування екстракту *Leonurus* призводить до зниження в плазмі холестерину, тригліцеридів, підвищення ХС-ЛПВЩ та зменшення експресії рецепторів лептиноподібних окиснених ліпопротеїнів низької щільності, що покращує ендотеліальну функцію [105].

Літературні дані свідчать про перспективність застосування екстрактів рослини за умов ЦД 2 типу. Встановлено його позитивний вплив на секрецію інсуліну, електрофізіологічні характеристики, проліферацію та внутрішньоклітинну концентрацію кальцію при застосуванні на культурах клітин інсуліноми INS-1E. Припускають, що активні компоненти, які

стимулюють секрецію інсуліну, є дуже полярними та добре розчиняються в воді, ймовірно, серед них – кверцетин-О-гексозилгексозид та кверцетин-О-деоксигексозилгексозид. Вони інгібують мітохондріальний роз'єднуючий протеїн, що підвищує мембранний потенціал і рівень АТФ та пригнічує АТФ-чутливі калієві канали в панкреатичних β -клітинах. Одним з можливих пояснень дії екстрактів *Leonurus* на вивільнення інсуліну також може бути посилення електричної активності та підвищення концентрації кальцію в гормон-продукуючих клітин [106].

Виявлено, що застосування леонурину (або SCM-198) – алкалоїду, що міститься в траві кропиви собачої – у *db/db* мишей протягом трьох тижнів призводить до зниження постпрандіальної гіперглікемії, тригліцеридів в плазмі крові та підвищення концентрації інсуліну, що підтверджує антидіабетичні властивості даної речовини [107].

Гіпоглікемічний ефект SCM-198, ймовірно, обумовлений його здатністю регулювати транскрипцію генів метаболізму глюкози та знижувати її продукцію печінкою. Встановлено, що леонурин посилює експресію мРНК глюкокінази та знижує – PEPCK [107].

Враховуючи тяжкі медико-соціальні наслідки розповсюдження МС та ЦД в світі, актуальною є розробка нових фармакотерапевтичних стратегій, спрямованих на запобігання або ослаблення розвитку їх проявів. При цьому, на особливу увагу заслуговує застосування препаратів на основі природних компонентів, які містять комплекси біологічно активних речовин, структурно подібних метаболітам організму, та характеризуються більш низькою токсичністю у порівнянні з синтетичними лікарськими засобами. Аналіз літературних даних свідчить про те, що кожен із компонентів КТП в різній мірі впливає на основні патогенетичні ланки ЦД та його судинних ускладнень, а їх поєднання може призвести до синергізму антидіабетичної дії.

Таким чином, існує теоретичне обґрунтування перспективності дослідження впливу комбінованого таурин-вмісного препарату на

кардіометаболічні порушення, що спричиняють розвиток синдрому інсулінорезистентності та діабетичної нефропатії.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Характеристика матеріалів дослідження

На проведення досліджень отримано дозвіл комісії з питань біоетики. Тварин утримували в стандартних умовах: природне освітлення та харчовий режим, рекомендований для даного виду тварин. Дослідження проводилися відповідно до Національних загальних етичних принципів експериментів на тваринах, вимог GLP (належна лабораторна практика), директиви Ради ЄС (Євросоюз) 86/609 від 24 листопада 1986 р. про зближення законів, постанов та адміністративних положень держав ЄС з питань захисту тварин, що використовуються для експериментальної та іншої наукової мети та наказу МОЗ (міністерство охорони здоров'я) України № 281 від 01.11.2000 р. «Про заходи щодо подальшого вдосконалення організаційних норм роботи з використанням експериментальних тварин» [108].

В проведених дослідженнях в якості комбінованого таурин-вмісного препарату використовували таблетки «Кратал» виробництва ЗАТ НВЦ “Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод” (Україна). Серія № 040208, склад: 867 мг таурину; 43 мг екстракту плодів глоду (*Crataegus oxycantha* L.); 87 мг екстракту кропиви собачої (*Leonurus cardiaca* L.); допоміжні речовини: крохмаль картопляний; магнію стеарат; аеросил. В якості розчинника використовували дистильовану воду.

В роботі було використано 24 статевозрілі самиці та 66 самців щурів популяції Wistar з розплідника віварію ДУ „Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України”.

Знеживлення тварин, оваріектомію та інші процедури, що викликають біль, проводили під наркозом.

2.2. Експериментальні моделі метаболічного синдрому

Визначення властивостей КТП проводили на моделях синдрому інсулінорезистентності різного генезу та високодозового стептозотоцинового діабету.

Модель метаболічного синдрому, індукованого високожировою дієтою.

Синдром інсулінорезистентності індукували восьми-тижневим утриманням щурів на ВЖД, у якій білки, вуглеводи, жири складали 4,9; 26,4; 68,7 % відповідно від загальних калорій. Контрольні тварини утримувались на стандартній дієті, яка складалась із білків, вуглеводів, жирів (15,0; 81,1; 3,9 % відповідно від загальних калорій) [109].

КТП застосовували перорально за допомогою зонду у вигляді водної суспензії в дозах 100 та 300 мг таурину на кг маси тіла, протягом восьми тижнів, починаючи з першого дня експерименту. Контрольна група за аналогічною схемою отримувала розчинник.

Таким чином, у першій серії досліджень були сформовані чотири експериментальні групи:

- інтактний контроль;
- ВЖД + розчинник;
- ВЖД + КТП в дозі 100 мг таурину/кг маси тіла,
- ВЖД + КТП в дозі 300 мг таурину /кг маси тіла.

Модель метаболічного синдрому, індукованого високожировою дієтою, за умов дефіциту естрогенів.

У самиць щурів вагою 260-280 г дефіцит естрогенів відтворювали шляхом двосторонньої оварієктомії під легким ефірним наркозом [110]. Верифікацію дефіциту естрогенів проводили за показниками маси матки в кінці експерименту. МС у оварієктомованих щурів індукували 16-тижневим утриманням тварин на ВЖД, у якій білки, вуглеводи, жири складали 4,9; 26,4; 68,7 % відповідно від загальних калорій. Контрольні тварини

утримувались на стандартній дієті, яка складалась із білків, вуглеводів, жирів (15,0; 81,1; 3,9 % відповідно від загальних калорій) [109].

Препарат застосовували перорально за допомогою зонду у вигляді водної суспензії в дозах 100 та 300 мг таурину на кг маси тіла через вісім тижнів від початку експерименту протягом восьми тижнів. Контрольна група за аналогічною схемою отримувала розчинник.

Усі експериментальні тварини в другій серії експерименту були розподілені на чотири групи:

- інтактний контроль;
- оварієктомія + ВЖД + розчинник;
- оварієктомія + ВЖД + КТП в дозі 100 мг таурину/кг маси тіла;
- оварієктомія + ВЖД + КТП в дозі 300 мг таурину/кг маси тіла.

Модель метаболічного синдрому, індукованого високофруктозною дієтою (ВФД).

МС викликали у щурів-самців вагою 200-250 г хронічним (протягом двох місяців) надходженням фруктози із питною водою в концентрації 200 г/л [111]. Дієту, на якій утримували тварин, не змінювали.

Препарат у вигляді водної суспензії застосовували внутрішньошлунково за допомогою зонду в дозі 100 мг на кг маси тіла в перерахунку на таурин, протягом восьми тижнів, починаючи з першого дня експерименту. Контрольна група за аналогічною схемою отримувала розчинник.

Таким чином, у третій серії досліджень було сформовано три експериментальні групи:

- інтактний контроль;
- ВФД + розчинник;
- ВФД + КТП.

Модель цукрового діабету, індукованого високою дозою стрептозотоцину

Діабет викликали у самців щурів вагою 200-250 г одноразовим внутрішньочеревним введенням стрептозотоцину в дозі 60 мг/кг маси

тіла [112]. Через тиждень після індукції діабету тварин із базальною глікемією більш, ніж 14 ммоль/л включали до експерименту. Препарат застосовували перорально за допомогою зонду у вигляді водної суспензії в дозах 100 та 300 мг таурину на кг маси тіла з першого дня експерименту протягом восьми тижнів. Контрольна група діабетичних щурів за аналогічною схемою отримувала розчинник.

В четвертій серії експериментів тварин було розподілено на чотири групи:

- інтактний контроль;
- діабет + розчинник;
- діабет + КТП в дозі 100 мг таурину/кг маси тіла;
- діабет + КТП в дозі 300 мг таурину/кг маси тіла.

Всі вищезазначені моделі дозволяють відтворити основні метаболічні порушення, що максимально наближені до синдрому інсулінорезистентності, постменопаузального метаболічного синдрому та діабетичної нефропатії у людини. Їх використання дозволить коректно провести екстраполяцію результатів для розширення спектра клінічного застосування КТП.

2.3. Методи досліджень

Стан *глюкозного гомеостазу* оцінювали за показниками внутрішньочеревного тесту толерантності до глюкози (ВЧТТГ), внутрішньочеревного тесту толерантності до інсуліну (ВЧТТІ) [113], короткого інсулінового тесту [114]. Крім того вплив досліджуваного препарату на глікемічний контроль оцінювали за рівнем *базальної глікемії*, *глюкозурії*, а також за вмістом *фруктозаміну* (ФА) в сироватці крові [115], який є стійким продуктом Амадорі, як і глікозильований гемоглобін, але з коротким строком обміну (відображає коливання рівня глюкози в крові за попередні 20 діб). Його концентрація строго корелює з відхиленнями у постпрандіальній глікемії.

Внутрішньочеревний тест толерантності до глюкози: 3 г глюкози на кг маси тіла вводили внутрішньочеревинно щурам та відбирали для аналізу концентрації глюкози проби крові до та через 15, 30, 60 і 90 хвилин після навантаження глюкозою.

Короткий інсуліновий тест дозволяє в динаміці оцінити чутливість як печінки, так і периферичних тканин до дії інсуліну, враховуючи гальмування продукції глюкози в печінці та підвищення утилізації глюкози м'язами внаслідок ефекту гормону. Чутливість до інсуліну визначали, розраховуючи відсоток зниження базальної глікемії через 30 хв після внутрішньочеревого введення гормону тваринам натще (1 Од на кг маси тіла).

Внутрішньочеревний тест толерантності до інсуліну: інсулін 0,5 Од/кг маси тіла, глюкоза 2 г/кг через 10 хв після введення інсуліну щурам. Проби крові для аналізу глюкози відбирали до та через 15, 30, 60 і 90 хвилин після навантаження глюкозою [116].

Вміст глюкози в крові визначали глюкозооксидазним методом з використанням ферментативного аналізатора „Ексан - Г” (Литва).

Площі під глікемічними кривими (ППК), (ммоль/л/хв), які відображають глікемічну реакцію при проведенні ВЧТТГ та ВЧТТІ, розраховували за допомогою комп'ютерної програми "Mathlab".

Глюкозний гомеостаз у печінці оцінювали за вмістом *глікогену* [117], *активністю Г6Фази* методом Свенсона [118] та *глюкозо-6-фосфатдегідрогенази* (Г6Ф-ДГ) за швидкістю накопичення НАДФН в гомогенаті цього органу [117].

З метою оцінки *функціонального стану печінки* визначали *активність аланінамінотрансферази* (АлАТ) в сироватці крові за допомогою наборів реактивів фірми «Філісіт-Діагностика» [119].

Серед *інтегральних показників* визначали *приріст маси тіла, масу матки та нирок. Масу вісцерального жиру* розраховували як суму епігонадального, ретроперитоніального та мезентерального жиру.

Рівень неетерифікованих жирних кислот в сироватці крові та гомогенатах печінки й серця [120], концентрацію *загального холестерину* в сироватці крові та *рівень тригліцеридів* в сироватці крові та гомогенатах печінки й серця визначали спектрофотометричними методами [121, 122].

Виразність *оксидативного стресу* оцінювали за концентрацією *церулоплазміну* [123] та рівнем *дієнових кон'югатів* (ДК) [124] у сироватці крові, гомогенаті серця та нирок, *малонового діальдегіду* (МДА) [125] в гомогенаті печінки й нирок. Інтенсивність вільно-радикального окислення в мітохондріях серця оцінювали за рівнем *гідропероксидів ліпідів* [126].

Стан *антиоксидантної системи захисту* характеризували за вмістом *відновленого глутатіону* в печінці, нирках та серці [127], а також за активністю *супероксиддисмутази* [113], *глутатіонпероксидази* [128] і *каталази* [129] в сироватці крові та гомогенатах органів.

Активність *цитохром С оксидази* визначали спектрофотометричним методом [130].

Біохімічні показники в органах та в суспензії мітохондрій виражали на мг білка, який оцінювали за методом Лоурі в модифікації Міллера [131].

Рівень стабільних метаболітів оксиду нітрогену (або NO_x) – NO₂⁻ та NO₃⁻ (нітритів та нітратів) – визначали в сироватці крові та сечі за допомогою реактиву Грісса після відновлення нітратів металічним цинком [132].

Стан *системи згортання крові* визначали за ступенем та швидкістю АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів [133].

Для вивчення *функціонального стану серцево-судинної системи* експериментальних тварин використовували метод електрокардіографії. При аналізі *електрокардіограм* (ЕКГ) у трьох стандартних відведеннях від кінцівок враховували такі показники: амплітуда зубців R, P, S і T, ЧСС, тривалість інтервалів R-R, T-P, Q-T та комплексу QRS. Для співставлення тривалості інтервалу Q-T із тривалістю серцевого циклу використовували показник коригованого інтервалу (QTc), який визначали за формулою Bazett: $QTc = Q-T / \sqrt{R-R}$ [134].

Де: QTc – коригований інтервал Q-T;

Q-T – інтервал між зубцями Q та T;

R-R' – інтервал між сусідніми зубцями R.

З метою верифікації *мікросудинної патології в нирках* проводили гістологічне дослідження за допомогою світлової та електронної мікроскопії.

Матеріал для світлової мікроскопії фіксували в рідині Корнуа, а зрізи фарбували гематоксилін-еозином за Майером [135].

Шматочки нирки для електронної мікроскопії фіксували у 2 % розчині чотирьохокису осмію, приготованому на фосфатному буфері (pH 7,36). Матеріал зневоднювали у спиртах зростаючих концентрацій та абсолютному ацетоні і заливали в епон-ералдит. Блоки тканини різали на ультрамикротомі LKB “NOVA”. Ультратонкі зрізи (300-400 Å) забарвлювали насиченим водним розчином уранілацетату та розчином цитрату свинцю. Дослідження ультраструктури та фотографування препаратів проводили на електронному мікроскопі УЕМБ-100К. Товщину гломерулярної базальної мембрани визначали за методом *Hirose et al.* [136].

Функціональний стан нирок визначали за показниками *добового діурезу*, *pH сечі*, *вмістом креатиніну* [137] і *сечовини* [138] в сечі та сироватці крові, а також за рівнем *мікроальбумінурії*, яку визначали за допомогою ІФА-наборів фірми «Гранум».

Мітохондрії серця щурів отримували методом диференційного центрифугування при 7000g в середовищі, яке містило 10 мМ Трис-НСІ буфера pH 7.4, 250 мМ цукрози, 10 мМ етилендіамінтетраацетату та 0,5 % бичого сироваткового альбуміну. *Дихання мітохондрій* визначали полярографічним методом за допомогою закритого кисневого електроду Кларка в кюветі з постійною температурою (30°C) в реакційному середовищі інкубації наступного складу: 150 мМ сахароза, 75 мМ KCl, 10 мМ K₂HPO₄, 2 мМ MgCl₂, 10 мМ трис-НСІ (pH 7,4). Субстрати окиснення вносили в концентраціях: глутамат+малат – по 5 мМ, сукцинат – 8 мМ. АДФ додавали до середовища інкубації у концентрації 200 мкМ. За кривими поглинання

кисню розраховували *швидкість дихання* мітохондрій у метаболічних станах 4 та 3 за Чансом (V_4 , V_3) в наноатомах кисню на мг білка за хвилину та *дихальний контроль* (V_3/V_4) [139].

Статистичний аналіз отриманих даних. Визначення характеру розподілу кількісної ознаки в виборці здійснювали за допомогою критерію Шапіро-Уїлка. Для множинних порівнянь даних з нормальним розподілом проводили параметричний однофакторний дисперсійний аналіз ANOVA та застосовували метод Ст'юдента-Н'юмена-Кейлса. Результати представлені у вигляді середньої арифметичної ($\bar{x}$) та похибки середньої ($S\bar{x}$). Розходження вважали статистично значущим, якщо $p < 0,05$ [140].

РОЗДІЛ 3

ВПЛИВ КОМБІНОВАНОГО ТАУРИН-ВМІСНОГО ПРЕПАРАТУ НА ОСНОВНІ ЧИННИКИ КАРДІОМЕТАБОЛІЧНОГО РИЗИКУ У САМЦІВ-ЩУРІВ ІЗ МЕТАБОЛІЧНИМ СИНДРОМОМ, ІНДУКОВАНИМ ВИСОКОЖИРОВОЮ ДІЄТОЮ

3.1. Визначення ефекту на чутливість до інсуліну та толерантність до вуглеводів у тварин із метаболічним синдромом

Пандемічний характер розповсюдженості метаболічного синдрому та цукрового діабету 2-го типу за останні роки обумовлений такими факторами, як збільшення тривалості життя населення, зниження фізичних навантажень та споживання продуктів з високим вмістом вуглеводів та насичених жирів [141]. Внаслідок вказаних дієтичних звичок розвивається ожиріння за рахунок високої калорійності, погіршується чутливість до інсуліну, підвищується рівень тригліцеридів та холестерину-ЛПНЩ, що, в свою чергу, сприяє прогресуванню ССЗ [142].

Метою даного фрагменту роботи було дослідження впливу профілактичного введення комбінованого таурин-вмісного препарату на метаболічні прояви синдрому інсулінорезистентності, індукованого високожировою дієтою, у самців-щурів.

Встановлено, що через два місяці експерименту рівень базальної глікемії не відрізнявся від показників інтактного контролю в жодній з експериментальних груп (табл. 3.1). Той факт, що застосування КТП в обох дозах не впливало на глікемію натще в експериментальних тварин, свідчить про відсутність прямого гіпоглікемічного ефекту.

Таблиця 3.1

**Вплив комбінованого таурин-вмісного препарату на показники
глюкозного гомеостазу у самців щурів,
яких утримували на високожировій дієті, ($\bar{x} \pm S\bar{x}$), $n = 24$**

Показник	Інтактний контроль	ВЖД + розчинник	ВЖД +КТП (100 мг/кг)	ВЖД +КТП (300 мг/кг)
Базальна глікемія, ммоль/л	5,14±0,51	5,37±0,36	5,60±0,47	5,04±0,45
ППК, ммоль/л*хв	852,4±48,2	1365,1±89,4 ^a	994,6±36,8 ^b	893,0±15,9 ^b
Коефіцієнт чутливості до інсуліну, %	39,4±3,6	14,0±1,84 ^a	36,5±1,7 ^b	35,1±2,7 ^b

Примітки:

- 1) а – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «інтактний контроль», ($p < 0,05$);
- 2) b – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «ВЖД+розчинник», ($p < 0,05$).

В той же час, при проведенні навантажувального тесту з глюкозою було виявлено суттєве зниження толерантності до вуглеводів у щурів, які отримували ВЖД разом із розчинником, підтвердженням чому були значно вищі показники площини під відповідними глікемічними кривими відносно тих, що спостерігали у контрольних тварин (рис. 3.1, див. табл. 3.1).

Визначення коефіцієнта чутливості до інсуліну за допомогою короткого інсулінового тесту дало змогу верифікувати розвиток ІР за умов хронічного утримання тварин на ВЖД. Так, відповідний коефіцієнт у групі, яка отримувала розчинник, знижувався майже втричі порівняно з контрольними тваринами (див. табл. 3.1).

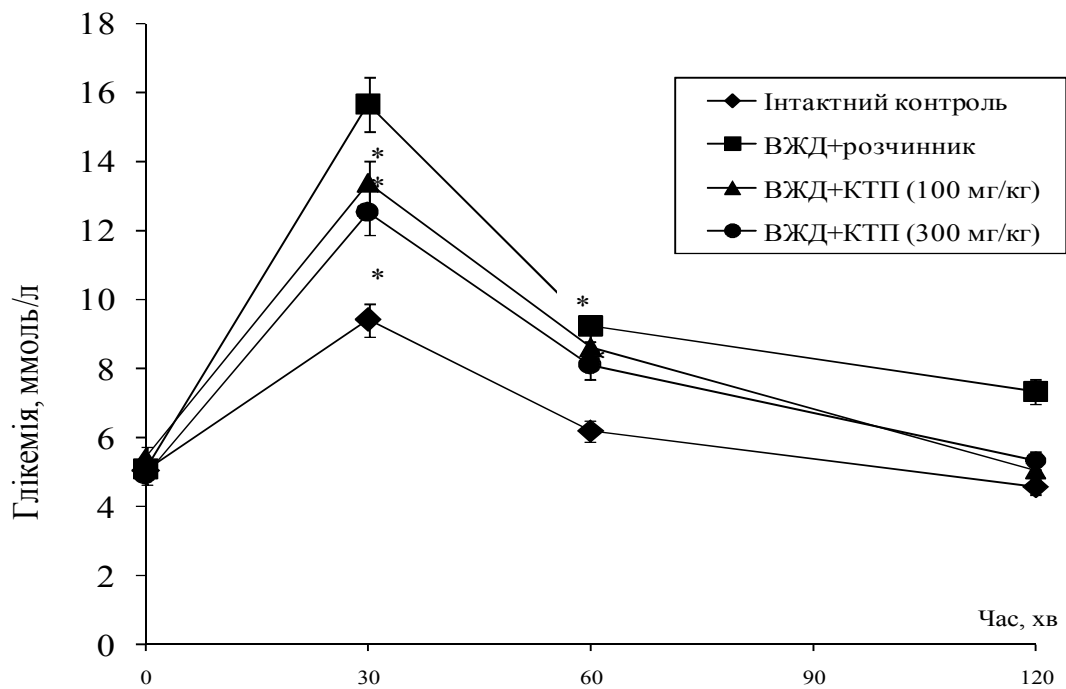


Рис. 3.1 – Вплив комбінованого таурин-вмісного препарату на динаміку глікемії під час ВЧТТГ (3 г/кг) у самців щурів, яких утримували на ВЖД, ($\bar{x} \pm S\bar{x}$, $n = 24$).

* – статистично значущі відмінності у порівнянні з даними для групи «ВЖД + розчинник» ($p < 0,05$).

Двомісячне застосування комбінованого КТП в значній мірі гальмувало розвиток ІР та інтолерантності до вуглеводів у щурів, яких утримували на ВЖД, підтвердженням чому було суттєве підвищення коефіцієнта чутливості до інсуліну та зменшення площі під глікемічними кривими в порівнянні з показниками для групи, що отримувала розчинник (див. табл. 3.1). Слід

зазначити, що виразність позитивного ефекту КТП на глюкозний гомеостаз не посилювалася при підвищенні дози препарату до 300 мг/кг маси тіла.

3.2. Оцінка впливу комбінованого таурин-вмісного препарату на вісцеральне ожиріння та порушення ліпідного обміну у щурів за умов високожирової дієти

В результаті проведених досліджень встановлено, що дієта з високим вмістом жирів спричиняє збільшення приросту маси тіла експериментальних тварин більш, ніж на 50 % та відносної маси вісцерального жиру майже втричі порівняно з інтактним контролем. Слід зазначити, що найбільший внесок в вісцеральне ожиріння було зроблено за рахунок зростання маси епігонадального та мезентерального жиру (табл. 3.2).

Встановлено, що використання КТП як в дозі 100 мг/кг, так і 300 мг/кг м.т., запобігало приросту маси тіла щурів та призводило до вірогідного зниження відносної маси вісцерального жиру більш, ніж на 30 % порівняно з контрольними тваринами. Звертає на увагу той факт, що застосування КТП в вищій дозі супроводжується більш вираженим впливом на відносну масу мезентерального жиру (див. табл. 3.2).

В результаті проведених досліджень встановлено, що застосування КТП в обох дозах сприяє нормалізації концентрації тригліцеридів в сироватці крові щурів, яка була суттєво підвищена за умов ВЖД (табл. 3.3). Слід зазначити, що гіпертригліцеридемія у тварин із МС не супроводжувалася зростанням концентрації НЕЖК в сироватці крові незалежно від введення досліджуваного препарату або розчинника, що може бути наслідком їх швидкої утилізації з кровотоку периферичними тканинами та печінкою (див. табл. 3.3).

Гіполіпідемічний ефект КТП також проявлявся в зниженні рівня загального холестерину в сироватці крові навіть у порівнянні з інтактним контролем.

Таблиця 3.2

Вплив комбінованого таурин-вмісного препарату на приріст маси тіла та відносну масу вісцерального жиру у самців щурів, яких утримували на високожировій дієті, ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$), $n = 24$

Показник	Інтактний контроль	ВЖД + розчинник	ВЖД + КТП (100 мг/кг)	ВЖД + КТП (300 мг/кг)
Приріст маси тіла, %	42,01±2,71	69,12±4,10 ^a	41,83±5,51 ^b	46,82±5,33 ^b
Відносна маса вісцерального жиру, %	2,33±0,24	6,28±0,78 ^a	4,48±0,43 ^{a, b}	3,84±0,18 ^{a, b}
Відносна маса епігонадального жиру, %	0,60±0,07	2,13±0,32 ^a	1,46±0,15 ^{a, b}	1,35±0,10 ^{a, b}
Відносна маса ретропарентерального жиру, %	1,05±0,16	2,22±0,33 ^a	1,58±0,05 ^{a, b}	1,46±0,09 ^{a, b}
Відносна маса мезентерального жиру, %	0,63±0,14	1,92±0,18 ^a	1,44±0,16 ^a	1,03±0,07 ^{a, b, c}

Примітки:

- 1) а – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «інтактний контроль», ($p < 0,05$);
- 2) b – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «ВЖД + розчинник», ($p < 0,05$);
- 3) с – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «ВЖД + КТП (100 мг/кг)», ($p < 0,05$).

**Вплив комбінованого таурин-вмісного препарату на показники
ліпідного обміну самців щурів,
яких утримували на високожировій дієті, ($\bar{x} \pm S\bar{x}$), $n = 24$**

Показник	Інтактний контроль	ВЖД + розчинник	ВЖД +КТП (100 мг/кг)	ВЖД +КТП (300 мг/кг)
ТГ в сироватці крові, ммоль/л	0,77±0,04	1,54±0,20 ^a	0,89±0,07 ^b	0,91±0,02 ^b
ХС в сироватці крові, ммоль/л	2,35±0,20	2,01±0,16	1,61±0,12 ^a	1,57±0,13 ^a
НЕЖК в сироватці крові, ммоль/л	0,27±0,05	0,29±0,04	0,25±0,01	0,30±0,04
ТГ в печінці, нмоль/мг білка	34,68±4,27	102,88±17,65 ^a	94,33±14,74 ^a	44,21±8,13 ^{a, b}
НЕЖК в печінці, нмоль/мг білка	89,87±3,01	128,61±8,02 ^a	83,20±8,00 ^b	93,14±10,72 ^b
ТГ в серці, нмоль/мг білка	16,46±0,64	30,48±2,16 ^a	25,84±3,60 ^a	14,94±0,75 ^{b, c}
НЕЖК в серці, нмоль/мг білка	51,74±2,51	90,01±3,67 ^a	59,93±7,27 ^b	63,55±7,79 ^b

Примітки:

- 1) а – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «інтактний контроль», ($p < 0,05$);
- 2) b – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «ВЖД + розчинник», ($p < 0,05$);
- 3) с – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «ВЖД + КТП (100 мг/кг)», ($p < 0,05$).

При визначенні показників ліпідного обміну в печінці встановлено, що вміст тригліцеридів та НЕЖК вірогідно підвищується в гомогенатах печінки щурів внаслідок ВЖД, що свідчить про розвиток інсуорезистентності в даному органі (див. табл. 3.3). Використання КТП в обох дозах призводило до зниження вмісту НЕЖК в гомогенаті печінки тварин із синдромом інсулінорезистентності. В той же час, нормалізацію рівня ТГ в даному органі спостерігали лише при використанні КТП в дозі 300 мг/кг (див. табл. 3.3).

Слід зазначити, що виявлені порушення ліпідного обміну в печінці за умов ВЖД не супроводжувалися змінами вуглеводного обміну, зокрема, рівень печінкового глікогену не відрізнявся в жодній з експериментальних груп (табл. 3.4).

Таблиця 3.4

Вплив комбінованого таурин-вмісного препарату на активність аланінамінотрансферази в сироватці крові та вміст глікогену в печінці самців щурів, яких утримували на високожировій дієті, ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$), $n = 24$

Показник	Інтактний контроль	ВЖД + розчинник	ВЖД + КТП (100 мг/кг)	ВЖД + КТП (300 мг/кг)
Глікоген, мг/г тканини	14,52±2,50	15,59±4,80	14,21±2,34	14,77±3,24
Активність АлАТ,	0,31±0,04	0,36±0,02	0,36±0,03	0,34±0,05

В результаті проведених досліджень було показано, що за умов даної експериментальної моделі МС рівень АлАТ суттєво не відрізнявся від показників в групі інтактного контролю (див. табл. 3.4). Проте, відсутність змін в активності даного ферменту при введенні КТП в обох дозах підтверджує відсутність в нього гепатотоксичних властивостей.

Встановлено, що подібно печінці, в серці тварин, яких утримували на ВЖД, спостерігали суттєве підвищення рівня тригліцеридів та НЕЖК.

Введення КТП в дозі 100 мг/кг маси тіла сприяло нормалізації вмісту НЕЖК, а в дозі 300 мг/кг – НЕЖК та тригліцеридів (див. табл. 3.3), що може бути одним із механізмів реалізації його кардіопротекторного ефекту за умов метаболічного синдрому.

3.3. Дослідження інтенсивності перекисного окиснення ліпідів та активності системи антиоксидантного захисту за умов синдрому інсулінорезистентності при застосуванні комбінованого таурин-вмісного препарату

В результаті проведених досліджень встановлено, що в сироватці крові самців щурів, які отримували дієту з високим вмістом жирів та розчинник, концентрація первинних продуктів перекисного окиснення ліпідів – дієнових кон'югатів зростає майже в п'ять разів, що підтверджує розвиток оксидативного стресу (табл. 3.5). У тварин, які отримували КТП в обох дозах, відмічали майже триразове зниження концентрації дієнових кон'югатів порівняно з групою, яка отримувала розчинник, що підтверджує виразні антиоксидантні властивості препарату.

Встановлено, що під впливом КТП достовірно підвищується концентрація церулоплазміну в сироватці крові у порівнянні з групою щурів із метаболічним синдромом, які отримували розчинник (див. табл. 3.5). Проте, активність супероксиддисмутази в сироватці крові не змінювалася в жодній із досліджених груп (див. табл. 3.5).

При визначенні показників оксидантного статусу в печінці щурів, яких утримували на ВЖД, встановлено підвищення вмісту кінцевого продукту ПОЛ – малонового діальдегіду у тварин, які отримували розчинник (табл. 3.6). Проте застосування КТП в обох дозах призводило до нормалізації вказаного показника, що корелює зі зниженням концентрації початкових продуктів ПОЛ в сироватці крові під його впливом (див. табл. 3.5).

Таблиця 3.5.

**Вплив комбінованого таурин-вмісного препарату на показники
оксидантного статусу в сироватці крові самців щурів,
яких утримували на високожировій дієті, ($\bar{x} \pm S\bar{x}$), $n = 24$**

Показник	Інтактний контроль	ВЖД + розчинник	ВЖД + КТП (100 мг/кг)	ВЖД + КТП (300 мг/кг)
ДК, мкмоль/л	1,66±0,22	7,98±0,44 ^a	2,81±0,40 ^b	2,54±0,42 ^b
Церулоплазмін, мг/мл	0,41±0,03	0,29±0,02 ^a	0,38±0,01 ^b	0,38±0,04 ^b
СОД, у.о./мл	8,48±1,42	10,00±1,09	10,96±1,38	8,11±1,00

Примітки:

- 1) а – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «інтактний контроль», ($p < 0,05$);
- 2) б – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «ВЖД + розчинник», ($p < 0,05$)

При визначенні активності антиоксидантного ферменту – супероксиддисмутази було виявлено її чотирьохразове підвищення в гомогенатах печінки щурів, які отримували ВЖД (див. табл. 3.6), що може розглядатися як компенсаторна реакція з боку антирадикальної системи захисту на зростання інтенсивності ПОЛ. Слід зазначити, що застосування КТП в дозі 300 мг/кг маси тіла призводило до нормалізації активності даного ферменту, можливо, внаслідок відсутності основного чинника для його стимуляції – підвищеної продукції супероксидного радикалу.

В той же час активність інших ферментів антиоксидантної системи (ГПО, КАТ) та рівень ВГ суттєво не змінювалися в гомогенатах печінки щурів в жодній з експериментальних груп (див. табл. 3.6).

Таблиця 3.6

**Вплив комбінованого таурин-вмісного препарату на показники
оксидантного статусу в печінці самців щурів,
яких утримували на високожировій дієті, ($\bar{x} \pm S\bar{x}$), $n = 24$**

Показник	Інтактний контроль	ВЖД + розчинник	ВЖД + КТП (100 мг/кг)	ВЖД + КТП (300 мг/кг)
МДА, нмоль/мг білка	0,60±0,08	1,01±0,04 ^a	0,67±0,06 ^b	0,66±0,03 ^b
ВГ, нмоль/мг білка	26,64±2,21	26,38±2,48	25,35±1,03	25,65±1,83
ГПО, нмоль/хв/мг білка	76,45±5,42	72,07±5,30	64,60±4,19	68,05±5,28
СОД, у.о./мг білка	10,82±1,07	48,51±8,19 ^a	38,42±4,63 ^a	15,59 ±2,56 ^{b, c}
КАТ, мкмоль/хв/ мг білка	163,50±12,07	156,34±11,42	123,18±18,46	150,31±23,77

Примітки:

- 1) а – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «інтактний контроль», ($p < 0,05$);
- 2) б – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «ВЖД + розчинник», ($p < 0,05$);
- 3) с – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «ВЖД + КТП (100 мг/кг)», ($p < 0,05$).

При визначенні інтенсивності перекисного окиснення ліпідів у гомогенатах серця тварин на ВЖД виявлено достовірне підвищення вмісту первинних продуктів вільно-радикального окиснення ліпідів – ДК на тлі зниження вмісту відновленого глутатіону та компенсаторного підвищення активності СОД (табл. 3.7).

Таблиця 3.7

Вплив комбінованого таурин-вмісного препарату на показники оксидантного статусу в серці самців щурів, яких утримували на високожировій дієті, ($\bar{x} \pm S\bar{x}$), $n = 24$

Показник	Інтактний контроль	ВЖД + розчинник	ВЖД + КТП (100 мг/кг)	ВЖД + КТП (300 мг/кг)
ДК, нмоль/мг білка	0,38±0,09	1,12±0,11 ^a	0,44±0,08 ^b	0,39±0,06 ^b
ВГ, нмоль/мг білка	59,01±2,98	40,12±2,84 ^a	44,55±3,34 ^a	65,88±7,86 ^{b, c}
ГПО, нмоль/хв/мг білка	119,96±11,77	114,11±6,81	128,35±17,87	157,46±18,83
СОД, у.о./мг білка	26,71±4,90	42,91±7,12 ^a	22,00±1,56 ^b	21,25±3,00 ^b
КАТ, мкмоль/хв/ мг білка	6,43±0,48	6,33±0,51	5,88±0,66	6,29±0,58

Примітки:

- 1) а – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «інтактний контроль», ($p < 0,05$);
- 2) b – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «ВЖД + розчинник», ($p < 0,05$);
- 3) с – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «ВЖД + КТП (100 мг/кг)», ($p < 0,05$).

Антиоксидантна дія КТП проявлялася як в зниженні рівня продуктів вільнорадикального окиснення ліпідів, так і в активації антирадикальної системи захисту. Зокрема, при використанні КТП в обох дозах спостерігали зниження рівня дієнових кон'югатів та нормалізацію активності СОД, а при

підвищенні дози препарату до 300 мг/кг відмічали зростання вмісту відновленого глутатіону в гомогенатах серця щурів із синдромом інсулінорезистентності в порівнянні з інтактним контролем (див. табл. 3.7). Активність ГПО та каталази в гомогенатах серця щурів, подібно гомогенатам печінки, не змінювалася в жодній з експериментальних груп (див. табл. 3.7).

3.4. Визначення порушень обміну оксиду нітрогену та агрегаційної активності тромбоцитів у експериментальних тварин під впливом комбінованого таурин-вмісного препарату

В результаті проведених досліджень встановлено, що концентрація стабільних метаболітів оксиду нітрогену в сироватці крові та сечі самців щурів, яких утримували на ВЖД, суттєво знижується у порівнянні з інтактним контролем (табл. 3.8).

Таблиця 3.8

Вплив комбінованого таурин-вмісного препарату на концентрацію стабільних метаболітів оксиду нітрогену в сироватці крові та сечі самців щурів, яких утримували на високожировій дієті, ($\bar{x} \pm S\bar{x}$), $n = 24$

Показник	Інтактний контроль	ВЖД + розчинник	ВЖД + КТП (100 мг/кг)	ВЖД + КТП (300 мг/кг)
NO _x в сироватці, мкмоль/л	31,97±3,51	20,26±1,90 ^a	35,67±1,74 ^b	31,96±1,51 ^b
NO _x в сечі, мкмоль/л	63,70±4,26	45,87±3,41 ^a	66,01±5,69 ^b	63,04±4,81 ^b

Примітки:

- 1) а – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «інтактний контроль», ($p < 0,05$);
- 2) б – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «ВЖД + розчинник», ($p < 0,05$).

В той же час, застосування КТП в обох дозах призводило до нормалізації даного показника в біологічних рідинах, що може свідчити про підвищення продукції NO, зниження ендотеліальної дисфункції та IP під впливом даного препарату (див. табл. 3.8).

Показано, що у щурів на ВЖД підвищується як ступінь, так і швидкість АДФ-стимульованої агрегації тромбоцитів, що свідчить про підвищений ризик тромбоутворення за наявності синдрому інсулінорезистентності вже на стадії предіабету (табл. 3.9).

Таблиця 3.9

Вплив комбінованого таурин-вмісного препарату на швидкість та індекс агрегації тромбоцитів в крові самців щурів, яких утримували на високожировій дієті, ($\bar{x} \pm S\bar{x}$), $n = 24$

Показник	Інтактний контроль	ВЖД + розчинник	ВЖД + КТП (100 мг/кг)	ВЖД + КТП (300 мг/кг)
Індекс агрегації, %	29,17±3,16	47,00±2,07 ^a	32,17±3,96 ^b	28,00±3,51 ^b
Швидкість агрегації, ум. од.	59,78±4,72	90,40±7,70 ^a	75,83±7,50 ^a	57,81±4,64 ^{b, c}

Примітки:

- 1) а – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «інтактний контроль», ($p < 0,05$);
- 2) б – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «ВЖД + розчинник», ($p < 0,05$);
- 3) с – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «ВЖД + КТП (100 мг/кг)», ($p < 0,05$).

В той же час у тварин, яким вводили КТП в дозі 100 мг/кг маси тіла відмічали зниження індексу агрегації, а у щирів, які отримували максимальну дозу, відмічали вірогідне зниження обох показників, що свідчить про відновлення балансу гемостазу під впливом препарату.

Таким чином, в результаті проведених досліджень було встановлено, що профілактичне застосування таурин-вмісного препарату в дозах 100 та 300 мг/кг маси тіла у самців щурів гальмує такі прояви метаболічного синдрому, як: інсулінорезистентність, інтолерантність до вуглеводів, абдомінальне ожиріння, гіпертригліцеридемія, оксидативний стрес, ендотеліальна дисфункція, протромбічний стан. Слід зазначити, що доза 100 мг/кг маси тіла є достатньою для прояву вищезазначених фармакологічних ефектів.

Основні наукові результати розділу опубліковані в працях автора:

1. Звягіна, Т. С. Вплив таурин-вмісного препарату на розвиток метаболічного синдрому, індукованого високожировою дієтою, у щурів [Текст] / Т. С. Звягіна, Н. І. Горбенко // Досягнення та перспективи експериментальної та клінічної ендокринології (Дев'яті Данилевські читання) : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, Харків, 2-3 берез. 2010 р. – Х., 2010. – С. 37-39.
2. Звягіна, Т. С. Вплив таурин-вмісного препарату на ліпідний профіль щурів із метаболічним синдромом [Текст] / Т. С. Звягіна, Н. І. Горбенко // Досягнення та перспективи експериментальної і клінічної ендокринології (Одинадцяті Данилевські читання) : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, Харків, 1-2 берез. 2012 р. – Х., 2012. – С. 48-49.
3. Вплив таурин-вмісного препарату «Кратал» на розвиток метаболічного синдрому, індукованого високожировою дієтою [Текст] / Т. С. Звягіна, Н. І. Горбенко, О. Ю. Боріков, А. С. Шаламай // Пробл. Ендокрин. Патол. – 2013. – № 2. – С. 67-73.
4. Пат. 101418 UA, МПК A61K 36/734 (2006.01), A61K 36/533 (2006.01), A61K 31/195 (2006.01), A61P 3/00, A61P 13/12 (2006.01). Фармацевтична композиція, засіб для профілактики и лікування метаболічного синдрому та діабетичної нефропатії та спосіб його отримання [Текст] / Л. В. Безпалько, І. М. Ржепецька, Є. О. Сова, Н. І. Горбенко, О. В. Іванова, Т. С. Звягіна, В. І. Кобилінська, Р. А. Тищенко,

О. О. Добровольський, А. С. Шаламай (UA) ; патентовласники
Л. В. Безпалько, А. С. Шаламай (UA). – № а201107973 ; заявл. 24.06.2011 ;
опубл. 25.03.2013, Бюл. № 6. – 6 с.

5. Пат. 2519744 C2 RU, МПК А61К 36/734 (2006.01), А61К 36/533 (2006.01), А61Р 3/10 (2006.01), А61Р 3/06 (2006.01). Фармацевтическая композиция, средство для профилактики и лечения метаболического синдрома и диабетической нефропатии и способ его получения [Текст] / Л. В. Безпалько, И. Н. Ржепецкая, Є. А. Сова [и др.] (UA) ; патентообладатели Л. В. Безпалько, А. С. Шаламай (UA). – № 2011125805 ; заявл. 24.06.2011 ; опубл. 20.06.2014, Бюл. № 36. – 6 с.

РОЗДІЛ 4

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ КОМБІНОВАНОГО ТАУРИН-ВМІСНОГО ПРЕПАРАТУ НА ПРОЯВИ МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ, ІНДУКОВАНОГО ВИСОКОЖИРОВОЮ ДІЄТОЮ, У САМИЦЬ ЩУРІВ НА ТЛІ ДЕФІЦИТУ ЕСТРОГЕНІВ

4.1. Визначення ефекту комбінованого таурин-вмісного препарату на показники вуглеводного обміну в експериментальних тварин

Ішемічна хвороба серця залишається головною причиною смерті внаслідок серцево-судиної патології у жінок в постменопаузальний період. Відомо, що ризик атеросклеротичних кардіоваскулярних захворювань суттєво підвищується за наявності МС [150, 152]. В той же час питання про можливе застосування гормонально-замісної терапії естрогенами з метою запобігання ССЗ на тлі постменопаузального метаболічного синдрому залишається відкритим через неоднозначність висновків окремих експериментальних та клінічних досліджень. У зв'язку з цим актуальним є пошук альтернативних фармакотерапевтичних підходів до корекції кардіометаболічного ризику на тлі гіпоестрогенемії.

Метою даного фрагменту роботи було дослідження впливу комбінованого таурин-вмісного препарату на метаболічні прояви синдрому інсулінорезистентності, індукованого високожировою дієтою, у самиць щурів за умов гіпоестрогенії.

В результаті проведеного дослідження було встановлено, що через 16 тижнів утримання тварин на ВЖД рівень глікемії натще не відрізнявся від контролю в жодній з експериментальних груп (табл. 4.1). Відсутність змін показників базальної глікемії протягом експерименту також підтверджується стабільними показниками фруктозаміну в сироватці крові (див. табл. 4.1), який характеризує стан глікемічного контролю за останній місяць.

Таблиця 4.1

**Вплив комбінованого таурин-вмісного препарату на показники
глюкозного гомеостазу в оварієктомованих щурів,
яких утримували на високожировій дієті, ($\bar{x} \pm S\bar{x}$), $n = 24$**

Група	Інтактний контроль	ВЖД + оварієктомія + розчинник	ВЖД + оварієктомія + КТП (100 мг/кг)	ВЖД + оварієктомія + КТП (300 мг/кг)
Базальна гліке- мія, ммоль/л	5,19±0,23	5,37±0,16	5,11±0,26	5,11±0,16
ППК, ммоль/л*хв	975,4±41,4	1837,9±145,6 ^a	1126,2±64,6 ^b	1057,2±104,1 ^b
Коефіцієнт чутливості до інсуліну, %	33,1±2,9	17,3±4,8 ^a	30,1±3,5 ^b	29,2±3,0 ^b
Концентрація ФА, ммоль/л	0,96±0,07	1,07±0,11	1,36±0,10	1,31±0,12

Примітки:

- 1) а – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «інтактний контроль», ($p < 0,05$);
- 2) б – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «ВЖД + оварієктомія + розчинник», ($p < 0,05$).

В той же час при проведенні ВЧТТГ (рис. 4.1) було виявлено, що ВЖД спричиняє суттєве погіршення толерантності до вуглеводів як у інтактних, так і оварієктомованих щурів, про що свідчило достовірне підвищення площі під відповідними глікемічними кривими відносно контрольних показників (див. табл. 4.1).

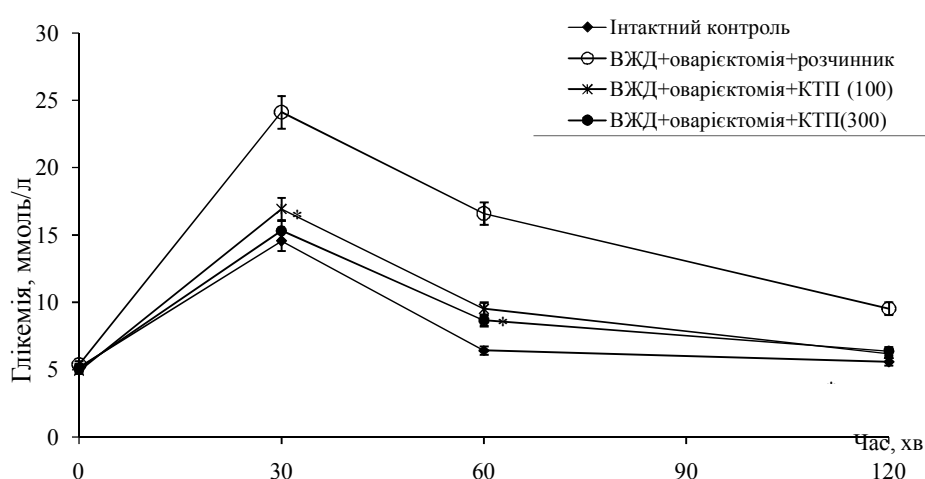


Рис. 4.1 – Вплив комбінованого таурин-вмісного препарату на динаміку глікемії під час ВЧТТГ (3 г/кг) в оварієктомованих щурів, яких утримували на високожировій дієті, ($\bar{x} \pm S\bar{x}$, $n = 6$)

* – Статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «ВЖД+оварієктомія+розчинник», $p < 0,05$.

Визначення ІР за допомогою короткого інсулінового тесту також підтвердило зменшення чутливості до інсуліну в даних групах порівняно з інтактним контролем (див. табл. 4.1).

Встановлено, що терапевтичне пероральне застосування КТП як в дозі 100 мг/кг, так і 300 мг/кг в значній мірі ослаблює розвиток ІР та інтолерантності до вуглеводів у оварієктомованих щурів із ВЖД, підтвердженням чому було суттєве підвищення коефіцієнта чутливості до інсуліну та зменшення ППК в порівнянні з показниками для групи, що отримувала розчинник (див. табл. 4.1, рис. 4.1).

В даному експерименті також не відмічали змін активності ключового ферменту глюконеогенезу – глюкозо-6-фосфатази в гомогенатах печінки щурів (табл. 4.2). Ймовірно, у самиць навіть за умов дефіциту естрогенів не знижується чутливість печінки до супресивної дії інсуліну стосовно

продукції глюкози, що відмічали у самців щурів із метаболічним синдромом, індукованим високовуглеводною дієтою [153].

Таблиця 4.2

Вплив комбінованого таурин-вмісного препарату на активність ферментів вуглеводного обміну й АлАТ в сироватці крові та вміст глікогену печінки оварієктомованих щурів, яких утримували на високожировій дієті, ($\bar{x} \pm S\bar{x}$), $n = 24$

Група	Інтактний контроль	ВЖД + оварієктомія + розчинник	ВЖД + оварієктомія + КТП (100 мг/кг)	ВЖД + оварієктомія + КТП (300 мг/кг)
Активність Г6Фази, нмоль/хв/мг білка	55,68±4,27	50,31±6,06	43,14±5,76	42,69±4,90
Активність Г6Ф-ДГ, нмоль/хв/мг білка	85,79±9,49	37,43±8,02 ^a	39,45±6,80 ^a	46,80±12,81 ^a
Вміст глікогену, мкг/мг білка	44,60±4,36	75,43±19,57 ^a	64,35±7,35 ^a	83,42±5,77 ^a
Активність АлАТ, мкмоль/год/мл	0,42±0,04	0,32±0,04	0,47±0,04	0,47±0,05

Примітка.

а – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «інтактний контроль», ($p < 0,05$).

Встановлено, що у тварин з інсулінорезистентністю, індукованою ВЖД за наявності гіпоестрогенії, відмічалось суттєве зниження активності Г6Ф-ДГ в порівнянні з інтактним контролем (див. табл. 4.2). Слід зазначити, що використання КТП в обох дозах не впливало на активність вищезазначеного ферменту (див. табл. 4.2).

Визначення вмісту глікогену в печінці експериментальних тварин показало, що сполучення ВЖД та дефіциту естрогенів призводить до суттєвого підвищення вказаного показника, що підтверджує наявність змін вуглеводного обміну в даному органі за умов метаболічного синдрому. В той же час, використання КТП в обох дозах не змінювало рівень глікогену (див. табл. 4.2).

Відсутність гепатотоксичних властивостей КТП була підтверджена при визначенні активності АлАТ в сироватці крові оваріектомованих щурів, яких утримували на ВЖД (табл. 4.2), що узгоджується з попередніми результатами про незмінний рівень АлАТ, який спостерігали в сироватці крові самців щурів із метаболічним синдромом.

4.2. Оцінка вісцерального ожиріння та дисліпідемії у щурів із метаболічним синдромом за умов гіпоестрогенії при застосуванні комбінованого таурин-вмісного препарату

Оцінка приросту маси тіла експериментальних тварин показала, що ВЖД за умов комбінації з дефіцитом естрогенів спричиняє збільшення даного показника в 3 рази. В той же час введення КТП в обох дозах протягом восьми тижнів гальмувало зростання маси тіла оваріектомованих тварин, але не до рівня показників, які відмічали у контрольних тварин (табл. 4.3).

Встановлено, що ВЖД за відсутності ендогенних естрогенів супроводжувалась більш, ніж триразовим збільшенням відносної маси вісцерального жиру, переважно за рахунок епігонадаального та мезентерального жиру (див. табл. 4.3), що може бути підґрунтям для розвитку ІР.

Застосування КТП в обох дозах призводить до вірогідного зниження відносної маси вісцерального жиру, що корелює з поліпшенням чутливості до інсуліну в оваріектомованих щурів, яких утримували на ВЖД (див. табл. 4.3).

Таблиця 4.3

**Вплив комбінованого таурин-вмісного препарату на
приріст маси тілата відносно масу вісцерального жиру
в оварієктомованих щурів, яких утримували
на високожировій дієті, ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$), $n = 24$**

Група		Інтактний контроль	ВЖД + оварієк- томія + розчинник	ВЖД + оварієктомія + КТП (100 мг/кг)	ВЖД + оварієктомі я + КТП (300 мг/кг)
Відносна маса, %	епігонада- льного жиру	1,07±0,17	3,80±0,37 ^a	2,19±0,26 ^{a, b}	2,38±0,14 ^{a, b}
	ретропаренте рального жиру	1,16±0,19	2,01±0,40 ^a	2,04±0,26 ^a	2,06±0,21 ^a
	мезентераль- ного жиру	0,57±0,10	2,19±0,16 ^a	1,44±0,06 ^{a, b}	1,45±0,08 ^{a, b}
	загального вісцерального жиру	2,49±0,44	8,00±0,60 ^{a, b}	5,67±0,47 ^{a, b}	5,56±0,48 ^{a, b}
Приріст маси тіла, %		13,6±2,0	39,8±3,4 ^a	24,7±2,3 ^{a, b}	26,9±2,4 ^{a, b}

Примітки:

- 1) а – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «інтактний контроль», ($p < 0,05$);
- 2) б – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «ВЖД+оварієктомія+розчинник», ($p < 0,05$).

В результаті проведених досліджень встановлено, що концентрація ТГ достовірно підвищується в сироватці оварієктомованих щурів, яких утримували на ВЖД (табл. 4.4). При цьому терапевтичне введення КТП

суттєво не впливало на виразність гіпертригліцеридемії в самок на тлі ВЖД та дефіциту естрогенів. Той факт, що превентивне застосування КТП запобігало зростанню рівня тригліцеридів в сироватці крові самців, яких утримували на аналогічній дієті, може свідчити як про більш суттєві метаболічні порушення при поєднанні ВЖД із дефіцитом естрогенів, так і про більшу ефективність використання КТП в якості профілактичного засобу.

Таблиця 4.4

Вплив комбінованого таурин-вмісного препарату на показники ліпідного обміну в сироватці крові оварієктомованих щурів, яких утримували на високожировій дієті, ($\bar{x} \pm S\bar{x}$), $n = 24$

Група	Інтактний контроль	ВЖД + оварієктомія + розчинник	ВЖД+ оварієктомія + КТП (100 мг/кг)	ВЖД+ оварієктомія + КТП (300 мг/кг)
Концентрація ТГ, ммоль/л	0,51±0,06	0,85±0,12 ^а	0,75±0,05 ^а	0,89±0,08 ^а
Концентрація НЕЖК, ммоль/л	0,28±0,03	0,33±0,04	0,24±0,02	0,26±0,03

Примітка.

а – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «інтактний контроль», ($p < 0,05$).

Слід зазначити, що гіпертригліцеридемія у тварин із метаболічним синдромом не супроводжувалася зростанням концентрації НЕЖК в сироватці крові незалежно від уведення досліджуваних препаратів або розчинника (див. табл. 4.4).

4.3. Дослідження впливу комбінованого таурин-вмісного препарату на про/антиоксидантний статус та порушення обміну оксиду нітрогену у щурів із синдромом інсулінорезистентності у сполученні з дефіцитом естрогенів

Оцінка інтенсивності ПОЛ у сироватці крові щурів показала, що ВЖД на тлі дефіциту естрогенів спричиняє зростання концентрації дієнових кон'югатів у сироватці крові в порівнянні з групою тварин, яких утримували на стандартній дієті (табл. 4.5).

Встановлено, що введення КТП в обох дозах нормалізує концентрацію дієнових кон'югатів у сироватці крові експериментальних тварин, що підтверджує його антиоксидантний ефект. Визначення активності супероксиддисмутази в сироватці крові не виявило достовірних змін в жодній з експериментальних груп (див. табл. 4.5).

Оскільки відомо, що оксидативний стрес може індукувати стрес-чутливі шляхи в кардіоміоцитах, які призводять до посилення апоптотичних процесів та порушення функціонального стану серця [143], являло інтерес визначення показників перекисного окислення ліпідів та антиоксидантного захисту в гомогенатах даного органу.

В результаті проведених досліджень встановлено, що вплив ВЖД та дефіциту естрогенів супроводжується дворазовим підвищенням вмісту дієнових кон'югатів у тканинах серця (див. табл. 4.5). Слід зазначити, що рівень дієнових кон'югатів у гомогенатах серця тварин, що отримували КТП в обох дозах, практично не відрізнявся від контрольних показників.

В той же час було показано, що рівень відновленого глутатіону в серці суттєво не відрізнявся в жодній з досліджених груп (див. табл. 4.5). Стабільність цього показника за умов активації вільнорадикальних процесів може бути обумовлена посиленням синтезу відновленого глутатіону *de novo*. Відомо, що продукти ПОЛ, зокрема 4-гідрокси-2-ноненаль, є індукторами

транскрипції одного з ключових ферментів синтезу глутатіону – γ -глутамілцистінсинтази [144].

Таблиця 4.5

Вплив комбінованого таурин-вмісного препарату на показники оксидантного статусу в сироватці крові та серці оварієктомованих щурів, яких утримували на високожировій дієті, ($\bar{x} \pm S\bar{x}$), $n = 24$

Група	Інтактний контроль	ВЖД +ова-рієктомія +розчинник	ВЖД +ова-рієктомія+ КТП (100 мг/кг)	ВЖД +ова-рієктомія + КТП (300 мг/кг)
ДК в сироватці крові, мкмоль/л	2,40 $\pm$ 0,33	6,28 $\pm$ 0,41 ^a	2,32 $\pm$ 0,35 ^b	2,90 $\pm$ 0,29 ^b
Активність СОД в сироватці, у.о./мл	13,05 $\pm$ 0,85	12,87 $\pm$ 1,12	12,21 $\pm$ 1,06	11,00 $\pm$ 1,39
ДК в серці, нмоль/мг білка	0,26 $\pm$ 0,06	0,54 $\pm$ 0,07 ^a	0,30 $\pm$ 0,04 ^b	0,28 $\pm$ 0,03 ^b
ВГ в серці, нмоль/мг білка	36,94 $\pm$ 5,19	34,66 $\pm$ 4,08	33,00 $\pm$ 5,80	32,69 $\pm$ 4,11
Активність СОД в серці, у.о./мг білка	23,03 $\pm$ 4,54	28,03 $\pm$ 3,86	22,54 $\pm$ 1,73	25,97 $\pm$ 4,09
Активність КАТ в серці, мкмоль/хв/мг білка	7,38 $\pm$ 1,86	6,93 $\pm$ 1,55	6,78 $\pm$ 0,60	7,94 $\pm$ 1,07

Примітки:

- 1) а – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «інтактний контроль», ($p < 0,05$);
- 2) б – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «ВЖД + оварієктомія + розчинник», ($p < 0,05$).

Таким чином, незважаючи на зміщення балансу між відновленим та окисленим глутатіоном у бік останнього, загальний пул відновленого глутатіону за умов помірної активації ПОЛ може залишатися незмінним.

Показано, що активність антиоксидантних ферментів СОД та КАТ у всіх експериментальних групах не відрізнялася від контролю, що можливо пов'язано з адаптивною реакцією з боку антиоксидантної системи внаслідок тривалого хронічного експерименту (див. табл. 4.5).

В результаті проведених досліджень було виявлено зниження концентрації стабільних метаболітів оксиду нітрогену в сироватці та їх екскреції з сечею за умов дефіциту естрогенів у комбінації з високожировою дієтою (табл. 4.6).

Таблиця 4.6

Вплив комбінованого таурин-вмісного препарату на рівень метаболітів оксиду нітрогену в сечі та сироватці крові оварієктомованих щурів, яких утримували на високожировій дієті, ($\bar{x} \pm S\bar{x}$), $n = 24$

Група	Інтактний контроль	ВЖД + оварієктомія + розчинник	ВЖД + оварієктомія + КТП (100 мг/кг)	ВЖД + оварієктомія + КТП (300 мг/кг)
NO _x в сечі, нмоль/мл	61,64±12,58	35,62±3,80 ^a	58,90±4,94 ^b	64,93±4,58 ^b
NO _x в сироватці крові, нмоль/мл	33,56±4,58	21,23±3,99 ^a	32,05±3,48 ^b	30,14±2,03 ^b

Примітки:

- 1) а – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «інтактний контроль», ($p < 0,05$);
- 2) б – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «ВЖД + оварієктомія + розчинник», ($p < 0,05$).

В той же час при використанні КТП в обох дозах відмічали нормалізацію даних показників, що співпадає з аналогічними результатами, які були отримані при використанні препарату у самців із МС (див. табл. 4.6).

4.4. Визначення ефекту комбінованого таурин-вмісного препарату на АДФ-індуковану агрегацію тромбоцитів в оварієктомованих тварин із метаболічним синдромом

В результаті проведених досліджень встановлено, що комбінований вплив ВЖД та дефіциту естрогенів призводить до підвищення швидкості та ступеня АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів (табл. 4.7).

Таблиця 4.7

Вплив комбінованого таурин-вмісного препарату на ступінь та швидкість АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів оварієктомованих щурів, яких утримували на високожировій дієті, ($\bar{x} \pm S\bar{x}$), $n = 24$

Група	Інтактний контроль	ВЖД + оварієктомія + розчинник	ВЖД + оварієк -томія + КТП (100 мг/кг)	ВЖД + оварієк -томія + КТП (300 мг/кг)
Ступінь агрегації, %	18,1±2,7	43,2±6,1 ^a	49,6±5,8 ^a	32,2±3,4 ^{a, b, c}
Швидкість агрегації, у.о.	100,8±9,9	289,2±31,3 ^a	286,1±16,8 ^a	120,1±23,2 ^{b, c}

Примітки:

- 1) а – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «інтактний контроль», ($p < 0,05$);
- 2) b – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «ВЖД + оварієктомія + розчинник», ($p < 0,05$);
- 3) c – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «ВЖД + оварієктомія + КТП (100 мг/кг)», ($p < 0,05$).

Встановлено, що значне зниження як ступеня, так і швидкості АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів відмічали лише при застосуванні КТП в більшій дозі – 300 мг/кг маси тіла, тоді як її зменшення до 100 мг/кг призводило до втрати антиагрегаційного ефекту (див. табл. 4.7).

Таким чином, в результаті проведених досліджень було показано, що пероральне терапевтичне застосування комбінованого таурин-вмісного препарату у тварин із метаболічним синдромом на тлі гіпоестрогенії в обох дозах призводило до зниження інсулінорезистентності та приросту маси тіла, поліпшення толерантності до вуглеводів, зменшення відносної маси вісцерального жиру та оксидативного стресу, підвищення ендогенної продукції оксида азота та поліпшення гемореологічних властивостей крові (в дозі 300 мг/кг маси тіла).

Отримані результати обґрунтовують можливість розширення спектра клінічного застосування комбінованого таурин-вмісного препарату (в дозі 100 мг/кг маси тіла) як потенційного засобу для фармакологічної корекції більшості метаболічних порушень, притаманних постменопаузальному метаболічному синдрому.

Основні наукові результати розділу опубліковані в працях автора:

1. Вплив таурин-вмісного препарату «Кратал» на розвиток метаболічного синдрому, індукованого високожировою дієтою [Текст] / Т. С. Звягіна, Н. І. Горбенко, О. Ю. Боріков, А. С. Шаламай // Пробл. Ендокрин. Патол. – 2013. – № 2. – С. 67-73.

2. Звягіна, Т. С. Влияние инсулинорезистентности и гипоестрогении на активность печёночной глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы [Текст] / Т. С. Звягіна, С. В. Оксененко, А. Ю. Боріков // Біологія: від молекули до біосфери : матеріали III міжнар. конф. молод. науковців, Харків, 18-21 листоп. 2008 р. – Х., 2008. – С. 40-41.

3. Вплив таурину на розвиток синдрому інсулінорезистентності, індукованого високожировою дієтою, у оварієктомованих щурів [Текст] / Н. І. Горбенко, Т. С. Звягіна, К. В. Таран, А. В. Степанова // Проблемні

питання ендокринології у віковому аспекті : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, Харків, 29-30 жовт. 2009 р. – Х., 2009. – С. 49-50.

4. Оцінка тромбоцитарного компонента гемостазу у щурів з метаболічним синдромом на тлі дефіциту естрогенів [Текст] / Н. І. Горбенко, С. В. Оксененко, О. В. Іванова [та інш.] // Пробл. Ендокрин. Патол. – 2010. – № 3. – С. 64-68.

5. Звягіна, Т. С. Вплив таурин-вмісного препарату на розвиток вісцерального ожиріння в оварієктомованих щурів із синдромом інсулінорезистентності, індукованим високожировою дієтою [Текст] / Т. С. Звягіна, Н. І. Горбенко // Пробл. Ендокрин. Патол. – 2011. – № 4. – С. 79-83.

6. Пат. 101418 UA, МПК А61К 36/734 (2006.01), А61К 36/533 (2006.01), А61К 31/195 (2006.01), А61Р 3/00, А61Р 13/12 (2006.01). Фармацевтична композиція, засіб для профілактики и лікування метаболічного синдрому та діабетичної нефропатії та спосіб його отримання [Текст] / Л. В. Безпалько, І. М. Ржепецька, Є. О. Сова, Н. І. Горбенко, О. В. Іванова, Т. С. Звягіна, В. І. Кобилінська, Р. А. Тищенко, О. О. Добровольський, А. С. Шаламай (UA) ; патентовласники Л. В. Безпалько, А. С. Шаламай (UA). – № a201107973 ; заявл. 24.06.2011 ; опубл. 25.03.2013, Бюл. № 6. – 6 с.

7. Пат. 2519744 C2 RU, МПК А61К 36/734 (2006.01), А61К 36/533 (2006.01), А61Р 3/10 (2006.01), А61Р 3/06 (2006.01). Фармацевтическая композиция, средство для профилактики и лечения метаболического синдрома и диабетической нефропатии и способ его получения [Текст] / Л. В. Безпалько, И. Н. Ржепецкая, Є. А. Сова [и др.] (UA) ; патентообладатели Л. В. Безпалько, А. С. Шаламай (UA). – № 2011125805 ; заявл. 24.06.2011 ; опубл. 20.06.2014, Бюл. № 36. – 6 с.

РОЗДІЛ 5
ВИЗНАЧЕННЯ КАРДІОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ
КОМБІНОВАНОГО ТАУРИН-ВМІСНОГО ПРЕПАРАТУ У ЩУРІВ
ІЗ МЕТАБОЛІЧНИМ СИНДРОМОМ,
ІНДУКОВАНИМ ВИСОКОФРУКТОЗНОЮ ДІЄТОЮ

5.1. Характеристика на основних складових метаболічного синдрому,
індукованого високофруктозною дієтою у самців щурів під впливом
комбінованого таурин-вмісного препарату

Епідеміологічні, клінічні дослідження та експерименти на тваринах свідчать про підвищення вживання цукрів на душу населення за рік. Зокрема, надмірне вживання фруктози призводить до розвитку дисліпідемії, гепатостеатозу, інсулінорезистентності, вісцерального ожиріння, що є однією з причин розповсюдженості метаболічного синдрому, серцево-судинних захворювань та ЦД 2-го типу [146, 147, 148].

Задачею даного фрагменту роботи було виявлення метаболічних порушень, індукованих високофруктозною дієтою, та оцінка фармакологічної дії комбінованого таурин-вмісного препарату за умов даної патології.

Встановлено, що у щурів, які отримували фруктозу протягом двох місяців, не спостерігали змін в рівні глікемії натще порівняно з групою інтактного контролю (табл. 5.1).

В той же час, при проведенні ВЧТТГ та ВЧТТІ було встановлено розвиток інтолерантності до вуглеводів за умов тривалого надходження фруктози, що підтверджується більш високими показниками площини під відповідними глікемічними кривими відносно тих, що спостерігали у контрольних тварин (див. табл. 5.1, рис. 5.1).

Таблиця 5.1

**Вплив комбінованого таурин-вмісного препарату на показники
глюкозного гомеостазу у щурів із метаболічним синдромом,
індукованим високофруктозною дієтою, ($\bar{x} \pm S\bar{x}$), $n = 18$**

Група	Інтактний контроль	ВФД + розчинник	ВФД + КТП
Базальна глікемія, ммоль/л	4,69±0,28	4,61±0,35	4,26±0,23
Концентрація ФА, ммоль/л	1,24±0,11	2,34±0,09 ^a	1,66±0,09 ^{a, b}
ППК під час ВЧТТГ, ммоль/л*хв	683,1±27,3	1043,7±82,5 ^a	695,5±18,2 ^b
ППК під час ВЧТТІ, ммоль/л*хв	379,9±34,2	547,1±18,8 ^a	426,7±38,7 ^b

Примітки:

а – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «інтактний контроль», ($p < 0,05$);

б – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «ВФД + розчинник», ($p < 0,05$).

Порушення глюкозного гомеостазу також підтверджувалося підвищенням рівня фруктозаміну в сироватці крові тварин, які отримували розчинник (див. табл. 5.1). Слід зазначити, що зростання концентрації фруктозаміну може бути наслідком безпосереднього посилення початкових реакцій неферментативного глікозилювання за умов хронічного надходження високих доз фруктози.

Встановлено, що двомісячне застосування КТП гальмує розвиток інсулінорезистентності та інтолерантності до вуглеводів у щурів із метаболічним синдромом, підтвердженням чому було суттєве зменшення

площини під глікемічними кривими під час ВЧТТГ та ВЧТТІ в порівнянні з показниками для групи, що отримувала розчинник (див. табл. 5.1).

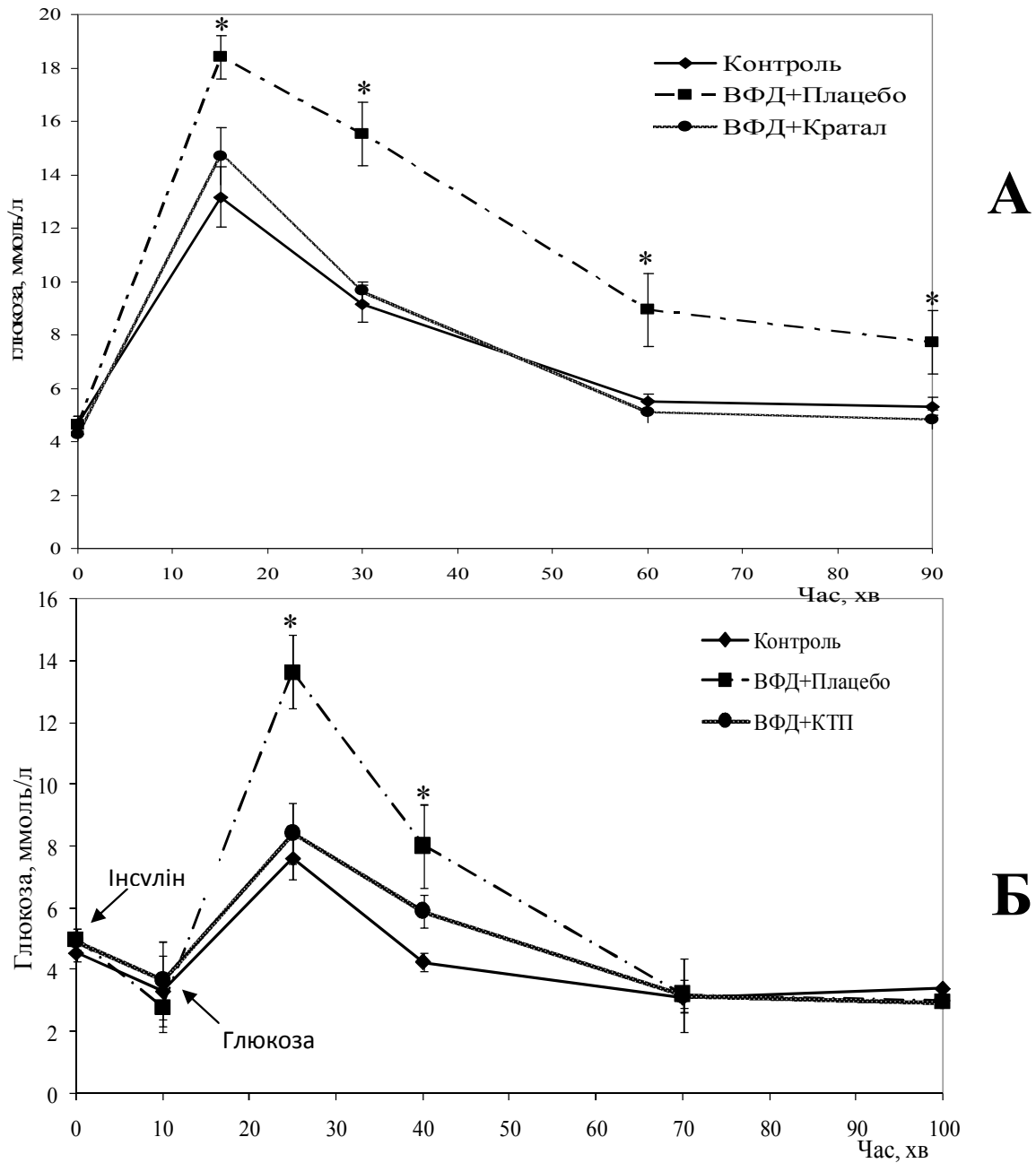


Рис. 5.1 – Вплив комбінованого таурин-вмісного препарату на динаміку глікемії під час ВЧТТГ (3 г/кг) (А) та ВЧТТІ (інсулін 0,5 од/кг, глюкоза 2 г/кг через 10 хв після введення інсуліну) (Б) у щурів із метаболічним синдромом, індукованим високофруктозною дієтою, $(\bar{x} \pm S\bar{x})$, $n = 18$

*– Статистично значущі відмінності у порівнянні з даними для групи «контроль». ($p < 0,05$).

Зниження рівня фруктозаміну в сироватці крові тварин, які отримували КТП, може бути пов'язано як із покращенням глюкозного гомеостазу, так і з його здатністю безпосередньо гальмувати процеси приєднання глюкози до білків [155].

Встановлено, що хронічне застосування фруктози супроводжується більш, ніж двохразовим збільшенням відносної маси вісцерального жиру, що може бути підґрунтям для розвитку інсулінорезистентності. Оцінка приросту маси тіла експериментальних тварин виявила, що утримання щурів на ВФД спричиняє значне підвищення даного показника, що, ймовірно, є результатом збільшення маси жирової тканини (табл. 5.2).

Таблиця 5.2

Вплив комбінованого таурин-вмісного препарату на приріст маси тіла, відносну масу вісцерального жиру та ліпідний профіль в сироватці крові у щурів із метаболічним синдромом, індукованим високофруктозною дієтою, ($\bar{x} \pm S\bar{x}$), $n = 18$

Група	Інтактний контроль	ВФД + розчинник	ВФД + КТП
Приріст маси тіла, %	12,24±2,05	21,19±1,63 ^a	13,54±2,87 ^b
Відносна маса вісцерального жиру, %	1,67±0,19	3,95±0,31 ^a	2,37±0,27 ^{a, b}
ТГ, ммоль/л	0,69±0,04	1,32±0,10 ^a	0,69±0,06 ^b
НЕЖК, ммоль/л	0,34±0,05	0,36±0,03	0,33±0,02
ХС, ммоль/л	1,67±0,09	1,93±0,07 ^a	1,40±0,04 ^{a, b}

Примітки:

- 1) а – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «інтактний контроль», ($p < 0,05$);
- 2) b – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «ВФД + розчинник», ($p < 0,05$).

Застосування КТП запобігало підвищеному приросту маси тіла, зокрема, за рахунок зменшення відносної маси вісцерального жиру, що корелює з поліпшенням чутливості до інсуліну у тварин із МС (див. табл. 5.2).

В результаті проведених досліджень встановлено, що двомісячне введення фруктози призводить до зростання концентрації ТГ та ХС відносно показників, які спостерігали у інтактних тварин (див. табл. 5.2). Зміни концентрації ХС та ТГ, ймовірно, є наслідком порушення регуляції процесів ліполізу та ліпогенезу інсуліном за умов синдрому інсулінорезистентності.

Введення КТП сприяло поліпшенню ліпідного обміну, порушеного за умов МС, про що свідчила нормалізація концентрації ТГ та зниження концентрації загального холестерину в сироватці крові навіть у порівнянні з інтактним контролем (див. табл. 5.2). В той же час, дисліпідемія у тварин із МС не супроводжувалася зростанням концентрації НЕЖК в сироватці крові, незалежно від введення препарату або розчинника (див. табл. 5.2).

В результаті проведених досліджень встановлено, що концентрація NO_x в сироватці крові щурів із метаболічним синдромом суттєво знижується у порівнянні з інтактним контролем (табл. 5.3).

Таблиця 5.3

Вплив комбінованого таурин-вмісного препарату на рівень стабільних метаболітів оксиду нітрогену в сироватці крові щурів із метаболічним синдромом, індукованим високофруктозною дієтою, ($\bar{x} \pm S\bar{x}$), $n = 18$

Група	Інтактний контроль	ВФД + розчинник	ВФД + КТП
NO _x , мкмоль/л	31,60±2,51	25,37±0,94 ^a	31,37±1,94 ^b

Примітки:

- 1) а – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «інтактний контроль», ($p < 0,05$);
- 2) б – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «ВФД + розчинник», ($p < 0,05$).

В той же час, застосування КТП призводило до нормалізації даного показника, що може свідчити про відновлення продукції NO під його впливом (див. табл. 5.3).

5.2. Визначення впливу комбінованого таурин-вмісного препарату на біоенергетичні процеси та оксидантний статус мітохондрій серця експериментальних тварин

При визначенні показників дихання ізольованих мітохондрій серця у присутності глутамату та малату було встановлено зменшення швидкості АДФ-стимульованого дихання (V_3) та зниження коефіцієнта дихального контролю в мітохондріях тварин, яких утримували на ВФД, у порівнянні інтактним контролем (табл. 5.4).

Таблиця 5.4

Вплив комбінованого таурин-вмісного препарату на швидкість дихання (у присутності малату та глутамату) ізольованих мітохондрій серця щурів із метаболічним синдромом, індукованим високофруктозною дієтою, ($\bar{x} \pm S\bar{x}$), $n = 18$

Група	Інтактний контроль	ВФД + розчинник	ВФД + КТП
V_4 , натом кисню/хв/мг білка	14,24±1,20	14,44±1,18	14,51±1,26
V_3 , натом кисню/хв/мг білка	82,60±7,48	66,21±5,00 ^a	76,04±3,97 ^b
V_3/V_4	5,83±0,35	4,63±0,25 ^a	5,38±0,32 ^b

Примітки:

- 1) а – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «інтактний контроль», ($p < 0,05$);
- 2) б – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «ВФД + розчинник», ($p < 0,05$).

Це свідчить про порушення регуляції респіраторного ланцюга енергетичним станом клітин, що виражається у роз'єднанні дихання та окисного фосфорилування. Останнє є одним із основних маркерів мітохондріальної дисфункції.

В той же час, за умов застосування сукцинату в якості субстрату дихання, швидкість поглинання кисню у стані 3 та 4, а також дихальний контроль мітохондрій тварин, які споживали ВФД, не відрізнялися від показників контрольної групи (табл. 5.5). Як відомо, сукцинатдегідрогеназа (комплекс II) є ФАД-залежним ферментом, що безпосередньо постачає електрони на убіхінон, обминаючи НАДН-залежний комплекс I.

Таблиця 5.5

Вплив комбінованого таурин-вмісного препарату на швидкість дихання (у присутності сукцинату) ізольованих мітохондрій серця щурів із метаболічним синдромом, індукованим високофруктозною дієтою, ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$), $n = 18$

Група	Інтактний контроль	ВФД + розчинник	ВФД + КТП
V ₄ , натов кисню/хв/мг білка	76,85±5,44	80,53±4,09	80,51±5,57
V ₃ , натов кисню/хв/мг білка	177,23±14,53	171,19±13,96	191,70±11,81
V ₃ /V ₄	2,35±0,18	2,12±0,06	2,40±0,10

Таким чином, відсутність змін дихального контролю при додаванні сукцинату та його зниження за умов використання малату та глутамату (субстрати комплексу I) може свідчити про те, що порушення в сполученні дихання та окисного фосфорилування в мітохондріях тварин із метаболічним синдромом виникає, головним чином, на рівні комплексу I ЕТЛ. На користь цього припущення також свідчить відсутність змін

активності іншого компонента ЕТЛ – цитохром С-оксидази (комплекс IV) (табл. 5.6).

Таблиця 5.6

Вплив комбінованого таурин-вмісного препарату на активність цитохром С-оксидази, системи антиоксидантного захисту та вміст ТБК-активних продуктів в ізольованих мітохондріях серця щурів із метаболічним синдромом, індукованим високофруктозною дієтою, ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$), $n = 18$

Група	Інтактний контроль	ВФД + розчинник	ВФД + КТП
Цитохром С-оксидаза, мкмоль/хв/мг білка	11,44±0,24	10,34±0,59	10,57±0,47
ТБК-активні продукти, нмоль/мг білка	0,43±0,07	0,88±0,07 ^a	0,65±0,06 ^{a, b}
Mn-СОД, у.о./мг білка	48,43±2,06	38,65±1,31 ^a	41,66±1,49 ^a
ГПО, нмоль/хв/мг білка	27,36±3,90	26,38±1,41	25,03±2,14
ВГ, нмоль/мг білка	3,84±0,28	2,10±0,27 ^a	3,67±0,29 ^b

Примітки:

- 1) а – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «інтактний контроль», ($p < 0,05$);
- 2) b – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «ВФД + розчинник», ($p < 0,05$).

Слід зазначити, що застосування КТП сприяло підвищенню дихального контролю за рахунок нормалізації швидкості АДФ-стимульованого дихання мітохондрій серця у метаболічному стані 3 в присутності малату та глютамату в порівнянні з тваринами, які отримували розчинник (див. табл. 5.4). Отримані

результати можуть свідчити про поліпшення процесів окисного фосфорилування на рівні комплексу I ЕТЛ під впливом даного препарату.

Особливий інтерес становило визначення інтенсивності вільнорадикального окислення та стану системи антиоксидантного захисту в мітохондріях тварин із метаболічним синдромом. Встановлено, що в мітохондріях серця тварин, які споживали ВФД, спостерігається підвищення рівня ТБК (тіобарбітурова кислота)-активних продуктів, зниження рівня відновленого глутатіону та активності Mn-супероксиддисмутази (див. табл. 5.6). В той же час, активність глутатіонпероксидази залишалась на рівні контрольної групи (див. табл. 5.6).

Застосування КТП гальмувало перекисне окиснення ліпідів в мітохондріях серця, про що свідчило зниження ТБК-активних продуктів та сприяло підвищенню вмісту ВГ (див. табл. 5.6). В той же час введення КТП суттєво не впливало на активність Mn-супероксиддисмутази в мітохондріях серця щурів (див. табл. 5.6).

Отримані результати дозволяють зробити припущення, що поліпшення окисно-відновлювального гомеостазу в мітохондріях за умов застосування КТП може відбуватися як за рахунок стимуляції системи антиоксидантного захисту, так і внаслідок нормалізації мітохондріального дихання та зниження продукції активних форм кисню в електрон-транспортному ланцюзі.

5.3. Дослідження функціонального стану серцево-судинної системи при застосуванні комбінованого таурин-вмісного препарату у щурів із синдромом інсулінорезистентності

Оцінку функціонального стану серцево-судинної системи щурів-самців із метаболічним синдромом, індукованим хронічним введенням фруктози, проводили за електрокардіографічними показниками. На ЕКГ, отриманих у трьох стандартних відведеннях від кінцівок (I, II, III), оцінювали тривалість

інтервалів, висоту, полярність та форму зубців, ЧСС та систолічний показник.

В результаті проведених досліджень було виявлено, що в усіх досліджених групах інтервали та зубці були у правильній послідовності, різниця між тривалістю інтервалів R-R' у різних серцевих циклах складала не більше 5 %, що свідчить про збереження у них синусового ритму.

Встановлено, що в щурів із метаболічним синдромом, які отримували розчинник, збільшувалася ЧСС за рахунок зменшення інтервалів R-R' відносно показників в групі інтактного контролю (табл. 5.7), що може свідчити про розвиток синусової тахікардії – першої ознаки серцевої недостатності [160].

Таблиця 5.7

Вплив комбінованого таурин-вмісного препарату на тривалість інтервалу R-R', частоту серцевих скорочень та систолічний показник у щурів із метаболічним синдромом, індукованим високофруктозною дієтою, ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$), $n = 18$

Група	Інтактний контроль	ВФД + розчинник	ВФД + КТП
R-R', сек	0,127±0,001	0,119±0,001 ^a	0,134±0,003 ^b
ЧСС, уд./хв	470,9±4,8	505,4±6,6 ^a	450,2±11,2 ^b
Систолічний показник, %	51,91±4,43	56,37±5,27	54,76±3,40

Примітки:

- 1) а – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «інтактний контроль», ($p < 0,05$);
- 2) б – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «ВФД + розчинник», ($p < 0,05$).

Застосування КТП призводило до пролонгації інтервалу R-R' та нормалізації ЧСС, що свідчить про позитивний ефект препарату на відновлення нормального серцевого ритму та попередження розвитку синусової тахікардії (див. табл. 5.7).

Встановлено, що в експериментальних тварин, які отримували розчинник, відмічається скорочення інтервалу Q-T, який характеризує електричну систолу серця (табл. 5.8).

Таблиця 5.8

Вплив комбінованого таурин-вмісного препарату на тривалість інтервалів Q-T, T-P, корегованого інтервалу QTc та співвідношення QT/TP у щурів із метаболічним синдромом, індукованим високофруктозною дієтою, ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$), $n = 18$

Група	Інтактний контроль	ВФД + розчинник	ВФД + КТП
Q-T, с	0,074±0,004	0,064±0,003 ^a	0,075±0,005 ^b
QTc, с	0,203±0,010	0,177±0,008 ^a	0,206±0,013 ^b
T-P, с	0,028±0,002	0,018±0,002 ^a	0,024±0,001 ^b
QT/TP	2,81±0,29	3,83±0,33 ^a	3,28±0,20 ^b

Примітки:

- 1) а – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «інтактний контроль», ($p < 0,05$);
- 2) b – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «ВФД + розчинник», ($p < 0,05$).

Відомо, що показник Q-T має видові особливості та залежить від ЧСС [161], тому його аналіз доповнюють розрахунком корегованого інтервалу QTc, який використовують для діагностування аритмічних станів. В результаті проведених розрахунків було виявлено скорочення інтервалу

QTс у щурів із метаболічним синдромом відносно показників інтактного контролю (див. табл. 5.8).

Окрім того, відмічалось зменшення діастолічного інтервалу Т-Р та підвищення показника QT/ТР, який характеризує відношення тривалості систоли шлуночків до діастолі. Характер змін інтервалів Q-T, Т-Р та QT/ТР у експериментальних тварин (див. табл. 5.8) свідчить про прискорення деполяризації та реполяризації міокарда шлуночків, тобто про збільшення напруги серця.

В результаті проведеного дослідження встановлено, що у щурів, які отримували КТП, спостерігалася нормалізація тривалості інтервалів Q-T та QTс, що свідчить про відновлення скорочувальної активності серця, порушеної за умов даної моделі метаболічного синдрому (див. табл. 5.8). В той же час, використання КТП сприяло пролонгації інтервалу Т-Р та зниженню співвідношення QT/ТР, що вказує на позитивний ефект препарату на тривалість діастолі міокарда.

Слід зазначити, що в експериментальних тварин із МС спостерігали подовження інтервалу Р-Q (табл. 5.9), який відображає час проведення імпульсу від синусового вузла до скорочувального міокарда шлуночків, що свідчить про зниження швидкості атріовентрикулярної провідності [162].

Введення КТП запобігало скороченню інтервалу Р-Q та сприяло нормалізації атріовентрикулярної провідності в експериментальних щурів (див. табл. 5.9).

Відомо, що висота зубців Q, R, S, Т та тривалість інтервалу QRS є показниками, які характеризують проведення імпульсу по шлуночковому комплексу. В експериментальних тварин, які отримували розчинник, було виявлено збільшення амплітуди зубця Т у другому та третьому відведеннях відносно показників в групі інтактного контролю (табл. 5.10). Зростання амплітуди або тривалості зубця Т може свідчити про розвиток ішемії в субендокардіальних шарах [163].

Таблиця 5.9

Вплив комбінованого таурин-вмісного препарату на тривалість інтервалу P-Q та комплексу QRS у самців щурів із метаболічним синдромом, індукованим високофруктозною дієтою, ($\bar{x} \pm S\bar{x}$), $n = 18$

Група	Інтактний контроль	ВФД + розчинник	ВФД + КТП
P-Q, с	0,037±0,001	0,044±0,001 ^a	0,037±0,003 ^b
QRS, с	0,033±0,001	0,031±0,001	0,031±0,002

Примітки:

- 1) а – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «інтактний контроль», ($p < 0,05$);
- 2) b – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «ВФД + розчинник», ($p < 0,05$).

Окрім того, у 50 % щурів із метаболічним синдромом на електрокардіограмах спостерігали появу двох- або трьох-фазних зубців Т, що може бути однією з ознак синдрому дифузних змін міокарда. Вказаний синдром характеризує неспецифічні ЕКГ зміни, в основному, процесів реполяризації, які пов'язані з порушенням трофіки міокарда, нейроендокринної регуляції, метаболізму, електролітного дисбалансу та ін. [167].

В результаті проведених досліджень встановлено, що застосування КТП у щурів із метаболічним синдромом сприяє зниженню амплітуди зубця Т, а також запобігає появі двох - або трьох-фазних зубців Т, що може свідчити про гальмуючий ефект препарату на розвиток ішемічних процесів в міокарді.

Таблиця 5.10

Вплив комбінованого таурин-вмісного препарату на амплітуду зубців Т і R (I, II, III) та їх тривалість (II) у самців щурів із метаболічним синдромом, індукованим високофруктозною дієтою, ($\bar{x} \pm S\bar{x}$), $n = 18$

Група		Інтактний контроль	ВФД + розчинник	ВФД + КТП
Амплітуда Т, мВ	I	0,051±0,006	0,061±0,004	0,080±0,003
	II	0,113±0,005	0,139±0,008 ^a	0,147±0,010
	III	0,124±0,008	0,148±0,009 ^a	0,118±0,007 ^b
Тривалість Т, с (II)		0,033±0,004	0,040±0,005	0,042±0,002
Амплітуда R, мВ	I	0,26±0,0	0,25±0,04	0,26±0,04
	II	0,206±0,015	0,202±0,023	0,213±0,004
	III	0,109±0,023	0,100±0,022	0,093±0,025
Тривалість R, с (II)		0,028±0,001	0,028±0,001	0,027±0,003

Примітки:

- 1) а – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «інтактний контроль», ($p < 0,05$);
- 2) б – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «ВФД + розчинник», ($p < 0,05$).

На ЕКГ повне збудження міокарда співпадає із зубцем S, тривалість та амплітуда якого залежать від стану м'язових волокон та інтенсивності обмінних процесів у серці. Встановлено, що амплітуда та тривалість зубця S в усіх експериментальних групах не відрізняється від показників інтактного контролю (табл. 5.11), що свідчить про відсутність порушень в процесах повного збудження міокарда за умов використаної моделі метаболічного синдрому.

Таблиця 5.11

**Вплив комбінованого таурин-вмісного препарату на амплітуду
зубців S та P (I, II, III) та їх тривалість (II) у самців щурів
з метаболічним синдромом,
індукованим високофруктозною дієтою, ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$), $n = 18$**

Група		Інтактний контроль	ВФД + розчинник	ВФД + КТП
Амплітуда S, мВ	I	0,106±0,008	0,100±0,009	0,088±0,010
	II	0,012±0,001	0,012±0,001	0,011±0,002
	III	0,060±0,006	0,050±0,005	0,048±0,006
Тривалість S, с (II)		9,0±1,0	8,0±0,5	8,0±0,7
Амплітуда P, мВ	I	0,043±0,004	0,039±0,001	0,043±0,004
	II	0,047±0,00	0,064±0,004 ^a	0,041±0,002 ^b
	III	0,033±0,002	0,041±0,004 ^a	0,034±0,004 ^b
Тривалість P, с (II)		0,035±0,002	0,028±0,001 ^a	0,029±0,002

Примітки:

- 1) а – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «інтактний контроль», ($p < 0,05$);
- 2) б – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «ВФД + розчинник», ($p < 0,05$).

У щурів із синдромом інсулінорезистентності, які отримували розчинник, спостерігалось збільшення у другому та третьому відведенні амплітуди зубця Р (табл. 5.11), який відображає процеси збудження передсердь. Окрім того, спостерігалось скорочення тривалості зубця Р у другому відведенні, що може свідчити про прискорення деполяризації передсердь, тобто зростання швидкості внутрішньосерцевого проведення.

Введення КТП запобігало зростанню амплітуди зубця Р у другому та третьому відведенні, що свідчить про позитивний вплив препарату на процеси деполяризації передсердь, які порушуються за умов хронічного навантаження фруктозою (див. табл. 5.11).

Отримані результати свідчать про зниження частоти серцевих скорочень, нормалізацію тривалості інтервалів Q-T, T-P, корегованого інтервалу QTc, зменшення амплітуди зубців Т й Р, а також запобігання появі двох - або трьох-фазних зубців Т та скорочення інтервалу Р-Q під впливом КТП.

Таким чином, в результаті проведених досліджень було встановлено, що застосування комбінованого таурин-вмісного препарату за умов метаболічного синдрому, індукованого високофруктозною дієтою, сприяє поліпшенню толерантності до вуглеводів та чутливості до інсуліну, зниженню абдомінального ожиріння, гіпертригліцеридемії, гіперхолестеринемії та нормалізації продукції оксида азота; відновлює біоенергетичні процеси в серцевому м'язі, посилюючи респіраторний контроль та запобігаючи гіперпродукції активних форм кисню в мітохондріях кардіоміоцитів; відновленню нормального серцевого ритму та атріовентрикулярної провідності, поліпшенню систолічної і діастолічної активності серця, гальмуванню розвитку синусової тахікардії й ішемічних процесів в міокарді.

Основні наукові результати розділу опубліковані в працях автора:

1. Звягіна, Т. С. Вплив таурин-вмісного препарату на розвиток синдрому інсулінорезистентності, індукованого високовуглеводною дієтою, у щурів [Текст] / Т. С. Звягіна, Н. І. Горбенко // Досягнення та перспективи експериментальної та клінічної ендокринології (Десяті Данилевські читання) : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, Харків, 3-4 берез. 2011 р. – Х., 2011. – С. 45-46.

8. Горбенко, Н. І. Доклінічне вивчення впливу таблеток «Кратал» на основні чинники серцево-судинної патології за умов метаболічного синдрому

та цукрового діабету [Текст] / Н. І. Горбенко, Т. С. Звягіна, А. С. Шаламай // Ендокринологія : матеріали II конгр. асоц. ендокр. Укр., Київ, 18-19 квіт. 2012 р. – К., 2012. – С. 23.

2. Горбенко, Н. І. Вплив таурин-вмісного препарату «Кратал» на біоенергетичні процеси та оксидантний статус мітохондрій серця щурів із метаболічним синдромом [Текст] / Н. І. Горбенко, Т. С. Звягіна, А. С. Шаламай // Таврический медико-биологический вестник. – 2012. – Т. 15. – № 3, ч. 2 (59). – С. 328-329.

3. Звягіна, Т. С. Ефективність застосування таурин-вмісного препарату «Кратал» в терапії метаболічного синдрому та цукрового діабету [Текст] / Т. С. Звягіна, Н. І. Горбенко, А. С. Шаламай // Впровадження сучасних досягнень медичної науки в практику охорони здоров'я України : матеріали міжнар. мед. конгр., Київ, 25-27 верес. 2012 р. – К., 2012. – С. 23-24.

4. Taurine protects against impairment of mitochondrial function and oxidative stress in the heart of rats with fructose-induced insulin resistance [Text] / N. Gorbenko, T. Zvyagina, O. Borikov [et al.] // The 5th Annual Meeting of the Diabetes & Cardiovascular Disease EASD Study Group : programme & abstracts, Paris, France, Nov. 15-17, 2012. – Paris, 2012. – P. 106-107.

5. Taurine ameliorates mitochondrial dysfunction and oxidative stress in the heart of rats with fructose-induced insulin resistance [Text] / O. Borikov, N. Gorbenko, T. Zvyagina [et al.] // Активные формы кислорода, окис нитрогену, антиоксиданты и здоровье человека : материалы 8-й нац. науч.-практ. конф., Смоленск, 25-29 мая 2014 г. – Смоленск, 2014. – С. 28-29.

6. Вплив таурин-вмісного препарату Кратал на оксидантний статус мітохондрій серця щурів із метаболічним синдромом [Текст] / Н. І. Горбенко, Т. С. Звягіна, О. Ю. Боріков, А. С. Шаламай // Ендокринологія. – 2015. – Т. 20, № 3. – С. 594-598.

7. Пат. 101418 UA, МПК A61K 36/734 (2006.01), A61K 36/533 (2006.01), A61K 31/195 (2006.01), A61P 3/00, A61P 13/12 (2006.01).

Фармацевтична композиція, засіб для профілактики і лікування метаболічного синдрому та діабетичної нефропатії та спосіб його отримання [Текст] / Л. В. Безпалько, І. М. Ржепецька, Є. О. Сова, Н. І. Горбенко, О. В. Іванова, Т. С. Звягіна, В. І. Кобилінська, Р. А. Тищенко, О. О. Добровольський, А. С. Шаламай (UA) ; патентовласники Л. В. Безпалько, А. С. Шаламай (UA). – № a201107973 ; заявл. 24.06.2011 ; опубл. 25.03.2013, Бюл. № 6. – 6 с.

8. Пат. 2519744 C2 RU, МПК A61K 36/734 (2006.01), A61K 36/533 (2006.01), A61P 3/10 (2006.01), A61P 3/06 (2006.01). Фармацевтическая композиция, средство для профилактики и лечения метаболического синдрома и диабетической нефропатии и способ его получения [Текст] / Л. В. Безпалько, И. Н. Ржепецкая, Є. А. Сова [и др.] (UA) ; патентообладатели Л. В. Безпалько, А. С. Шаламай (UA). – № 2011125805 ; заявл. 24.06.2011 ; опубл. 20.06.2014, Бюл. № 36. – 6 с.

9. Вплив комплексного препарату «Кратал» на функціональний стан серцево-судинної системи у щурів із метаболічним синдромом [Текст] / О. В. Іванова, Т. С. Звягіна, Н. І. Горбенко, А. С. Шаламай // Пробл. ендокр. патол. – 2015. – № 2. – С. 94-100.

10. Антидіабетичні властивості комбінованого препарату Кратал [Текст] / Н. І. Горбенко, Т. С. Звягіна, С. П. Олейнікова, А. С. Шаламай // Здоров'я України. – Т. 379, № 6. – 2016. – 4 с.

РОЗДІЛ 6
ОЦІНКА ПРОТЕКТИВНОГО ВПЛИВУ КОМБІНОВАНОГО
ТАУРИН-ВМІСНОГО ПРЕПЕРАТУ НА РОЗВИТОК
ДІАБЕТИЧНОЇ НЕФРОПАТІЇ
У ЩУРІВ ІЗ СТЕПТОЗОТОЦИНОВИМ ДІАБЕТОМ

6.1. Оцінка порушень вуглеводного обміну за умов цукрового діабету та застосування комбінованого таурин-вмісного препарату

Діабетична нефропатія є одним із найтяжчих мікросудинних ускладнень, пов'язаних з артеріальною гіпертензією та зростанням летальних випадків через серцево-судинні захворювання які залишаються головною причиною смертності хворих на ЦД [164].

Оскільки структурні та функціональні зміни в нирках за умов діабету, насамперед, обумовлені гіперглікемією та її біохімічними наслідками, зокрема, посиленням неферментативного глікозилювання білків та розвитком оксидативного стресу, патогенетично обґрунтованим є застосування антиоксидантів для профілактики та лікування діабетичної нефропатії [165].

Метою даного фрагменту роботи було дослідження впливу комбінованого таурин-вмісного препарату на розвиток діабетичної нефропатії у щурів за умов цукрового діабету.

В результаті проведеного експерименту було встановлено, що застосування КТП в дозах 100 та 300 мг/кг маси тіла протягом двох місяців призводило до достовірного зниження базальної гіперглікемії відповідно на 30 % та 50 % у порівнянні з діабетичним контролем (табл. 6.1).

Про суттєве поліпшення глікемічного контролю під впливом КТП також свідчило вірогідне зниження рівня фруктозаміну в сироватці крові діабетичних тварин, яке відмічали при застосуванні препарату в дозі 300 мг/кг маси тіла (див. табл. 6.1.).

Таблиця 6.1

**Вплив комбінованого таурин-вмісного препарату на показники
глюкозного гомеостазу щурів зі стрептозотоциновим
діабетом, ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$), $n = 24$**

Показники	Інтактний контроль	Діабет + розчинник	Діабет + КТП (100 мг/кг)	Діабет + КТП (300 мг/кг)
Базальна глікемія, ммоль/л	4,77±0,13	15,72±0,53 ^a	11,28±0,90 ^{a, b}	8,49±1,84 ^{a, b}
ФА, ммоль/л	1,83±0,12	3,19±0,31 ^a	3,23±0,22 ^a	2,48±0,13 ^{a, b, c}

Примітки:

- 1) а – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «Інтактний контроль», ($p < 0,05$);
- 2) b – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «Діабет + розчинник», ($p < 0,05$);
- 3) с – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «Діабет + КТП (100 мг/кг)», ($p < 0,05$).

6.2. Вивчення функціонального стану нирок тварин із діабетичною нефропатією, які отримували комбінований таурин-вмісний препарат

Розвиток абсолютної інсулінової недостатності супроводжувався зниженням маси тіла діабетичних тварин, що є наслідком посилення катаболічних процесів за умов відсутності інсуліну (табл. 6.2). Підтвердженням цьому було значне підвищення концентрації сечовини в сироватці крові та сечі, що свідчить про посилений розпад білків (див. табл. 6.2).

Таблиця 6.2

**Вплив комбінованого таурин-вмісного препарату
на масу тіла та концентрацію сечовини в сироватці крові та сечі
самців щурів зі стрептозотоциновим діабетом, ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$), $n = 24$**

Показники		Інтактний контроль	Діабет + Розчинник	Діабет + КТП (100 мг/кг)	Діабет + КТП (300 мг/кг)
Маса тіла, г	Початок експерименту	213,3±6,0	204,2±4,7	201,7±10,9	209,2±10,9
	Кінець експерименту	293,5±14,12	152,5±13,6 ^a	154,5±11,3 ^a	157,5±15,0 ^a
Сечовина в сечі, ммоль/л		174,03±13,8 2	338,65±19,9 5	309,34±22,09 a	307,32±22,74 a
Сечовина в сироватці крові, ммоль/л		6,5±0,53	25,1±1,59 ^a	26,91±3,14 ^a	20,1±2,36 ^a

Примітка:

a – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «Інтактний контроль», ($p < 0,05$).

Введення КТП в обох дозах суттєво не впливало на масу тіла діабетичних тварин та концентрацію сечовини в сироватці крові та сечі, що обумовлено збереженням у них інсулінової недостатності, незважаючи на поліпшення глікемічного контролю (див. табл. 6.2).

Встановлено, що через два місяці після індукції діабету у тварин значно підвищується добовий діурез, що обумовлено зниженням реабсорбції води у ниркових каналцях за умов підвищеного осмотичного тиску, який створює висока концентрація глюкози у первинній сечі. Останнє підтверджується виразною глюкозурією, яку спостерігали в даній групі тварин (табл. 6.3).

Таблиця 6.3

**Вплив комбінованого таурин-вмісного препарату на вагу
та функціональний стан нирок у щурів
із стрептозотоциновим діабетом, ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$), $n = 24$**

Показники	Інтактний контроль	Діабет + розчинник	Діабет + КТП (100 мг/кг)	Діабет + КТП (300 мг/кг)
Вага нирок, г	2,08±0,17	2,18±0,15	1,83±0,17	1,84±0,22
Добовий діурез, мл	4,73±0,50	19,02±0,96 ^a	16,10±0,76 ^{a, b}	13,22±0,80 ^{a, b}
pH сечі	8,33±0,17	7,67±0,25	7,67±0,17	8,00±0,18
Глюкоза в сечі, ммоль/л	-	134,52±20,17 ^a	83,11±13,08 ^{a, b}	72,06±22,34 ^{a, b}

Примітки:

- 1) а – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «Інтактний контроль», ($p < 0,05$);
- 2) б – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «Діабет + розчинник», ($p < 0,05$).

Застосування препарату в обох дозах знижувало добовий діурез та глюкозурію у діабетичних тварин, що корелює з поліпшенням глікемічного контролю під його впливом. Орім того, у діабетичних тварин посилюється екскреція альбуміну та знижується кліренс креатиніну, який характеризує швидкість клубочкової фільтрації (табл. 6.4).

Встановлено, що застосування КТП в обох дозах, запобігає розвитку функціональної неповноцінності нирок, про що свідчила нормалізація кліренсу креатиніну та швидкості клубочкової фільтрації у діабетичних тварин.

Таблиця 6.4

**Вплив таурин-вмісного препарату на кліренс креатиніну
та рівень мікроальбумінурії у самців щурів
зі стрептозотоциновим діабетом, ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$), $n = 24$**

Показники	Інтактний контроль	Діабет + розчинник	Діабет + КТП (100 мг/кг)	Діабет + КТП (300 мг/кг)
Креатинін в сечі, ммоль/л	17,38±1,52	3,45±0,20 ^a	5,88±0,61 ^{a, b}	6,43±0,53 ^{a, b}
Креатинін в сироватці крові, мкмоль/л	55,31±3,16	125,38±4,26 ^a	68,83±10,37 ^b	51,63±6,32 ^b
Кліренс креатиніну, мл/хв	1,02±0,10	0,36±0,04 ^a	1,06±0,19 ^b	1,27±0,23 ^b
Мікроальбумінурія, мкг/л	0,63±0,13	2,16±0,34 ^a	0,78±0,21 ^b	0,80±0,11 ^b

Примітки:

- 1) а – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «Інтактний контроль», ($p < 0,05$);
- 2) б – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «Діабет + розчинник», ($p < 0,05$).

6.3. Дослідження ефекту комбінованого таурин-вмісного препарату на інтенсивність оксидативного та нітрозивного стресу в експериментальних тварин

В результаті проведених досліджень було встановлено, що інтенсивність перекисного окислення ліпідів у нирках діабетичних тварин, яку оцінювали за рівнем ДК та МДА, була значно вищою у порівнянні з показниками в

контрольній групі (табл. 6.5). Аналогічне посилення ПОЛ також спостерігали в сироватці крові діабетичних тварин, про що свідчило значне підвищення концентрації ДК (табл. 6.6). Інтенсифікація процесів ПОЛ у нирках діабетичних тварин супроводжувалася зниженням рівня ВГ (див. табл. 6.5)

Таблиця 6.5

**Вплив комбінованого таурин-вмісного препарату
на показники оксидантного статусу в нирках самців щурів
зі стрептозотоциновим діабетом, ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$), $n = 24$**

Показники	Інтактний контроль	Діабет + розчинник	Діабет + КТП (100 мг/кг)	Діабет + КТП (300 мг/кг)
ДК, нмоль/мг білка	0,16±0,02	0,56±0,04 ^a	0,38±0,06 ^{a, b}	0,30±0,05 ^{a, b}
МДА, нмоль/мг білка	0,57±0,04	1,51±0,12 ^a	0,87±0,07 ^b	0,85±0,14 ^b
ВГ, нмоль/мг білка	59,83±4,93	32,67±6,86 ^a	90,04±5,63 ^{a, b}	85,66±6,86 ^{a, b}
СОД, у.о./мг білка	10,11±1,61	28,07±2,87 ^a	10,75±1,78 ^b	11,39±2,47 ^b
КАТ, мкмоль/хв*мг білка	46,08±4,51	38,67±3,56	34,08±3,22	42,49±5,06
ГПО, нмоль/хв/мг білка	79,60±6,88	109,33±3,57 ^a	138,94±10,57 ^a	116,70±10,68 ^a

Примітки:

- 1) а – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «Інтактний контроль», ($p < 0,05$);
- 2) б – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «Діабет + розчинник», ($p < 0,05$).

В той же час, активність ключових ферментів антиоксидантного захисту – СОД та ГПО у тварин зі тривалим стрептозотоциновим діабетом підвищувалася в порівнянні з інтактним контролем (див. табл. 6.5).

Таблиця 6.6

**Вплив комбінованого таурин-вмісного препарату на показники
оксидативного стресу в сироватці крові самців щурів
зі стрептозотоциновим діабетом, ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$), $n = 24$**

Показники	Інтактний контроль	Діабет + розчинник	Діабет + КТП (100 мг/кг)	Діабет + КТП (300 мг/кг)
ДК, мкмоль/л	1,50±0,17	5,15±0,35 ^a	3,2±0,26 ^{a, b}	2,07±0,21 ^{b, c}
СОД, у.о./мл	10,13±0,82	10,73±1,16	11,03±2,44	10,67±1,77

Примітки:

- 1) а – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «Інтактний контроль», ($p < 0,05$);
- 2) b – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «Діабет + розчинник», ($p < 0,05$);
- 3) с – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «Діабет + КТП (100 мг/кг)», ($p < 0,05$).

Слід зазначити, що активність каталази не змінювалась в жодній з експериментальних груп, що, можливо, пов'язано з посиленням глікозилюванням.

У діабетичних тварин, які отримували КТП в обох дозах, рівень дієнових кон'югатів в нирках та сироватці крові був значно зниженим у порівнянні з групою, що отримувала розчинник, тоді як рівень малонового діальдегіду в нирках практично не відрізнявся від показників у контрольній групі (див. табл. 6.5, 6.6). Слід зазначити, що антиоксидантний ефект КТП у дозі 300 мг/кг був більш виразним у порівнянні з дозою 100 мг/кг, що

корелює з його дозозалежним впливом на концентрацію ФА (див. табл. 6.1).

Показано, що рівень відновленого глутатіону в нирках тварин, які отримували КТП в обох дозах, значно перевищував показники не тільки діабетичного, але й інтактного контролю (див. табл. 6.5). У тварин, які отримували КТП в обох дозах також спостерігали нормалізацію активності супероксиддисмутази, що може бути результатом зниження стимулюючої дії АФК. В той же час, активність іншого ферменту антиоксидантного захисту – ГПО – залишалась підвищеною незалежно від введення препарату, що може бути обумовлено високою концентрацією ВГ, яку спостерігали при його застосуванні (див. табл. 6.5).

В результаті проведених досліджень було встановлено, що в групі діабетичних тварин, які отримували розчинник, рівень NO_x в сироватці крові та сечі був вищим у порівнянні з інтактним контролем (табл. 6.7).

Таблиця 6.7

Вплив комбінованого таурин-вмісного препарату на рівень метаболітів оксиду нітрогену у сечі та сироватці крові щурів зі стрептозотоциновим діабетом, ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$), $n = 24$

Показники	Інтактний контроль	Діабет + розчинник	Діабет + КТП (100 мг/кг)	Діабет + КТП (300 мг/кг)
NO_x в сироватці крові, мкмоль/л	33,79±0,17	55,47±4,71 ^a	34,25±2,32 ^b	30,68±2,42 ^b
NO_x в сечі, мкмоль/л	70,89±4,49	100,68±7,48 ^a	72,60±2,41 ^b	71,92±3,75 ^b

Примітки:

- 1) а – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «Інтактний контроль», ($p < 0,05$);
- 2) б – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «Діабет + розчинник», ($p < 0,05$).

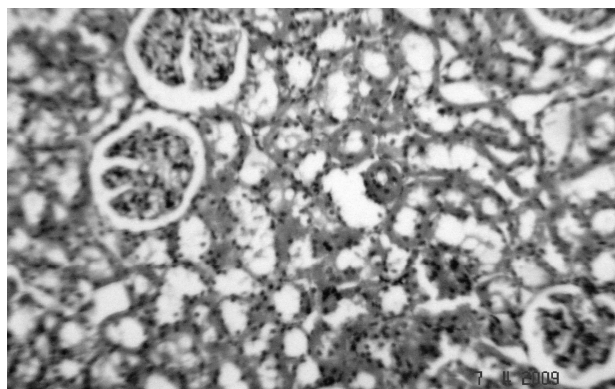
Застосування КТП в обох дозах призводило до нормалізації рівня NO_x в сироватці крові та сечі діабетичних тварин, що, імовірно, обумовлено його здатністю пригнічувати розвиток оксидативного стресу за умов гіперглікемії.

6.4. Визначення впливу комбінованого таурин-вмісного препарату на ультраструктурні зміни в нирках щурів із діабетичною нефропатією

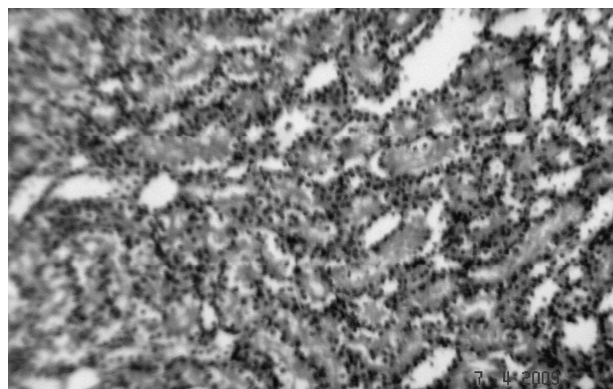
Гістологічні дослідження нирок тварин зі стрептозотоциновим діабетом виявили значні зміни морфоструктури клубочків та канальців нефронів. За даними світлової мікроскопії у проксимальних та дистальних канальцях спостерігається виразна інфільтрація глікогену та проліферація клітин епітелію, що призводить до зменшення просвіту канальців та порушення процесів фільтрації/реабсорбції (рис. 6.1). В деяких випадках спостерігається гіаліноз та амілоїдоз клубочків.

У тварин, які отримували КТП в обох дозах, морфоструктурні зміни нирок були менш виражені у порівнянні з групою діабетичного контролю (див. рис. 6.1). У цих групах також спостерігалась незначна інфільтрація глікогену, яка не призводила до значущих змін діаметру просвіту канальців нефронів. Як і у групі тварин, що отримували розчинник, спостерігалися окремі випадки гіалінозу та амілоїдозу ниркових клубочків.

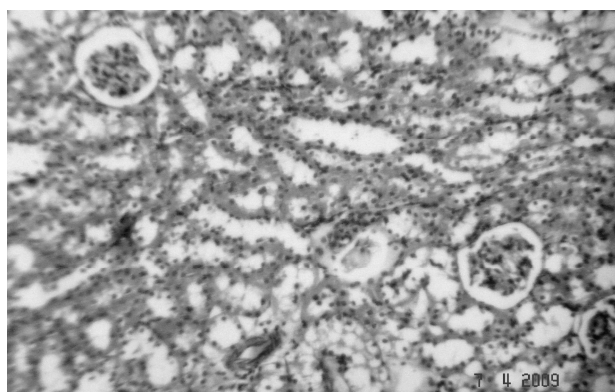
Характерною морфологічною ознакою діабетичної нефропатії є збільшення мезангіального матриксу та товщини гломерулярної базальної мембрани, що являється результатом змін в її біохімічному складі. До останніх відноситься накопичення кінцевих продуктів неферментативного глікозилювання, в тому числі зв'язаних із колагеном типу IV, зниження синтезу сірковмісних глюкозамінів, сілової кислоти, ламініну та гепарин-сульфатпротеогліканів [170]. Усі вищезазначені порушення макромолекулярного складу спричиняють зміни в розмірі та поляризації базальної мембрани, що на функціональному рівні проявляється розвитком протеїнурії [173].



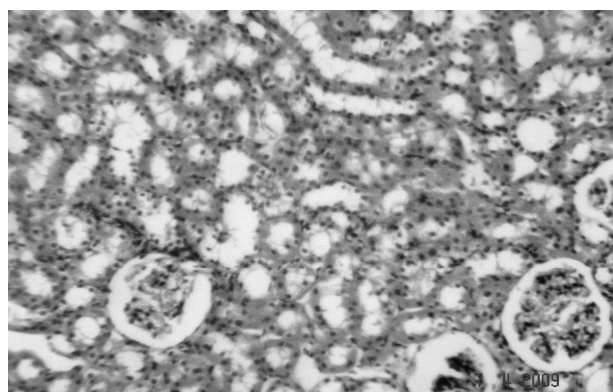
Інтактний контроль



Діабет+розчинник



Діабет+КТП (100 мг/кг)



Діабет+КТП (300 мг/кг)

Рис 6.1 Вплив комбінованого таурин-вмісного препарату на морфоструктуру нирок щурів із стрептозотоциновим діабетом (гематоксилін-еозин, збільшення об. 20 x 16; ок. 10)

За допомогою електронної мікроскопії було показано, що в групі діабетичного контролю товщина гломерулярної базальної мембрани майже вдвічі переверщувала аналогічні показники у інтактних тварин (рис. 6.2, табл. 6.8). При цьому товщина вищезазначених мембран у тварин, які отримували КТП в обох дозах, практично не відрізнялася від контролю.

Слід зазначити, що ультраструктурні зміни в нирках діабетичних тварин щільно корелюють із функціональними змінами в даному органі, зокрема, посиленням екскреції альбуміну та зниженням кліренсу креатиніну, який характеризує швидкість клубочкової фільтрації (табл. 6.4).



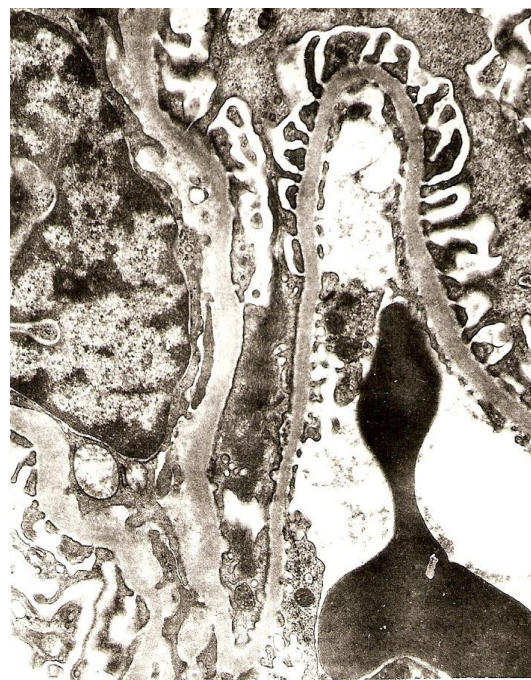
Інтактний контроль



Діабет+розчинник



Діабет+КТП (100 мг/кг)



Діабет+КТП (300 мг/кг)

Рис. 6.2 Вплив комбінованого таурин-вмісного препарату на зміни ультраструктури ниркового клубочка за умов стрептозотоцинового діабету. Мікрофото: x 16 000.

Таблиця 6.8

**Вплив комбінованого таурин-вмісного препарату на товщину
базальної мембрани судин ниркового клубочка щурів зі
стрептозотоциновим діабетом, ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$), $n = 6$**

Показники	Інтактний контроль	Діабет + розчинник	Діабет + КТП (100 мг/кг)	Діабет + КТП (300 мг/кг)
Товщина базальної мембрани, мкм	0,197±0,009	0,357±0,005 ^a	0,203±0,009 ^b	0,201±0,015 ^b

Примітки:

а – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «Інтактний контроль», ($p < 0,05$);

б – статистично значущі відмінності у порівнянні з показниками для групи «Діабет + розчинник», ($p < 0,05$).

Таким чином, отримані результати свідчать про те, що застосування комбінованого таурин-вмісного препарату протягом двох місяців сприяє зниженню базальної гіперглікемії, глюкозурії, нормалізації кліренсу креатиніну та швидкості клубочкової фільтрації, ослабленню оксидативного та нітрозивного стресу в нирках, гальмуванню виразності мікроальбумінурії та морфоструктурних змін в нирках діабетичних тварин. Слід зазначити, що ефект таурин-вмісного препарату в дозі 100 мг/кг на більшість досліджуваних показників не поступався дії препарату при його використанні в дозі 300 мг/кг маси тіла.

Основні наукові результати розділу опубліковані в працях автора:

1. Горбенко, Н. І. Доклінічне вивчення впливу таблеток «Кратал» на основні чинники серцево-судинної патології за умов метаболічного синдрому та цукрового діабету [Текст] / Н. І. Горбенко, Т. С. Звягіна, А. С. Шаламай //

Ендокринологія : матеріали II конгр. асоц. ендокр. Укр., Київ, 18-19 квіт. 2012 р. – К., 2012. – С. 23.

2. Звягіна, Т. С. Ефективність застосування таурин-вмісного препарату «Кратал» в терапії метаболічного синдрому та цукрового діабету [Текст] / Т. С. Звягіна, Н. І. Горбенко, А. С. Шаламай // Впровадження сучасних досягнень медичної науки в практику охорони здоров'я України : матеріали міжнар. мед. конгр., Київ, 25-27 верес. 2012 р. – К., 2012. – С. 23-24.

3. Звягіна, Т. С. Ефективність застосування таурин-вмісного препарату «Кратал» в терапії метаболічного синдрому та цукрового діабету [Текст] / Т. С. Звягіна, Н. І. Горбенко, А. С. Шаламай // Впровадження сучасних досягнень медичної науки в практику охорони здоров'я України : матеріали міжнар. мед. конгр., Київ, 25-27 верес. 2012 р. – К., 2012. – С. 23-24.

4. Звягіна, Т. С. Вплив таурин-вмісного препарату на розвиток діабетичної нефропатії у щурів [Текст] / Т. С. Звягіна // Біологія: від молекули до біосфери : матеріали V міжнар. конф. молод. науковців, Харків, 22-25 листоп. 2010 р. – Х., 2010. – С. 88-89.

5. Горбенко, Н. І. Вплив таурин-вмісного препарату «Кратал» на розвиток діабетичної нефропатії у щурів [Текст] / Н. І. Горбенко, Т. С. Звягіна, А. С. Шаламай // Фармакол. та лікарськ. токсикол. – 2012. – № 1 (26). – С. 34-39.

6. Горбенко, Н. І. Роль таурину в терапії цукрового діабету та його судинних ускладнень [Текст] / Н. І. Горбенко, Т. С. Звягіна, А. С. Шаламай // Досягнення та перспективи експериментальної і клінічної ендокринології (Дванадцяті Данилевські читання) : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, Харків, 14-15 берез. 2013 р. – Х., 2013. – С. 41-42.

7. Пат. 101418 UA, МПК А61К 36/734 (2006.01), А61К 36/533 (2006.01), А61К 31/195 (2006.01), А61Р 3/00, А61Р 13/12 (2006.01). Фармацевтична композиція, засіб для профілактики и лікування

метаболического синдрома та діабетичної нефропатії та спосіб його отримання [Текст] / Л. В. Безпалько, І. М. Ржепецька, Є. О. Сова, Н. І. Горбенко, О. В. Іванова, Т. С. Звягіна, В. І. Кобилінська, Р. А. Тищенко, О. О. Добровольський, А. С. Шаламай (UA) ; патентовласники Л. В. Безпалько, А. С. Шаламай (UA). – № a201107973 ; заявл. 24.06.2011 ; опубл. 25.03.2013, Бюл. № 6. – 6 с.

8. Пат. 2519744 C2 RU, МПК А61К 36/734 (2006.01), А61К 36/533 (2006.01), А61Р 3/10 (2006.01), А61Р 3/06 (2006.01). Фармацевтическая композиция, средство для профилактики и лечения метаболического синдрома и диабетической нефропатии и способ его получения [Текст] / Л. В. Безпалько, И. Н. Ржепецкая, Є. А. Сова [и др.] (UA) ; патентообладатели Л. В. Безпалько, А. С. Шаламай (UA). – № 2011125805 ; заявл. 24.06.2011 ; опубл. 20.06.2014, Бюл. № 36. – 6 с.

9. Антидіабетичні властивості комбінованого препарату Кратал [Текст] / Н. І. Горбенко, Т. С. Звягіна, С. П. Олейнікова, А. С. Шаламай // Здоров'я України. – Т. 379, № 6. – 2016. – 4 с.

РОЗДІЛ 7

АНАЛІЗ ТА ОБГОВОРЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

Пандемічний характер розповсюдженості МС являє собою глобальну медико-соціальну проблему, та його розвиток обумовлений наступними факторами: вживання висококалорійної дієти на тлі зменшення фізичних навантажень, негативний вплив факторів навколишнього середовища, генетична схильність, паління та інші [174, 175]. Існують повідомлення, що кількість осіб з наявністю вказаного симптомокомплексу збільшується щороку та складає в різних країнах від 20 до 35 % загального населення [171, 172].

Відомо, що МС є предиктором ЦД та кардіоваскулярної патології, зокрема ішемічної хвороби серця, інсультів, інфарктів, кардіоміопатій та інших, що посідає перше місце в світі серед неінфекційних захворювань, які призводять до зростання інвалідизації та смертності населення [154].

Враховуючи тяжкі наслідки метаболічних порушень, притаманних синдрому інсулінорезистентності та ЦД, їх фармакологічну корекцію необхідно починати вже на стадії предіабету. Незважаючи на те, що дієта, фізичні вправи та зниження ваги тіла залишаються важливим аспектом профілактики і терапії ЦД 2-го типу, в більшості випадків досягти оптимального глікемічного контролю та корекції метаболічних порушень, зумовлених інсулінорезистентністю, не можливо без застосування фармакологічних препаратів.

Виконана робота присвячена експериментальному обґрунтуванню ефективності застосування комбінованого таурин-вмісного препарату для корекції основних складових кардіометаболічного ризику за умов синдрому інсулінорезистентності та гальмування розвитку діабетичної нефропатії.

Відомо, що дієта з високим вмістом калорій спричиняє ожиріння, яке, в свою чергу, індукує зниження чутливості до інсуліну [215]. ІР розвивається за кілька років до маніфестації ЦД 2-го типу і є предиктором кардіоваскулярних порушень [216].

В результаті проведеного дослідження на щурах-самцях встановлено, що ВЖД призводить до зниження толерантності до вуглеводів та коефіцієнта чутливості до інсуліну майже втричі (див. розділ 3, табл. 3.1) порівняно з інтактним контролем.

Застосування КТП призводило до поліпшення чутливості до інсуліну на 60 % та зменшення ППК при проведенні ВБТТГ на 27 – 35 %, наслідком чого є гальмування розвитку інсулінорезистентності та інтолерантності до вуглеводів. Слід зазначити, що виразність позитивного ефекту КТП не посилювалася при підвищенні дози препарату до 300 мг/кг маси тіла (див. розділ 3, табл. 3.1).

На сьогодні припускають, що вплив основного компоненту КТП – таурину – на глюкозний гомеостаз реалізується, головним чином, двома шляхами: завдяки стимуляції секреції інсуліну β -клітинами підшлункової залози та посилення інсулінового сигналіngu на пострецепторному рівні [217].

Оскільки результати епідеміологічних досліджень свідчать, що хронічне переїдання, зокрема вживання дієти з високим вмістом насичених жирів, призводить до розвитку ожиріння [45, 215], являло інтерес визначення маси тіла та вісцерального жиру в експериментальних тварин. Встановлено, що ВЖД спричиняє збільшення вказаних показників відповідно в два та три рази порівняно з інтактним контролем (див. табл. 3.2). Слід зазначити, що найбільший внесок у вісцеральне ожиріння було зроблено за рахунок зростання маси епігонадаального та мезентерального жиру. КТП в обох дозах запобігав приросту маси тіла щурів та знижував відносну масу вісцерального жиру на 28-38 % (див. табл. 3.2). Привертає увагу той факт, що застосування КТП в вищій дозі супроводжується більш вираженим впливом на відносну масу мезентерального жиру. Отримані дані узгоджуються з результатами досліджень, в яких таурин попереджував підвищення маси тіла та жиру у мишей із ожирінням, які знаходилися на ВЖД [218].

При визначенні ліпідного профілю в сироватці крові виявлено достовірне підвищення концентрації ТГ в групі тварин, які отримували дієту з високим вмістом жирів, що корелює з результатами досліджень, в яких на 21 добу ВЖД відмічали гіпертригліцеридемію у Sprague–Dawley щурів [194]. В результаті проведених досліджень встановлено, що застосування КТП в обох дозах сприяє нормалізації даного показника.

Гіполіпідемічний ефект КТП також проявлявся в зниженні рівня загального ХС в сироватці крові навіть у порівнянні з інтактним контролем (див. табл. 3.3). Вважають, що таурин стимулює активність холестерол-7- α -монооксигенази, ключового ферменту синтезу жовчних кислот. В свою чергу, жовчні кислоти, приєднуючись до таурину, утворюють жовчно-сольові кон'югати, що сприяє підвищенню розчинності та екскреції холестерину [219]. Отримані дані співпадають з результатами досліджень інших авторів, які виявили позитивний ефект таурину на ліпідний спектр крові [220].

Літературні джерела свідчать і про ліпідознижуючий ефект плодів глоду: зниження співвідношення ЛПНЩ-ХС/ХС загального, тригліцеридів та окиснених ЛПНЩ. Можливо, це відбувається внаслідок гальмування активності інтерстеціальної ацил-коензим А: холестеролацилтрансферази, а флавонойдна фракція виявляє пригнічуючу дію на абсорбцію глюкози та тригліцеридів в шлунково-кишковому тракті з послідуною супресією накопичення ТГ та вільних жирних кислот [101]. Також глід підвищує екскрецію жовчних кислот та регулює активність холестерол-7- α -гідроксилази [21].

Окрім інтраабдомінального накопичення жиру, часто сосстерігається його відкладання в нетипових органах, особливо печінці та скелетних м'язах, що сприяє патогенезу ІР, діабету та інших захворювань [221].

В результаті проведеного дослідження встановлено вірогідне підвищення вмісту ТГ та НЕЖК в гомогенатах печінки щурів внаслідок ВЖД

(див. табл. 3.3), що свідчить про розвиток інсулінорезистентності в даному органі.

Доведено, що використання КТП як в дозі 100, так і 300 мг/кг маси тіла, призводить до зниження вмісту НЕЖК на 35 % (див. табл. 3.3) в печінці тварин із синдромом інсулінорезистентності, що не відрізняється від показників інтактного контролю. Слід зазначити, що лише при використанні дози 300 мг/кг спостерігали нормалізацію рівня ТГ в даному органі (див. табл. 3.3). Отримані результати узгоджуються з даними щодо ефективності застосування таурину з метою корекції та профілактики неалкогольної жирової хвороби печінки [220].

Відомо, що жирові депо печінки є чинниками кардіометаболічного ризику: вони ідукують печінкову ІР, стимулюють генерацію прозапальних цитокінів, посилюють синтез ліпопротеїдів дуже низької щільності завдяки ліпогенезу *de novo* та продукції аполіпопротеїну В. Вказані дані підтверджують щільний зв'язок між накопиченням ліпідів в печінці та системним запаленням й атерогенезом [222].

Встановлено, що в серці тварин, яких утримували на ВЖД, спостерігається суттєве підвищення рівня ТГ та НЕЖК (див. табл. 3.3), що узгоджується з результатами визначення даних показників в печінці. Введення КТП в обох дозах сприяло нормалізації вмісту ТГ і лише в дозі 300 мг/кг на 30 % знижувало вміст НЕЖК (див. табл. 3.3), що може бути одним із механізмів реалізації його кардіопротекторного ефекту за умов МС.

На сьогодні виявлено чітку кореляцію між наявністю МС та підвищенням оксидативного стресу, що призводить до посилення ІР, дисліпідемії, погіршення толерантності до вуглеводів та дисфункції панкреатичних β -клітин [223].

В результаті визначення про/антиоксидантного статусу експериментальних тварин встановлено майже п'ятиразове збільшення концентрації первинних продуктів ПОЛ – дієнових кон'югатів в сироватці крові тварин, яких утримували на ВЖД (див. табл. 3.5). В той же час

застосування КТП в обох дозах гальмувало розвиток оксидативного стресу, підтвердженням чому було майже триразове зниження концентрації ДК (див. табл. 3.5) порівняно з групою, яка отримувала розчинник, що підтверджує виразні антиоксидантні властивості препарату.

Одним із можливих механізмів реалізації антиоксидантної дії КТП може бути його стимулюючий вплив на концентрацію церулоплазміну в сироватці крові, яка підвищувалася на 31 % (див. табл. 3.5) порівняно з експериментальними тваринами, які отримували ВЖД.

Відомо, що посилення в печінці процесів ПОЛ, дефіцит антиоксидантної системи захисту призводять до фіброзу, хронічного запалення та апоптозу в даному органі [196].

В результаті проведеного дослідження встановлено, що в печінці самців-щурів, які отримували ВЖД вміст кінцевого продукту перекисного окиснення ліпідів – МДА був достовірно вищий у порівнянні з контрольними тваринами (див. табл. 3.6). Слід зазначити, що КТП знижував вказаний показник на 34-35 % (див. табл. 3.6), що корелює зі зниженням концентрації початкових продуктів ПОЛ в сироватці крові під впливом даного препарату.

Зростання інтенсивності ПОЛ в печінці тварин із МС супроводжувалося чотирьохразовим підвищенням активності антиоксидантного ферменту – СОД (див. табл. 3.6), що може розглядатися як компенсаторна реакція з боку антиоксидантної системи захисту. Слід зазначити, що лише при використанні КТП в дозі 300 мг/кг маси тіла відмічали нормалізацію активності даного ферменту, можливо, внаслідок відсутності основного чинника для його стимуляції – підвищеної продукції супероксидного радикалу.

В результаті дослідження гомогенатів серця тварин, яких утримували на ВЖД, виявлено посилення процесів ПОЛ, що підтверджується підвищенням вмісту первинних продуктів вільно-радикального окиснення ліпідів – дієнових кон'югатів на тлі зниження вмісту відновленого глутатіону та компенсаторного підвищення активності супероксиддисмутази (див. табл. 3.7).

Антиоксидантна дія КТП проявлялася як в зниженні рівня продуктів вільнорадикального окиснення ліпідів, так і в активації антирадикальної системи захисту. Зокрема, при використанні КТП в обох дозах спостерігали зниження рівня ДК на 60-65 % (див. табл. 3.7) та нормалізацію активності СОД, а при підвищенні дози препарату до 300 мг/кг відмічали зростання вмісту відновленого глутатіону на 64 % (див. табл. 3.7) в гомогенатах серця щурів із синдромом інсулінорезистентності в порівнянні з інтактним контролем.

Слід зазначити, що завдяки своїм антиоксидантним властивостям таурин бере участь в попередженні діабетичних ускладнень, одним з механізмів розвитку яких є посилення оксидативного стресу. Вказана амінокислота має здатність стабілізувати ЕТЛ і, таким чином, інгібує генерацію АФК [224]. Протиоксидантний ефект КТП також може бути пов'язаний із можливістю таурину взаємодіяти з МДА, знижуючи утворення продуктів посиленого глікозилювання і ліпопротеїнів низької щільності. Окрім того, пригнічення вільнорадикального окиснення може бути наслідком нейтралізації таурином гіпохлорної кислоти та збільшення біодоступності оксиду нітрогену [225].

Також відомо, що застосування екстрактів глоду призводить до зниження нітрозивного, оксидативного стресу, медіаторів запалення (ФНП- α , ІЛ-1 β , ІЛ-6 та), попереджує фрагментацію ДНК, що сприяє відновленню функції серцево-судинної системи та попереджує розвиток кардіоваскулярних порушень [101].

Етіологія ендотеліальної дисфункції до кінця не з'ясована, але відомо, що ендотеліоцити чутливі до хронічної гіперглікемії на тлі інсулінорезистентності, наслідком чого є розвиток дисбалансу між продукцією про- та протизапальних цитокінів, оксидативного стресу паралельно зі зменшенням антиоксидантної системи захисту, а також дефіциту синтезу NO, необхідного для нормальної вазодилатації [226, 227].

Визначення концентрації стабільних метаболітів NO в сироватці крові та сечі виявило її достовірне зниження під впливом ВЖД у порівнянні з групою інтактного контролю (див. табл. 3.8).

Встановлено, що застосування КТП призводить до підвищення даного показника в середньому на 67 % в сечі та на 41 % (див. табл. 3.8) в сироватці крові дослідних тварин, що може свідчити про підвищення продукції NO та зниження ендотеліальної дисфункції. Існують повідомлення про підвищення рівня NO та NOS під впливом таурину у щурів із гіпертензією та в селезінці мурчаків [228]; а також, що екстракт глоду WS 1442 індукує NO-опосередковану вазорелаксацію шляхом фосфорилування eNOS за серіном 1177 та ініціює NO-залежну дилатацію коронарних артерій [101].

Літературні дані підтверджують, що центральне ожиріння пов'язане з посиленням активації тромбоцитів та як венозного, так і артеріального тромбоутворення, що може стати причиною смерті [186], а наявність атерогенної дисліпідемії підвищує кардіоваскулярний ризик [187].

Визначення реологічних властивостей крові показало достовірне підвищення як ступеня, так і швидкості АДФ-стимульованої агрегації тромбоцитів під впливом дієти з високим вмістом жирів, що свідчить про підвищений ризик тромбоутворення за наявності синдрому інсулінорезистентності вже на стадії предіабету ($p < 0,05$).

Існують повідомлення, що у котів з дефіцитом таурину знижується його концентрація в тромбоцитах, наслідком чого є посилення агрегації *ex vivo*. У людини застосування таурину *ex vivo* підвищує резистентність до агрегації тромбоцитів та в подальшому корелює зі зниженням вивільнення тромбоксану під час агрегації [179].

Показано, що застосування екстракту глоду є ефективним в зниженні агрегації тромбоцитів, знижуючи рівень тромбоксану В2 в сироватці, але в дозах 100, 200 та 500 мг/кг [101].

В результаті проведеного дослідження виявлено, що доза 100 мг була ефективною лише в зменшенні індексу агрегації (на 31 %), в той час як

застосування КТП в дозі 300 мг на кг маси тіла призводило до зниження як індексу (на 40 %), так і швидкості (на 36 %) (див. табл. 3.9) АДФ-стимульованої агрегації тромбоцитів у щурів із метаболічним синдромом, що свідчить про відновлення балансу гемостазу під впливом препарату.

Виявлений антитромбогенний ефект КТП узгоджується з дослідженнями інших авторів, які показали, що застосування таурину знижує колаген-стимульоване вивільнення тромбоксану і агрегацію тромбоцитів та посилює фармакологічний ефект інших антиагрегаційних агентів [149]; а екстракт наземних частин *Leonurus heterophyllus* виявляє антитромбогенну та протизапальну дію [150].

Таким чином, в результаті проведених досліджень було встановлено, що застосування таурин-вмісного препарату в дозах 100 та 300 мг/кг маси тіла у самців щурів гальмує такі прояви метаболічного синдрому, як: інсулінорезистентність, інтолерантність до вуглеводів, абдомінальне ожиріння, гіпертригліцеридемія, оксидативний стрес, ендотеліальна дисфункція, протромбічний стан.

Відомо, що у жінок в період постменопаузи підвищується ризик розвитку метаболічного синдрому та ССЗ. Вважають, що дефіцит жіночих статевих гормонів відіграє значну роль в патогенезі метаболічних порушень кардіоваскулярної системи, являючись незалежним чинником розвитку синдрому інсулінорезистентності [180].

Виявлено, що застосування естрогенів знижує кардіоваскулярний ризик у постменопаузальних жінок, що вказує на протекторну роль зазначеного гормону. Однак широкомасштабні рандомізовані клінічні дослідження не підтвердили превентивну дію естрогенів в розвитку ішемічної хвороби серця, а навпаки виявили недоліки гормон-замісної терапії, оскільки з часом збільшується ризик розвитку тромбоутворень, емболії легень та інсультів [185]. Через неоднозначність результатів естроген-замісної терапії та необхідність альтернативних шляхів корекції метаболічних порушень за

умов дефіциту естрогенів, являло інтерес вивчення впливу КТП на розвиток МС у самиць-щурів з гіпоестрогенією.

На сьогодні добре відомий той факт, що як кількісний, так і якісний склад їжі, а також зниження жіночих статевих гормонів, зокрема естрадіолу, під час природньої або хірургічної менопаузи, впливає на чутливість до інсуліну [181, 182, 183].

В результаті проведених досліджень у щурів з дефіцитом естрогенів, яких утримували на ВЖД, верифіковано розвиток інтолерантності до вуглеводів та інсулінорезистентності, підтвердженням чому було збільшення ППК більш, ніж на 70 % та зниження коефіцієнта чутливості до інсуліну майже в два рази (див. розд. 4, табл. 4.1) порівняно з групою інтактного контролю.

Встановлено, що пероральне введення КТП як в дозі 100 мг/кг, так і 300 мг/кг призводить до нормалізації чутливості до інсуліну та толерантності до вуглеводів (див. табл. 4.1). Отримані дані узгоджуються з результатами досліджень, в яких таурин поліпшував глюкозний метаболізм та знижував інсулінорезистентність у OLETF щурів із діабетом [184].

Відомо, що фермент вуглеводного обміну Г6Ф-ДГ є ключовим регулятором пентозофосфатного шляху, що поставляє відновлювальні еквіваленти у вигляді НАДФН. При цьому активність Г6Ф-ДГ залежить від рівня гормонів, нутрієнтів та виразності оксидативного стресу: інсулін та естрогени сприяють підвищенню активності, тоді як надлишок вільних жирних кислот в дієті призводить до зниження активності даного ферменту [204, 205].

Г6Ф-ДГ розглядають, зокрема, в якості одного з антиоксидантних ферментів, оскільки в результаті роботи пентозо-фосфатного шляху генеруються НАДФН, необхідні для відновлення окисненого глутатіону [206].

Встановлено, що активність Г6Ф-ДГ знижувалась в усіх дослідних групах порівняно з інтактними тваринами незалежно від введення препарату

(див. табл. 4.2). Майже не існує повідомлень щодо впливу таурину на активність даного ферменту за умов поєднання дефіциту естрогенів та ВЖД, але відомо, що він відновлює активність Г6Ф-ДГ, в умовах розвитку оксидативного стресу в серці мишей [207] та нирках [208, 209], а також в печінці риб *Totoaba macdonaldi* [210].

Слід зазначити, що дефіцит Г6Ф-ДГ спостерігається за умов порушення накопичення глікогену в печінці [210]. В результаті проведених досліджень встановлено, що комбінація дефіциту естрогенів та ВЖД спричиняє підвищення вмісту глікогену в печінці щурів із метаболічним синдромом відносно контрольних тварин (див. табл. 4.2). Введення препарату в жодній дозі не впливало на підвищення даного показника, що надає можливість припустити наявність інших механізмів впливу даного препарату на ІР.

Поширеність МС залежить від віку, статі та етнічних характеристик. Ключовими відмінностями між чоловіками та жінками є різниця глікемічного індексу, характер розподілу жирової маси, розмір та функціонування адипоцитів, гормональна регуляція маси тіла та жиру, вплив естрогенів на кардіометаболічний ризик [188, 35]. Відомо, що естрадіол здатен пригнічувати апетит, що підтверджується змінами в кількості їжі, яку вживають жінки в різні фази менструального циклу [189].

Оцінка приросту маси тіла експериментальних тварин виявила достовірне збільшення ваги в усіх експериментальних групах (див. табл. 4.3). Підвищення маси тіла, ймовірно, відбувалося за рахунок розвитку ожиріння в оварієктомованих щурів, яких утримували на ВЖД, що підтверджується більш, ніж триразовим збільшенням відносної маси вісцерального жиру, переважно за рахунок епігонадаального та мезентерального жиру, що може бути підґрунтям для розвитку ІР [190]. Застосування КТП сприяло зниженню приросту маси тіла приблизно на 34 % (див. табл. 4.3) та вісцерального жиру на 30 % ($p < 0,05$), але не до рівня контролю.

Як було зазначено раніше, роль таурину в метаболізмі ліпідів пов'язана з його здатністю утворювати кон'югати з жовчними кислотами, ендогенні

деривати яких, наприклад, урсодеоксихолієва кислота, діють в якості шаперону, знижуючи стрес в ендоплазматичному ретикулумі та відновлюючи глюкозний гомеостаз у мишей із ЦД 2-го типу. Внаслідок вказаних процесів покращується чутливість до інсуліну в печінці, скелетних м'язах та жировій тканині [192].

Встановлено щільну кореляцію між наявністю серцево-судинних захворювань, та «атерогенної дисліпідемії», що проявляється в підвищенні концентрації загального холестерину та ХС-ЛПНЩ, зниженні ХС-ЛПВЩ в комбінації з гіпертригліцеридемією або без [193].

Визначення концентрації ТГ в сироватці крові експериментальних тварин показало достовірне підвищення даного показника за умов комбінації ВЖД та гіпоестрогенії (див. табл. 4.4). При цьому введення КТП оварієктомованим самицям, на відміну від самців, суттєво не впливало на виразність гіпертригліцеридемії в самок із МС, індукованим ВЖД на тлі дефіциту естрогенів, що може свідчити про більш суттєві метаболічні порушення при поєднанні ВЖД із дефіцитом естрогенів.

Відомо, що в нормі АФК відіграють важливу роль у регуляції внутрішньоклітинного сигнального каскаду широкого кола клітин, зокрема фібробластів, ендотеліальних, клітин гладеньких м'язів судин та інших; але за наявності патології, наприклад, ЦД 2-го типу, оксидативний стрес є складовою прогресування ІР та порушення інсулінової секреції [195].

Встановлено, що в оварієктомованих самиць-щурів із метаболічним синдромом розвивається оксидативний стрес, про що свідчило підвищення концентрації первинних продуктів ПОЛ – дієнових кон'югатів в два рази (див. табл. 4.5) як в сироватці, так і гомогенатах серця.

В результаті клінічних та експериментальних досліджень показано, що дефіцит таурину пов'язаний зі структурними та функціональними порушеннями в серці, та лікування таурином зменшує кардіоваскулярні ушкодження. Так, *H. Parildar зі співав.* продемонстрували, що у старих щурів (22 місяці) лінії *Wistar* підвищується вміст МДА та ДК в гомогенатах серця

та знижується рівень таурину, в той час як застосування вказаної амінокислоти призводило до зменшення вмісту продуктів ПОЛ та підвищення концентрації таурину в тканині серця [197].

Встановлено, що застосування КТП як в дозі 100, так і 300 мг на кг маси тіла попереджує розвиток оксидативного стресу, знижуючи рівень ДК в сироватці крові на 63-50 % та в два рази (див. табл. 4.5) в гомогенаті серця експериментальних тварин.

Також в дослідях *in vitro* на яєчниках китайських хом'ячків показано, що екстракти *Leonurus sibiricus* виявляють антиоксидантні властивості завдяки репарації ДНК та активації антиоксидантних ферментів: супероксиддисмутази, каталази та глутатионпероксидази [198].

Відомо, що підвищення оксидативного стресу є ключовим моментом в патогенезі атеросклерозу. Перекис водню, супероксидний, гідроксильний радикали та пероксинітрит виявляють прямий цитотоксичний ефект, призводять до ендотеліальної дисфункції, проліферації, апоптозу клітин гладеньких м'язів судин та дестабілізації атеросклеротичної бляшки [200]. Негативний вплив вільних радикалів кисню урівноважується оксидом азоту, який діє атеропротективно. З іншого боку, повна відсутність будь якої форми NO-синтази призводить до тяжких наслідків, в тому числі порушень функції серцево-судинної системи: гіпертрофії міокарда, інфарктів, атеросклерозу, гіпертензії [201].

В результаті проведених досліджень було виявлено, що за умов поєднання гіпоестрогенії з ВЖД знижується концентрація стабільних метаболітів NO в сироватці крові та сечі щурів, тоді як застосування КТП в обох дозах призводило до зростання даного показника на 70 та 50 % відповідно (див. табл. 4.6).

Літературні дані підтверджують негативні наслідки зниження продукції NO, що проявляється в ураженні ендотелію шляхом підвищення агрегації тромбоцитів, посиленні адгезії моноцитів та стимуляції проліферації клітин гладеньких м'язів судин [202, 203]. Інший компонент МС, ожиріння, також є

чинником розвитку атеросклерозу, оскільки хемокіни, які продукуються адипоцитами та дисліпідемія (підвищення рівня ТГ та модифікованих ЛПНЩ) сприяють утворенню «атеросклеротичних бляшок» на стінках судин, що в подальшому створює умови для посилення тромбоутворення [177].

Визначення ступеня та швидкості АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів показало підвищення обох показників за умов метаболічного синдрому у сполученні з дефіцитом естрогенів (див. табл. 4.7). Застосування КТП лише в дозі 300 мг/кг нормалізувало швидкість та на 25,5 % (див. табл. 4.7) знижувало ступінь агрегації. Аналогічні результати представлені в дослідженнях на старих Sprague Dawley щурах, в яких було показано достовірне зниження агрегації тромбоцитів в групі, що отримувала таурин, порівняно з контролем, а також у тварин, які отримували таурин разом із холестерином в порівнянні з щурами, які отримували лише холестерин [212].

Таким чином, в результаті проведених досліджень було показано, що пероральне терапевтичне застосування таурин-вмісного препарату у тварин із метаболічним синдромом на тлі гіпоестрогенії в обох дозах призводить до зниження інсулінорезистентності та приросту маси тіла, поліпшення толерантності до вуглеводів, зменшення відносної маси вісцерального жиру та оксидативного стресу, підвищення ендогенної продукції оксиду нітрогену та поліпшення гемореологічних властивостей крові (в дозі 300 мг/кг маси тіла).

Отримані результати обґрунтовують можливість розширення спектра клінічного застосування комбінованого таурин-вмісного препарату як потенційного засобу для фармакологічної корекції більшості метаболічних порушень, притаманних постменопаузальному метаболічному синдрому.

На сьогодні встановлено, що кількість вживання фруктози в перерахунку на душу населення значно збільшилась в останні десятиріччя, оскільки даний компонент широко використовують в харчовій промисловості. Відомо, що вживання дієти з надмірним вмістом фруктози,

спричиняє порушення метаболізму вуглеводів, розвиток ІР, ожиріння, дисліпідемії та артеріальної гіпертензії [229, 230].

В результаті дослідження глюкозного гомеостазу в експериментальних тварин, які тривалий час отримували ВФД, встановлено розвиток інсулінорезистентності та інтолерантності до вуглеводів, підтвердженням чому є збільшення ППК при проведенні ВЧТТГ та ВЧТТ, що корелює з підвищенням рівня фруктозаміну в сироватці крові (див. розд. 5, табл. 5.1).

Встановлено, що застосування КТП гальмує розвиток інсулінорезистентності та інтолерантності до вуглеводів у щурів із метаболічним синдромом, оскільки зменшує ППК під час проведення ВЧТТГ (на 33,3 %) та ВЧТТІ (22 %) та знижує рівень фруктозаміну в сироватці крові (див. табл. 5.1). Отримані дані співпадають з результатами інших досліджень, в яких застосування таурину попереджало підвищення глюкози та інсуліну в крові, а також гальмувало розвиток ІР [159]. Зазначена дія препарату може бути пов'язана як із покращенням глюкозного гомеостазу, так і з здатністю таурину безпосередньо гальмувати процеси приєднання глюкози до білків [155].

Однією з причин того, що надмірне вживання фруктози призводить до ожиріння, є те, що вона, на відміну від глюкози, не стимулює секрецію інсуліну панкреатичними острівцями та обминає перший лімітуючий етап гліколізу [241].

За умов хронічного надходження надлишку енергії у вигляді фруктози встановлено розвиток ожиріння в експериментальних тварин, підтвердженням чому є збільшення відносної маси вісцерального жиру більш, ніж в два рази, а також значне підвищення приросту маси тіла (див. табл. 5.2), що, ймовірно, є результатом збільшення маси жирової тканини.

В дослідях на самцях-щурах *Wistar*, які вживали дієту з вмістом фруктози (60 % від загальних калорій) було показано, що таурин попереджає підвищення приросту маси тіла [92]. Нами також було продемонстровано, що застосування КТП гальмує приріст маси тіла, зокрема, за рахунок зменшення

відносної маси вісцерального жиру на 40 % (див. табл. 5.2), що корелює з поліпшенням чутливості до інсуліну в тварин із метаболічним синдромом.

Двомісячне утримання тварин на ВФД призводить до розвитку дисліпідемії: зростання концентрації ТГ та ХС в сироватці крові експериментальних тварин (див. табл. 5.2), що, ймовірно, є наслідком порушення регуляції процесів ліполізу та ліпогенезу інсуліном за умов синдрому інсулінорезистентності. В той час як застосування КТП сприяло поліпшенню ліпідного обміну, порушеного за наявності метаболічного синдрому. Препарат нормалізував концентрацію ТГ, а також знижував концентрацію ХС в сироватці крові на 27 % у порівнянні з тваринами із МС та на 16 % (див. табл. 5.2) відносно інтактного контролю, що свідчить про його гіполіпідемічні властивості.

Відомо, що головні компоненти метаболічного синдрому, зокрема ІР та вісцеральне ожиріння, асоційовані зі змінами в метаболізмі мітохондрій, що призводить до подальшого посилення ІР, підвищення утворення активних радикалів, взаємодія яких з синтазою оксиду нітрогену зменшує біодоступність NO. Таким чином, застосування антиоксидантів та відновлення мітохондріальної функції опосередковано сприяє нормалізації роботи NO-синтази [242].

В результаті проведених досліджень встановлено, що ВФД призводить до зниження концентрації стабільних метаболітів NO в сироватці крові щурів із метаболічним синдромом, в той час як застосування КТП призводило до підвищення даного показника на 23,7 % (див. табл. 5.3) порівняно з групою, що отримувала розчинник.

Існують дані про те, що мітохондріальна дисфункція розвивається внаслідок надмірного надходження енергетичних субстратів, наприклад, фруктози, на тлі низької фізичної активності й проявляється в зниженні біогенезу мітохондрій, їх окислювальної ємності та посиленні генерації АФК. Останні, в свою чергу, сприяють погіршенню функції мітохондрій, пошкодженню біомолекул, епігенетичних модифікацій та синтезу мутантних

білків, що спричиняє порушення основних метаболічних шляхів, в тому числі роботу ЕТЛ. Окрім того, оксидативний стрес індукує ІР та активує прозапальні шляхи, що посилює розвиток атеросклерозу і кардіоміопатії [59, 217, 243, 244, 245, 246]. Таким чином, відновлення функції та окисно-відновлювального балансу мітохондрій, може бути одним з напрямків покращення чутливості до інсуліну та корекції порушень, асоційованих з метаболічним синдромом.

В результаті проведеного дослідження було встановлено зменшення швидкості АДФ-стимульованого дихання (V_3) у присутності глутамату та малату та зниження коефіцієнта дихального контролю в мітохондріях тварин, які отримували ВФД, у порівнянні інтактним контролем (див. табл. 5.4). Це свідчить про порушення регуляції респіраторного ланцюга енергетичним станом клітин, що виражається у роз'єднанні дихання та окисного фосфорилування. Останнє є одним із основних маркерів мітохондріальної дисфункції.

Однією з причин розвитку мітохондріальної дисфункції за умов МС та ЦД може бути зниження в клітинах вмісту таурину внаслідок накопичення в них ліпідів, вуглеводів та поліолів, що спричиняє порушення осморегуляції та зниження буферної ємності мітохондріального матриксу [158].

В той же час у тварин, які отримували КТП, спостерігали підвищення дихального контролю за рахунок нормалізації швидкості АДФ-стимульованого дихання мітохондрій серця у метаболічному стані 3 в присутності малату та глутамату у порівнянні з тваринами, які отримували розчинник (див. табл. 5.4). Отримані результати можуть свідчити про поліпшення процесів окисного фосфорилування на рівні комплексу I ЕТЛ під впливом даного препарату та добре узгоджуються з гіпотезою щодо ролі таурину в збереженні буферної ємності мітохондріального матриксу.

Визначення показників оксидантного статусу в мітохондріях серця щурів із метаболічним синдромом, які отримували ВФД, показало

підвищення рівня ТБК-активних продуктів, зниження рівня відновленого глутатіону та активності Mn-SOD (див. табл. 5.6).

В результаті застосування КТП виявлено пригнічення процесів перекисного окиснення ліпідів в мітохондріях серця, що підтверджується зниженням ТБК-активних продуктів на 26 % та підвищенням вмісту відновленого глутатіону на 75 % (див. табл. 5.6) відносно показників групи тварин із метаболічним синдромом. Останнє добре узгоджується з даними інших досліджень, в яких було показано, що таурин сприяє збереженню пула відновленого глутатіону в гомогенаті серця тварин, яких утримували на ВФД, завдяки запобіганню зниження активності глутатіонредуктази [159]. В той же час введення КТП суттєво не впливало на активність Mn-SOD в мітохондріях серця щурів (див. табл. 5.6).

Зниження ПОЛ під впливом таурину може пояснюватися його цукрознижуючими властивостями, а також попередженням гіперінсулінемії. Іншим механізмом антиоксидантної дії таурину є пригнічення формування АФК або зв'язування іонів Fe в якості хелатора. Не зважаючи на те, що таурин не є прямим скевенджером АФК, існують повідомлення щодо утворення комплексів між його сульфоновною групою та вільними іонами металів, Fe^{2+} , Cu^{+} або окислювальними металопротеїнами. Протекторний ефект таурину також проявляється в попередженні зниження активності ГПО і виснаження пула ВГ [159].

Також показано, що застосування екстрактів плодів глоду поліпшувало антиоксидантний статус та зменшувало ПОЛ в мітохондріях серця щурів, індуковане ізопротеренолом [101].

Мітохондріальна дисфункція та зниження біогенезу мітохондрій пов'язані з порушенням роботи міокарда та прогресуванням кардіоміопатії за умов метаболічного синдрому, оскільки мітохондрії складають 20-30 % об'єму кардіоміоцитів та відіграють фундаментальну роль в їх життєдіяльності [231].

Встановлено, що дієта з високим глікемічним індексом, зокрема фруктозна, асоційована з підвищенням ризику розвитку ішемічної хвороби серця, гіпертрофії лівого шлуночка та дисфункції серцевого м'язу. Існують повідомлення, що на моделях тварин, що вживали ВФД, відтворюють порушення обміну речовин аналогічні людям із МС [232].

Експериментальні та клінічні дослідження свідчать про кардіо- та вазопротекторний ефект таурину, який може реалізовуватися за рахунок таких механізмів, як: зниження концентрації вільного Ca^{2+} в цитозолі внаслідок змін активності ключових Ca^{2+} -транспортерів та модуляції Ca^{2+} -чутливості міофібрил [233]; попередження оксидативного руйнування мембран кардіоміоцитів [234]; стабілізації клітинних мембран за рахунок взаємодії з мембранними білками та попередження супресії мембранозв'язаної Na^+/K^+ -АТФ-ази [235]; запобігання апоптозу кардіоміоцитів, індукованого ішемією, завдяки гальмуванню араf-1-/каспаза-9-апоптосом [45]; інгібування ПК С та мітоген-асоційованої протеїнкінази і блокування розвитку гіпертрофії міокарда, стимульованої ангіотензином II [236]; підвищення вмісту аденілових нуклеотидів, нікотинамідних кофакторів, поліпшення ліпідного профілю [237] та осморегуляції [234].

Наявність у таурину широкого спектру дії на серцево-судинну систему свідчить про можливий позитивний фармакологічний ефект КТП на функціональний стан міокарда за умов МС, індукованого ВФД.

В результаті проведених досліджень було виявлено, що в щурів із метаболічним синдромом, які отримували ВФД, збільшується ЧСС та скорочується інтервал R-R' відносно показників інтактного контролю (див. табл. 5.7), що може свідчити про розвиток синусової тахікардії – першої ознаки серцевої недостатності [160].

Виявлено, що використання КТП призводить до пролонгації інтервалу R-R' і нормалізації ЧСС (див. табл. 5.7), що свідчить про позитивний ефект препарату на відновлення нормального серцевого ритму та попередження

розвитку синусової тахікардії. Одним із можливих механізмів нормалізації серцевого ритму при застосуванні КТП вважають кардіотонічну дію плодів глоду та глюкорамнозиду кропиви собачої [21]. Отримані дані узгоджуються з результатами клінічних досліджень щодо зменшення ЧСС та зниження систолічного й діастолічного тиску через 3 тижні лікування КТП хворих із ішемічною хворобою серця та м'якою артеріальною гіпертензією [238]. Попередження прояву тахікардії та підвищення скорочувальної активності міокарда під впливом КТП також спостерігали у щурів із експериментальною коарктацією аорти [239].

У щурів, які отримували ВФД, встановлено скорочення інтервалу Q-T та корегованого інтервалу QTc, зменшення діастолічного інтервалу T-P та підвищення показника QT/TP відносно показників інтактного контролю (див. табл. 5.8).

Відомо, що КТП поліпшує скорочуванність міокарда (підвищує максимальну швидкість та індекси скорочення й релаксації) у хворих із серцево-судинною недостатністю [234]. Введення КТП щурам із експериментальною пітуїтрин-ізопреналіновою кардіоміопатією сприяло підвищенню енергетичного обміну в міокарді й показників його скорочення та попереджувало загибель тварин [21].

В результаті введення КТП експериментальним щурам спостерігалася нормалізація тривалості інтервалів Q-T та QTc, пролонгація інтервалу T-P та зниження співвідношення QT/TP (див. табл. 5.8), що вказує на відновлення скорочувальної активності міокарда. Літературні дані також свідчать про подовження тривалості інтервалу Q-T під впливом лавандуліфоліозиду, одного з компонентів кропиви собачої [21].

В експериментальних тварин із метаболічним синдромом спостерігали подовження інтервалу P-Q, збільшення амплітуди зубця Т у другому та третьому відведеннях (див. табл. 5.9, табл. 5.10). Окрім того, у 50 % щурів із метаболічним синдромом на ЕКГ спостерігали появу двох- або трьох-фазних зубців Т, що може бути однією з ознак синдрому дифузних змін міокарда.

Застосування КТП запобігало скороченню інтервалу P-Q, сприяло нормалізації атріовентрикулярної провідності у експериментальних щурів, а також зниженню амплітуди зубця Т, запобігає появі двох - або трьох-фазних зубців Т (див. табл. 5.9, табл. 5.10).

Відомо, що використання КТП у тварин із експериментальною ішемією поліпшує кровопостачання та функціональний стан вогнища ішемії, підвищує об'ємну швидкість коронарного кровотоку, постачання міокарда киснем, концентрацію кисню в крові, збільшує коронарний резерв [240].

В експериментальних тварин, які отримували ВФД, спостерігалось збільшення у другому та третьому відведенні амплітуди зубця Р (див. табл. 5.11), який відображає процеси збудження передсердь, а також скорочення тривалості зубця Р у другому відведенні, що може свідчити про прискорення деполяризації передсердь, тобто зростання швидкості внутрішньосерцевого проведення.

Введення КТП запобігало зростанню амплітуди зубця Р у другому та третьому відведенні, що свідчить про позитивний вплив препарату на процеси деполяризації передсердь, які порушуються за умов хронічного навантаження фруктозою (див. табл. 5.11).

Для кардіотропного ефекту *Leonurus cardiaca* важливими є антиоксидантна дія, вплив на кальцієві канали L-типу, ток калію та гіперполяризаційний тік, негативний хронотропний ефект [21]. Щодо захисної дії компонентів екстракту *Crataegus oxycantha* відносно серцево-судинної системи, відомо, що вони посилюють коронарний кровообіг, виявляють негативний хронотропний та позитивний іотропний ефекти, індукують ендотелій-залежну індукцію NO, інгібують ангіотензин-перетворюючий фермент та адгезію тромбоцитів, мають антиоксидантні та протизапальні властивості, попереджують окиснення ЛПНЩ та знижують рівень загального ХС в сироватці крові [21].

Також показано, що екстракт глоду WS 1442 збільшує силу серцевих скорочень, інгібуючи Na^+ -помпу; підвищує пік внутрішньоклітинного

кальцію в міокарді у пацієнтів із застійною серцевою недостатністю; а також, ймовірно, діє на Na^+/K^+ -АТФазу та посилює ефективність транспорту кальцію в кардіоміоцитах [101]. На моделях ішемії/реперфузії продемонстровано, що WS 1442 поліпшує контрактильну функцію, зменшує розмір інфаркту міокарда, виявляє протиаритмічний ефект, а також попереджує ізопротеренол-індуковане зниження активності антиоксидантних ферментів [101].

Таким чином, в результаті проведених досліджень було встановлено, що застосування комбінованого таурин-вмісного препарату за умов метаболічного синдрому, індукованого високофруктозною дієтою, сприяє поліпшенню толерантності до вуглеводів та чутливості до інсуліну, зниженню абдомінального ожиріння, гіпертригліцеридемії, гіперхолестеринемії та нормалізації продукції оксиду нітрогена; відновлює біоенергетичні процеси в серцевому м'язі, посилюючи респіраторний контроль та запобігаючи гіперпродукції АФК в мітохондріях кардіоміоцитів; відновленню нормального серцевого ритму та атріовентрикулярної провідності, поліпшенню систолічної і діастолічної активності серця, гальмуванню розвитку синусової тахікардії й ішемічних процесів в міокарді.

Відомо, що метаболічним синдром є станом предіабету, а цукровий діабет – прогресуюче захворювання, яке з плином часу призводить до дисфункції β -клітин та дефекту секреції і/або дії інсуліну [178]. ЦД 1-го типу є станом абсолютної відсутності інсуліну, що впливає на метаболізм вуглеводів, жирів та білків. Приблизно у 15 % хворих на ЦД 1-го типу розвивається діабетична нефропатія [248].

Відомо, що гіперглікемія є однією з ключових терапевтичних мішеней за умов як ЦД 1-го так і 2-го типу, тому ретельний глікемічний контроль знижує ризик розвитку мікросудинних ускладнень, в тому числі і ДН [249].

В результаті проведеного експерименту було встановлено наявність базальної гіперглікемії в усіх групах діабетичних тварин, в той час як застосування КТП в дозах 100 та 300 мг/кг маси тіла протягом двох місяців

призводило до достовірного зниження базальної гіперглікемії відповідно на 30 % та 50 % (див. розд. 6, табл. 6.1). Аналогічні дані представлені в дослідженнях на білих кролях з алоксановим діабетом, у яких спостерігали поліпшення глікемічного контролю під впливом таурину [250], а також на моделі щурів із ЦД 2-го типу терапія таурином сприяла зниженню глікемії натще. Таурин може діяти як регулятор секреції інсуліну і, таким чином, знижуючи базальний рівень глюкози, пригнічує розвиток нефропатії [95].

Стійка гіперглікемія призводить до неферментативного глікозилювання макромолекул, зокрема таких білків як гемоглобін, протеїни мембран еритроцитів, інсулін, альбумін, імуноглобуліни G та M, колаген, гістони, а також ліпопротеїнів, в наслідок чого змінюється їх структура та функція. Патологічні зміни за умов ДН є результатом підвищення проникності гломерулярної базальної мембрани для глікозильованих білків [248]. Фруктозамін є більш раннім клінічним маркером глікемічного контролю, ніж глікозильований гемоглобін.

Порушення глюкозного гомеостазу підтверджувалось підвищенням концентрації фруктозаміна в сироватці крові щурів із діабетом. Лише підвищення дози препарату до 300 мг на кг маси тіла сприяло зниженню даного показника на 23 % (див. табл. 6.1).

Існують повідомлення, що таурин реагує з альдегідними групами в більшій мірі, ніж інші амінокислоти, та інгібує утворення AGEs *in vitro*, а також застосування таурину попереджає посилення глікозилювання білків плазми, таких як фруктозамін, гемоглобін, у щурів, які вживали ВФД [251].

Встановлено, що через два місяці після індукції діабету у тварин значно підвищується добовий діурез (див. табл. 6.3), що обумовлено зниженням реабсорбції води у ниркових каналцях за умов підвищеного осмотичного тиску, який створює висока концентрація глюкози у первинній сечі. Останнє підтверджується виразною глюкозурією (див. табл. 6.3), яку спостерігали в даній групі тварин.

Застосування КТП як в дозі 100, так і 300 мг на кг маси тіла призводило до зниження добового діурезу на 15-30 % та концентрації глюкози в сечі на 42 % (див. табл. 6.3), що корелює зі зниженням рівня глікемії під його впливом.

Одним з діагностичних критеріїв ДН є мікроальбумінурія [252]. В результаті дослідження у тварин із діабетом встановлено посилення екскреції альбуміну в 3,4 разів та зниження кліренсу креатиніну в 2,8 разів (див. табл. 6.4). Слід зазначити, що застосування КТП в обох дозах, запобігає розвитку функціональної неповноцінності нирок, про що свідчила нормалізація кліренсу креатиніну та швидкості клубочкової фільтрації у діабетичних тварин. Отримані результати узгоджуються з даними інших досліджень, в яких відмічали запобігання клубочкової гіпертрофії, зниження проявів гломерулосклерозу та протеїнурії при застосуванні таурину у щурів із стрептозотоциновим діабетом [253].

В дослідженнях *S. Niho et al.* також показано, що застосування таурину пригнічувало розвиток таких маркерів ДН, як протеїнурія та розростання мезангіального матриксу. Протекторна дія таурину проявлялася незалежно від впливу на глюкозний гомеостаз, а була пов'язана із функцією вказаної амінокислоти як осмоліту, антиоксиданту, модулятора Ca^{2+} та нейротрансмітеру. Слід зазначити, що він поліпшує патологічні зміни за умов прогресування ниркового фіброзу з віком завдяки своїм антиоксидантним властивостям [254].

Підвищення концентрації глюкози натще та посилення утворення AGEs є одними з ключових медіаторів розвитку діабетичної нефропатії, оскільки посилюють розвиток оксидативного стресу, підвищують проникність судинних мембран для протеїнів та активує синтез білків позаклітинного матриксу та виявляють інші токсичні ефекти щодо ниркових клітин. Таким чином, застосування антиоксидантів, зокрема таурину, сприяє відновленню функції нирок. Протекторна дія таурину за умов діабетичної нефропатії також пов'язана з його антиглікемічними властивостями і роллю в регуляції

клітинного росту, гомеостазу, стабілізації білків, мобілізації Ca^{2+} , імунітету та апоптозу [255, 256].

В результаті проведених досліджень було встановлено розвиток оксидативного стресу, підтвердженням чому було посилення ПОЛ в нирках діабетичних тварин та сироватці крові. Підвищення рівня дієнових кон'югатів в гомогенаті нирок та сироватці крові, а також МДА в нирках тварин із діабетичною нефропатією свідчить про інтенсифікацію ПОЛ (див. табл. 6.5, табл. 6.6).

Слід зазначити, що визначення про/антиоксидантного статусу в нирках діабетичних тварин супроводжувалося не лише розвитком оксидативного стресу, про що свідчить підвищення вмісту продуктів перекисного окиснення ліпідів, але й змінами іншої ланки – системи антиоксидантного захисту. У тварин із діабетом встановлено зниження рівня відновленого глутатіону та підвищення активності супероксиддисмутази та глутатіонпероксидази (див. табл. 6.5) в порівнянні з рівнем контрольних щурів. Останнє, насамперед, може бути обумовлено посиленням експресії цих ферментів внаслідок активації редокс-чутливих сигнальних шляхів [257].

Антиоксидантний ефект КТП проявлявся в зниженні рівня МДА в 1,8 разів та дієнових кон'югатів на 32-46 % (див. табл. 6.5) в нирках та на 38-60 % (див. табл. 6.6) в сироватці крові у порівнянні з групою діабетичних тварин. Слід зазначити, що антиоксидантний ефект КТП в дозі 300 мг/кг був більш виразним, ніж у дозі 100 мг/кг, що корелює з дозозалежним впливом препарату на концентрацію фруктозаміну.

Встановлено стимулюючий вплив препарату на систему антиоксидантного захисту. Виявлено, що рівень відновленого глутатіону в нирках тварин, які отримували КТП в обох дозах, значно перевищував показники не тільки діабетичного в 2,6-2,8 разів, але й інтактного контролю на 50 % (див. табл. 6.5). Проте, активність одного з ключових антиоксидантних ферментів – СОД під впливом КТП знижувалась в 2,5-2,6 разів відносно діабетичного контролю, що може бути результатом

зниження стимулюючої дії АФК. В той час як активність глутатіонпероксидази залишалась підвищеною незалежно від введення препарату, що може бути обумовлено високою концентрацією відновленого глутатіону, яку спостерігали при його застосуванні.

Відомо, що NO виконує не тільки протекторну дію, але й може ініціювати утворення активних форм азоту, наслідком чого є пошкодження біомолекул з порушенням їх функцій [258, 259].

В результаті визначення рівня стабільних метаболітів оксиду нітрогену було встановлено їх підвищення (див. табл. 6.7) в сироватці крові та сечі діабетичних тварин порівнянню з групою інтактного контролю. В групі тварин, що отримували КТП в обох дозах спостерігали нормалізацію рівня метаболітів оксиду нітрогену в сироватці крові та сечі (див. табл. 6.7), що, імовірно, обумовлено його здатністю пригнічувати розвиток оксидативного стресу за умов гіперглікемії.

Існують дані щодо протекторного ефекту екстракту *Crataegus*, який поліпшує ендотелій-залежну релаксацію та вазоконстрикцію за умов стрептозотоцинового діабету, ймовірно, завдяки зниженню експресії iNOS в аорті та рівня ФНП- α і ІЛ-6 та попередження ліпопероксидації [101].

Характерною морфологічною ознакою ДН є збільшення мезангіального матриксу та товщини гломерулярної базальної мембрани, що являється результатом змін в її біохімічному складі [157].

Дослідження на моделях C57BL/6 мишей з делецією гену тауринового транспортеру виявили значну роль дефіциту таурину в патогенезі діабетичної нефропатії та кінцевої стадії ниркової недостатності [261].

В результаті гістологічних досліджень було показано, що товщина гломерулярної базальної мембрани в групі діабетичних щурів збільшилась майже вдвічі у порівнянні з інтактними тваринами. В групах, які отримували КТП в обох дозах, даний показник залишався на рівні контролю.

Отримані дані узгоджуються з результатами досліджень, в яких застосування таурину пригнічувало розвиток ДН у щурів із ЦД 2-го типу

завдяки зниженню співвідношення альбумін/креатинін і потовщення гломерулярної базальної мембрани, а зниження продукції АФК попереджує розвиток діабетичної хвороби нирок [95].

Літературні дані свідчать про захисну роль таурину за умов розвитку чотирьох різних форм захворювань нирок: гломерулонефриту, діабетичної нефропатії, хронічної та гострої ниркової хвороби. Одним з можливих механізмів його протекторної дії є вплив на продукцію сорбітолу [77].

На основі проведених досліджень можна зробити висновок, що застосування таурин-вмісного препарату протягом двох місяців гальмує розвиток діабетичної нефропатії за рахунок зниження базальної гіперглікемії, глюкозурії, нормалізації кліренсу креатиніну та швидкості клубочкової фільтрації, ослаблення оксидативного та нітрозивного стресу в нирках, зменшення виразності мікроальбумінурії та морфоструктурних змін в нирках діабетичних тварин.

Слід зазначити, що доза 100 мг/кг маси тіла була достатньою для прояву більшості вищезазначених фармакологічних ефектів таурин-вмісного препарату.

Таким чином, отримані результати обґрунтовують перспективність застосування комбінованого таурин-вмісного препарату для запобігання або ослаблення серцево-судинної патології за умов метаболічного синдрому різного генезу та гальмування розвитку діабетичної нефропатії

ВИСНОВКИ

У дисертації наведене теоретичне узагальнення та нове вирішення наукової задачі, що полягає в експериментальному обґрунтуванні перспективності застосування комбінованого таурин-вмісного препарату для зниження кардіометаболічного ризику за умов синдрому інсулінорезистентності різного генезу та гальмування розвитку діабетичної нефропатії.

1. Застосування комбінованого таурин-вмісного препарату у самців щурів із метаболічним синдромом, індукованим високожировою дієтою, гальмує такі прояви метаболічного синдрому, як: інсулінорезистентність, інтолерантність до вуглеводів, абдомінальне ожиріння, оксидативний стрес та протромбічний стан.

2. Використання комбінованого таурин-вмісного препарату у самиць-щурів із метаболічним синдромом на тлі гіпоестрогенії призводить до поліпшення толерантності до вуглеводів та зниження інсулінорезистентності, вісцерального ожиріння, оксидативного стресу, підвищення ендогенної продукції оксиду нітрогену та поліпшення гемореологічних властивостей крові.

3. Введення комбінованого таурин-вмісного препарату щурам із метаболічним синдромом, індукованим високофруктозною дієтою, сприяє поліпшенню толерантності до вуглеводів, чутливості до інсуліну, зниженню абдомінального ожиріння, гіпертригліцеридемії, гіперхолестеринемії, відновленню продукції оксиду нітрогену та пригніченню оксидативного стресу.

4. Комбінований таурин-вмісний препарат відновлює біоенергетичні процеси в мітохондріях кардіоміоцитів, нормалізуючи швидкість АДФ-стимульованого дихання в присутності НАД-залежного та знижуючи гіперпродукцію АФК у щурів із метаболічним синдромом.

5. Використання комбінованого таурин-вмісного препарату у щурів із метаболічним синдромом призводить до поліпшення функціонального

стану серцево-судинної системи за рахунок відновлення нормального серцевого ритму та атріовентрикулярної провідності, позитивного впливу на систолічну і діастолічну активність серця та гальмування розвитку синусової тахікардії та ішемічних проявів у міокарді.

6. Застосування комбінованого таурин-вмісного препарату у щурів із стрептозотоциновим діабетом запобігає розвитку діабетичної нефропатії за рахунок зниження базальної гіперглікемії, глюкозурії, нормалізації кліренсу креатиніну та швидкості клубочкової фільтрації, ослаблення нітрозивного та оксидативного стресу в нирках, гальмування виразності мікроальбумінурії та морфоструктурних змін у нирках.

7. Виявлений протективний ефект комбінованого таурин-вмісного препарату щодо основних чинників кардіометаболічного ризику та діабетичної нефропатії свідчить про можливість розширення спектра його фармакологічного застосування.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. IDF Diabetes Atlas [Electronic resource] / International Diabetes Federation. – 6th ed. – Brussels, Belgium : [s. n.], 2015. – 144 p. – Access mode : <http://www.diabetesatlas.org/resources/2015-atlas.html>.
2. Residual macrovascular risk in 2013: what have we learned? [Text] / J. C. Fruchart, J. Davignon, M. P. Hermans [et al.] // Cardiovasc. Diabetol. – 2014. – Vol. 13, № 26. – 17 p.
3. Аналіз, пріоритети, шляхи виконання державної цільової програми «Цукровий діабет» на 2009-2013 роки [Текст] / М. Д. Тронько [та ін.] // Здоров'я України. – 2010. – № 2. – Access mode : <http://health-ua.com>.
4. Kaur, J. A comprehensive review on metabolic syndrome [Text] / J. Kaur // Cardiol. Res.Pract. – 2014. – Vol. 2014. – 21 p.
5. Дудник, С. Серцево-судинні захворювання в Україні: прогнози – невтішні [Електронний ресурс]. – Режим доступу : <http://www.vz.kiev.ua>.
6. The vascular endothelin system in obesity and type 2 diabetes: Pathophysiology and therapeutic implications [Text] / U. Campia, M. Tesaro, N. Daniele, C. Cardillo // Life Sci. – 2014. Access mode : <http://dx.doi.org>.
7. Reaven, G. M. The metabolic syndrome: time to get off the merry-go-round? [Text] / G. M. Reaven // J. Intern. Med. – 2011. – № 269. – С. 127-136.
8. Type 2 diabetes mellitus: From a metabolic disorder to an inflammatory condition [Text] / I. Hameed, S. R. Masoodi, S. A. Mir [et al.] // World J. Diabetes. – 2015. – Vol. 6, № 4. – P. 598-612.
9. The metabolic syndrome is a risk indicator of microvascular and macrovascular complications in diabetes, Results from Metascreen, a multicenter diabetes clinic-based survey [Text] / Metascreen Writing Committee // Diabetes Care. – 2006. – Vol. 29. – P. 2701-2708.
10. Grossman, E. Should we treat prehypertension in diabetes? What are the cons? [Text] / E. Grossman // Diabetes Care. – 2009. – Vol. 32, Suppl. 2. – P. 280-283.

11. Bansal, N. Prediabetes diagnosis and treatment: a review [Text] / N. Bansal // World J. Diabetes. – 2015. – Vol. 6, № 2. – P. 296-303.
12. Innes, K. E. Menopause, the metabolic syndrome, and mind-body therapies [Text] / K. E. Innes, T. K. Selfe, A. G. Taylor // Menopause. – 2008. – Vol. 15, № 5. – P. 1005-1013.
13. Ziaei, S. Correlation between hormonal statuses and metabolic syndrome in postmenopausal women [Text] / S. Ziaei, H. Mohseni // J. Family Reprod. Health. – 2013. – Vol. 7, № 2. – P. 63-66.
14. Impact of milk consumption on cardiometabolic risk in postmenopausal women with abdominal obesity [Text] / J. P. Drouin-Chartier, J. Gagnon, M. È. Labonté [et al.] // J. Nutr. – 2015. – Vol. 14, № 12. – P. 1-10.
15. The underlying mechanisms for development of hypertension in the metabolic syndrome [Text] / H. Yanai, Y. Tomono1, K. Ito [et al.] // J. Nutr. – 2008. – Vol. 7, № 10. – P. 1-6.
16. Wright, E. Oxidative stress in type 2 diabetes: the role of fasting and postprandial glycaemia [Text] / E. Wright, J. L. Scism-Bacon, L. C. Glass // Int. J. Clin. Pract. – 2006. – Vol. 60, № 3. – P. 308-314.
17. Brosnan, J. T. The sulfur-containing amino acids: an overview [Text] / J. T. Brosnan, M. E. Brosnan // J. Nutr. – 2006. – Vol. 136. – P. 1636-1640.
18. Hoffmann, E. K. Physiology of Cell Volume Regulation in Vertebrates [Text] / E. K. Hoffmann, I. H. Lambert, S. F. Pedersen // Physiol. Rev. – 2009. – Vol. 89. – P. 232.
19. Marcinkiewicz, J. Taurine and inflammatory diseases [Text] / J. Marcinkiewicz, E. Kontny // Amino Acids. – 2014. – Vol. 46. – P. 7-20.
20. КРАТАЛ. Клиническая эффективность препарата при амбулаторном лечении больных с нейроциркуляторной дистонией [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <http://www.apteka.ua/article/13239>.

21. Бабушкина, А. В. Комбинированный препарат Кратал в терапии сердечно-сосудистых заболеваний [Текст] / А. В. Бабушкина // Укр. мед. часопис. – Т. 4, № 78. – 2010. – С. 60-66.
22. Антидіабетичні властивості комбінованого препарату Кратал [Текст] / Н. І. Горбенко, Т. С. Звягіна, С. П. Олейнікова, А. С. Шаламай // Здоров'я України. – Т. 379, № 6. – 2016. – 4 с.
23. Sorriento, D. Targeting mitochondria as therapeutic strategy for metabolic disorders [Text] / D. Sorriento, A. V. Pascale, R. Finelli // Scientific World J. – 2014. – Vol. 2014. – 9 p.
24. Taurine's health influence on Japanese high school girls [Text] / M. Ishikawa, S. Arai, M. Takano [et al.] // J. Biomed. Sci. – 2010. – Vol. 17, Suppl. 1. – P. 47.
25. Maric, C. Obesity, metabolic syndrome and diabetic nephropathy [Text] / C. Maric, J. E. Hall // Contrib. Nephrol. – 2011. – Vol. 170. – P. 28-35.
26. Mima, A. Inflammation and oxidative stress in diabetic nephropathy: new insights on its inhibition as new therapeutic targets [Text] / A. Mima // J. Diab. Res. – 2013. – Vol. 2013. – 8 p.
27. Preventive effect of taurine on experimental type II diabetic nephropathy [Text] / S. Lin, J. Yang, G. Wu [et al.] // J. Biomed. Sci. – 2010. – Vol. 17, Suppl. 1. – P. 46.
28. Hutcheson, R. The metabolic syndrome, oxidative stress, environment, and cardiovascular disease: the great exploration [Text] / R. Hutcheson, P. Rocic // Exp. Diab. Res. – 2012. – Vol. 2012. – 13 p.
29. Golbidi S. Exercise in the Metabolic Syndrome [Text] / S. Golbidi, A. Mesdaghinia, I. Laher // Oxid. Med. Cell Longev. – 2012. – Vol. 2012. – 13 p.
30. Preventing and managing cardiometabolic risk: the logic for intervention [Text] / M. A. Pereira, T. E. Kottke, C. J. Patrick [et al.] // Int. J. Environ. Res. Public Health. – 2009. – Vol. 6, № 10. – P. 2568-2584.

31. Appt, S. E. Reproductive aging and risk for chronic disease: insights from studies of nonhuman primates [Text] / S. E. Appt, K. F. Ethun // *Maturitas*. – 2010. – Vol. 67, № 1. – P. 7-14.
32. Ren, J. Cardiac health in women with metabolic syndrome: clinical aspects and pathophysiology [Text] / J. Ren, R. O. Kelley // *Obes.* – 2009. – Vol. 17. – P. 1114-1123.
33. Matsuzawa, Y. The concept of metabolic syndrome: contribution of visceral fat accumulation and its molecular mechanism [Text] / Y. Matsuzawa, T. Funahashi, T. Nakamura // *J. Atheroscler. Thromb.* – 2011. – vol. 18. – P. 629-639.
34. Insulin resistance, metabolic stress, and atherosclerosis [Text] / M. Pansuria, H. Xi, L. Xiao-Feng, Y. H. Wang // *Front Biosci.* – 2012. – Vol. 4. – P. 916-931.
35. Lizcano, F. Estrogen deficiency and the origin of obesity during menopause [Text] / F. Lizcano, G. Guzman // *Bio. Med. Res. Intern.* – 2014. – Vol. 2014. – 11 p.
36. Maternal obesity, inflammation, and developmental programming [Text] / S. A. Segovia, M. H. Vickers, C. Gray, C. M. Reynolds // *Bio. Med. Res. Intern.* – 2014. – Vol. 2014. – 14 p.
37. Suganami, T. Adipose tissue macrophages: their role in adipose tissue remodeling [Text] / T. Suganami, Y. Ogawa // *J. Leukoc. Biol.* – 2010. – Vol. 88. – P. 33-39.
38. Mattu, H. S. Role of adipokines in cardiovascular disease [Text] / H. S. Mattu, H. S. Randeva // *J. Endocrinol.* – 2013. – Vol. 216. – P. 17-36.
39. Guo, S. Insulin signaling, resistance, and the metabolic syndrome: insights from mouse models to disease mechanisms [Text] / S. Guo // *J. Endocrinol.* – 2014. – Vol. 220, № 2. – P. 1-23.
40. Obesity-related metabolic syndrome: mechanisms of sympathetic overactivity [Text] / M. P. Canale, S. Manca di Villahermosa, G. Martino // *Intern. J. Endocrinol.* – 2013. – Vol. 2013. – 12 p.

41. Nashar, K. Relationship between chronic kidney disease and metabolic syndrome: current perspectives [Text] / K. Nashar, B. Megan // *Diabetes Metab. Syndr. Obes.* – 2014. – Vol. 7. – P. 421-435.
42. Maeda, N. Cardiovascular-metabolic impact of adiponectin and aquaporin [Text] / N. Maeda, T. Funahashi, I. Shimomura // *Endocr. J.* – 2013. – Vol. 60, № 3. – P. 251-259.
43. Denis, G. V. 'Metabolically healthy obesity': origins and implications [Text] / G. V. Denis, M. S. Obin // *Mol. Aspects Med.* – 2013. – Vol. 34, № 1. – P. 59-70.
44. Role of ceramide in diabetes mellitus: evidence and mechanisms [Text] / S. Galadari, A. Rahman, S. Pallichankandy [et al.] // *Lipids Health Dis.* – 2013. – Vol. 12, № 98. – P. 1-16.
45. Hassan, R. H. Defect of insulin signal in peripheral tissues: important role of ceramide [Text] / R. H. Hassan, O. Bourron, E. Hajduch // *World J. Diabetes.* – 2014. – Vol. 5, № 3. – P. 244-257.
46. Bunner, A. E. Knockout mouse models of insulin signaling: relevance past and future [Text] / A. E. Bunner, P. C. Chandrasekera, N. D. Barnard // *World J. Diabetes.* – 2014. – Vol. 5, № 2. – P. 146-159.
47. Molecular targets related to inflammation and insulin resistance and potential interventions [Text] / S. M. Hirabara, R. Gorjao, M. A. Vinolo [et al.] // *J. Biomed. Biotechnol.* – 2012. – Vol. 2012. – 16 p.
48. Aroor, A. R. Insulin resistance and heart failure: molecular mechanisms [Text] / A. R. Aroor, C. H. Mandavia, J. R. Sowers // *Heart Fail Clin.* – 2012. – Vol. 8, № 4. – P. 609-617.
49. Free fatty acid-induced muscle insulin resistance and glucose uptake dysfunction: evidence for PKC activation and oxidative stress-activated signaling pathways [Text] / R. Ragheb, G. Shanab, A. M. Medhat [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. commun.* – 2009. – Vol. 389, № 2. – P. 211-216.
50. Chronic administration of palmitoleic acid reduces insulin resistance and hepatic lipid accumulation in KK-A^y mice with genetic type 2 diabetes [Text] /

Z. Hang, H. Miyahara, A. H. Yang [et al.] // *Lipids Health Dis.* – 2011. – Vol. 10. – P. 120.

51. Sabio, G. cJun NH-terminal kinase 1 (JNK1): roles in metabolic regulation of insulin resistance [Text] / G. Sabio, R. J. Davis // *Trends Biochem. Sci.* – 2010. – Vol. 35, № 9. – P. 490-496.

52. Antioxidant and antiinflammatory activities of berberine in the treatment of diabetes mellitus [Text] / Z. Li, Y. Geng, J. Jiang, W. Kong // *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* – 2014. – Vol. 2014. – 12 p.

53. Sabio, G. cJun NH-terminal kinase 1 (JNK1): roles in metabolic regulation of insulin resistance [Text] / G. Sabio, R. J. Davis // *Trends Biochem. Sci.* – 2010. – Vol. 35, № 9. – P. 490-496.

54. Oxidative stress and metabolic pathologies: from an adipocentric point of view [Text] / S. L. Lay, G. Simard, M. C. Martinez, R. Andriantsitohaina // *Oxid. Med. Cell. Longev.* – 2014. – Vol. 2014. – 18 p.

55. Mitochondrial H₂O₂ emission and cellular redox state link excess fat intake to insulin resistance in both rodents and humans [Text] / E. J. Anderson, M. E. Lustig, K. E. Boyle [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 2009. – Vol. 119. – P. 573-581.

56. Increased nitroxidative stress promotes mitochondrial dysfunction in alcoholic and nonalcoholic fatty liver disease [Text] / B. Song, M. A. Abdelmegeed, L. E. Henderson [et al.] // *Oxid. Med. Cell. Longev.* – 2013. – Vol. 2013. – 14 p.

57. Retinal redox stress and remodeling in cardiometabolic syndrome and diabetes [Text] / Y. Yang, M. Hayden, S. Sowers [et al.] // *Oxid. Med. Cell. Longev.* – 2010. – Vol. 3, № 6. – P. 392-403.

58. Reactive oxygen species, reactive nitrogen species and antioxidants in etiopathogenesis of diabetes mellitus type-2 [Text] / P. P. Singh, F. Mahadi, A. Roy, P. Sharma // *Indian J. Clin. Biochem.* – 2009. – Vol. 24, № 4. – P. 324-342.

59. Giacco, F. Oxidative stress and diabetic complications [Text] / F. Giacco, M. Brownlee // *Circ. Res.* – 2010. – Vol. 107, № 9. – P. 1058-1070.
60. Advanced glycation end products and diabetic complications [Text] / V. P. Singh, A. Bali, N. Singh, A. S. Jaggi // *Korean J. Physiol. Pharmacol.* – 2014. – Vol. 18. – P. 1-14.
61. Stirban, A. Vascular effects of advanced glycation endproducts: clinical effects and molecular mechanisms [Text] / A. Stirban, T. Gawlowski, M. Roden // *Molec. Metab.* – 2014. – Vol. 3. – P. 94-108.
62. Yan, L. Pathogenesis of chronic hyperglycemia: from reductive stress to oxidative stress [Text] / L. Yan // *J. Diab. Res.* – 2014. – Vol. 2014. – 11 p.
63. Wu, Y. Oxidative stress: implications for the development of diabetic retinopathy and antioxidant therapeutic perspectives [Text] / Y. Wu, L. Tang, B. Chen // *Oxid. Med. Cell Longev.* – 2014. – Vol. 2014. – 12 p.
64. Pollock, J. S. Endothelin, nitric oxide, and reactive oxygen species in diabetic kidney disease [Text] / J. S. Pollock, D. M. Pollock // *Contrib. Nephrol.* – 2011. – Vol. 172. – P. 149-159.
65. Ruan, X. Metabolic syndrome and chronic kidney disease [Text] / X. Ruan, Y. Guan // *J. Diabet.* – 2009. – Vol. 1. – P. 236-245.
66. New insight into the molecular drug target of diabetic nephropathy [Text] / V. Soetikno, W. Arozal, M. Louisa, R. Setiabudy // *Intern. J. Endocrinol.* – 2014. – Vol. 2014. – 9 p.
67. Prediabetes: a high-risk state for developing diabetes [Text] / A. G. Tabak, C. Herder, W. Rathmann [et al.] // *Lancet.* – 2012. – Vol. 379, № 9833. – P. 2279-2290.
68. Inflammation in diabetic kidney disease [Text] / P. M. Garcia-Garcia, M. A. Getino-Melian, V. Dominguez-Pimentel, J. F. Navarro-Gonzalez // *World J. Diabetes.* – 2014. – Vol. 5, № 4. – P. 431-443.
69. Dyslipoproteinemia and impairment of renal function in diabetic kidney disease: an analysis of animal studies, observational studies, and clinical

trials [Text] / C. Hung, J. Tsai, H. Tien Kuo [et al.] // Rev. Diabet. Stud. – 2013. – Vol. 10, № 2-3. – P. 110-120.

70. Christou, G. A. The role of adiponectin in renal physiology and development of albuminuria [Text] / G. A. Christou, D. N. Kiortsis // J. Endocrinol. – 2014. – Vol. 221. – P. 49-61.

71. Abebe, W. Role of taurine in the vasculature: an overview of experimental and human studies [Text] / W. Abebe, M. S. Mozaffari // Amer. J. Cardiovasc. Dis. – 2011. – Vol. 1, № 3. – P. 293-311.

72. Schaffer, S. W. Clinical significance of taurine [Text] / S. W. Schaffer, T. Ito, J. Azuma // Amino Acids. – 2014. – Vol. 46. – P. 1-5.

73. Development of a novel cysteine sulfinic acid decarboxylase knockout mouse: dietary taurine reduces neonatal mortality [Text] / E. Park, S. Y. Park, C. Dobkin, G. Schuller-Levis // Amino Acids. – 2014. – Vol. 2014. – 12 p.

74. Ueki, I. 3T3-L1 adipocytes and rat adipose tissue have a high capacity for taurine synthesis by the cysteine dioxygenase/cysteinesulfinic acid decarboxylase and cysteamine dioxygenase pathways [Text] / I. Ueki, M. H. Stipanuk // J. Nutr. – 2009. – Vol. 139. – P. 207-214.

75. Cardiac and skeletal muscle abnormality in taurine transporter-knockout mice [Text] / T. Ito, S. Oishi, M. Takai [et al.] // J. Biomed. Sci. – 2010. – Vol. 17, Suppl. 1. – P. 1-5.

76. Lord, R. S. Adult bile acid amino transferase deficiency [Text] / R. S. Lord, D. M. Tuttle, D. S. Cantor // Amer. J. Case Rep. – 2014. – Vol. 15. – P. 63-68.

77. Taurine and the renal system [Text] / R. W. Chesney, X. Han, A. B. Patters [et al.] // J. Biomed. Sci. – 2010. – Vol. 17, Suppl. 1. – P. 1-10.

78. Higgins J. P. Energy beverages: content and safety [Text] / J. P. Higgins, T. D. Tuttle, C. L. Higgins // Clin. Proc. – 2010. – Vol. 85, № 11. – P. 1033-1041.

79. Taurine induces proliferation of neural stem cells and synapse development in the developing mouse brain [Text] / M. C. Shivaraj, G. Marcy, G. Low [et al.] / PLOS ONE. – 2012. – Vol. 7, № 8. – P. 429-435.
80. Tissue depletion of taurine accelerates skeletal muscle senescence and leads to early death in mice [Text] / T. Ito, N. Yoshikawa, T. Inui [et al.] // PLOS ONE. – 2014. – Vol. 9, № 9. – P. 1-9.
81. Vitamin B12-dependent taurine synthesis regulates growth and bone mass [Text] / P. Roman-Garcia, I. Quiros-Gonzalez, L. Mottram [et al.] // J. Clin. Invest. – 2014. – Vol. 124, № 7. – P. 2988-3002.
82. Taurine improves the spatial learning memory ability impaired by sub-chronic manganese exposure [Text] / C. Lu, S. Tang, Z. Meng [et al.] // J. Biomed. Sci. – 2014. – Vol. 21. – P. 1-8.
83. Effects of amino acid supplementation on myocardial cell damage and cardiac function in diabetes [Text] / P. S. Tappia, J. Thliveris, Y. Xu [et al.] / Exp. Clin. Cardiol. – 2011. – Vol. 16, № 3. – P. 17-22.
84. Serum taurine and risk of coronary heart disease: a prospective, nested case-control study [Text] / O. P. Wyjck, K. L. Koenig, A. Zeleniuch-Jacquotte [et al.] // Eur. J. Nutr. – 2013. – Vol. 52, № 1. – P. 169-178.
85. Taurine detected using high-resolution magic angle spinning ¹H nuclear magnetic resonance: a potential indicator of early myocardial infarction [Text] / Y. Zhang, X. Gu, D. Xu [et al.] // Exp. Therap. Medicine. – 2013. – Vol. 5. – P. 683-682.
86. Metabolomic and lipidomic analysis of the heart of peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator 1- β knock out mice on a high fat diet [Text] / G. McCombie, G. Medina-Gomez, C. J. Lelliott [et al.] // Metabolites. – 2012. – Vol. 2. – P. 366-381.
87. Imae, M. Potential role of taurine in the prevention of diabetes and metabolic syndrome [Text] / M. Imae, T. Asano, S. Murakami // Amino Acids. – 2014. – Vol. 46. – P. 81-88.

88. Cardioprotective effects of cysteine alone or in combination with taurine in diabetes [Text] / P. S. Tappia, Y. Xu, D. Rodriguez-Leyva [et al.] / *Physiol. Res.* – 2013. – Vol. 62. – P. 171-178.
89. Atrophic cardiac remodeling induced by taurine deficiency in Wistar rats [Text] / M. C. Panasani, P. S. Azevedo, B. P. Rafacho [et al.] // *PLOSone*. – 2012. – Vol. 7, № 7. – P. 1-6.
90. Effect of taurine supplementation on exercise capacity of patients with heart failure [Text] / M. R. Beyranvand, M. K. Khalafi, V. D. Roshan [et al.] // *J. Cardiology*. – 2011. – Vol. 57. – P. 333-337.
91. Effect of taurine on acinar cell apoptosis and pancreatic fibrosis in dichloride-induced chronic pancreatitis [Text] / K. Matsushita, T. Mizushima, A. Shirahige [et al.] / *Acta Med.* – 2012. – Vol. 66, № 4. – P. 329-334.
92. Effect of taurine supplementation on hyperhomocysteinemia and markers of oxidative stress in high fructose diet induced insulin resistance [Text] / H. Mesallamy, E. El-Demerdash, L. N. Hammad [et al.] // *Diabetol. Metab. Syndr.* – 2010. – Vol. 2. – P. 1-11.
93. Taurine deficiency damages retinal neurons: cone photoreceptors and retinal ganglion cells [Text] / D. Gaucher, E. Arnault, Z. Husson [et al.] / *Amino Acids*. – 2012. – Vol. 43. – P. 1979-1993.
94. Song, M. K. Reversal of the caspase-dependent apoptotic cytotoxicity pathway by taurine from *Lycium barbarum* (Goji Berry) in human retinal pigment epithelial cells: potential benefit in diabetic retinopathy [Text] / M. K. Song, B. D. Roufogalis, T. H. Huang / *Alter. Med.* – 2012. – Vol. 2012. – 11 p.
95. Taurine alleviates the progression of diabetic nephropathy in type 2 diabetic rat model [Text] / J. H. Koh, E. S. Lee, M. Hyun [et al.] // *Int. J. Endocrinol.* – 2014. – Vol. 2014. – 11 p.
96. Taurine supplementation reduces blood pressure and prevents endothelial dysfunction and oxidative stress in post-weaning protein-restricted rats [Text] / R. Maia, T. M. Batista, J. A. Victorio [et al.] // *PLOSONE*. – 2014. – Vol. 9, № 8. – P. 1-10.

97. *Crataegus oxyacantha* (Hawthorn) Monograph [Text] / [s. n.] // Alt. Med. Rev. – 2010. – Vol. 15, № 2. – P. 164-167.
98. Validation of the antidiabetic and hypolipidemic effects of hawthorn by assessment of gluconeogenesis and lipogenesis related genes and AMP-activated protein kinase phosphorylation [Text] / C. Shih, C. Lin, Y. Lin, J. Wu // Evid. Based Complement. Alternat. Med. – 2013. – Vol. 2013. – 12 p.
99. AMPK activation: a therapeutic target for type 2 diabetes? [Text] / K. A. Coughlan, R. J. Valentine, N. B. Ruderman, A. K. Saha // Diabetes Metab. Syndr. Obes. – 2014. – Vol. 7. – P. 241-253.
100. *Crataegus oxyacantha* – a cardioprotective herb [Text] / S. K. Verma, V. Jain, D. Verma, R. Khamesra // J. Herb. Med. Toxicol. – 2007. – Vol. 1, № 1. – P. 65-71.
101. Wang, J. Effect of *Crataegus* usage in cardiovascular disease prevention: an evidence-based approach [Text] / J. Wang, X. Xiong, B. Feng // Evid. Based Complement. Alternat. Med. – 2013. – Vol. 2013. – 16 p.
102. *In vitro* antidiabetic potential of the fruits of *Crataegus pinnatifida* [Text] / S. S. Chowdhury, M. N. Islam, J. S. Choi // Res. Pharm. Sci. – 2014. – Vol. 9, № 1. – P. 11-12.
103. Pereira, O. R. Characterization of phenolic constituents of medicinal plants and evaluation of pharmacological activities: focus in antioxidant and anti-inflammatory properties. – Access mode : <http://gredos.usal.es>.
104. Фармацевтична енциклопедія. Собача кропива звичайна В.М.Ковальов. – Режим доступу : <http://www.pharmencyclopedia.com.ua>.
105. *Leonurus sibiricus* herb extract suppresses oxidative stress and ameliorates hypercholesterolemia in C57BL/6 mice and TNF-alpha induced expression of adhesion molecules and lectin-like oxidized LDL receptor-1 in human umbilical vein endothelial cells [Text] / M. J. Lee, H. S. Lee, S. D. Park [et al.] // Biosci. Biotechnol. Biochem. – 2010. – Vol. 74. – P. 279–284.

106. Extracts from *Leonurus sibiricus* L. increase insulin secretion and proliferation of rat INS-1E insulinoma cells [Text] / S. Schmidt, M. Jakab, S. Jav [et al.] // J. Ethnopharmacol. – 2013. – Vol. 150. – P. 85-94.
107. Novel anti-diabetic effect of SCM-198 via inhibiting the hepatic NF- κ B pathway in db/db mice [Text] / H. Huang, H. Xin, X. Liu [et al.] // Biosci. Rep. – 2012. – Vol. 32. – P. 185–195.
108. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах [s. n.] // Ендокринологія. – 2003. – Т. 8, № 1. – P. 142-145.
109. Mechanism of fat-induced hepatic gluconeogenesis: effect of metformin [Text] / S. Song, S. Andrikopoulos, C. Filippis [et al.] // Amer. J. Physiol. Endocrinol. Metab. – 2001. – Vol. 281, № 2. – P. 275-282.
110. Effects of estrogens on learning of rats with chronic brain cholinergic deficit in Morris water maze [Text] / T. V. Mukhina [et al.] // Zh. Vyssh. Nerv. Deiat. Im. I. P. Pavlova. – 2003. – Vol. 53, № 2. – P. 208-214.
111. Levi, B. Long-term fructose consumption accelerates glycation and several age-related variables in male rats [Text] / B. Levi, M. Werman // J. Nutr. – 1998. – Vol. 128, № 8. – P. 1442-1449.
112. Полторак, В. В. Методичні рекомендації з експериментального вивчення нових гіпоглікемічних засобів // Доклінічні дослідження лікарських засобів [Текст] / В. В. Полторак, Н. І. Горбенко / за ред. О. В. Стефанова. – К., 2001. – С. 396-408.
113. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма [Текст]: метод. рекомендации; [авт. А. В. Арутюнян и др.]. – С. Пб, 2000. – 104 с.
114. The short insulin tolerance test for determination of insulin sensitivity: a comparison with the euglycaemic clamp [Text] / A. Akinmokun, P. L. Selby, K. Ramaiya, K. G. M. M. Alberti // Diabet. Med. – 1992. – Vol. 9, № 4. – P. 432-437.
115. Fructosamine test-plus, a modified fructosamine assay evaluated [Text] / J. Baker [et al.] // Clin. chem. – 1991. – Vol. 37, № 4. – P. 552-556.

116. The estrogen receptor α -selective agonist propyl pyrazole triol improves glucose tolerance in ob/ob mice; potential molecular mechanisms [Text] / L. Lundholm, G. Bryzgalova, H. Gao [et al.] // *Endocrinol.* – 2008. – Vol. 199. – P. 275-286.
117. Прохорова, М. И. Большой практикум по углеводному и липидному обмену [Текст] / М. И. Прохорова, З. Н. Тупикова. – Л. : изд-во Ленинградского ун-та. – 1965. – 218 с.
118. Swanson, M. Glucose-6-phosphatase from liver [Text] / M. Swanson // *J. biol. chem.* – 1950. – Vol. 184, № 2. – P. 647-652.
119. Reitmann, S. Calcimetric method for the determination of serum and glutamanie pyruvis transaminases [Text] / S. Reitmann, S. A. Frankel // *Amer. J. Clin. Pathol.* – 1957. – Vol. 28, № 1. – P. 56-59.
120. Dumcombe, W. C. The colorimetric microdetermination of long-chain fatty acids [Text] / W. C. Dumcombe // *Biochem. J.* – 1963. – Vol. 188, № 1. – P. 7-10.
121. Лабораторные методы исследования в клинике [Текст] : справочник / В. В. Меншиков, Л. Н. Делекторская, Р. П. Золотницкая [и др.] / под ред. В. В. Меншикова. – М. : Медицина, 1987. – С. 365.
122. Fletcher, M. J. A colorimetric method for estimating serum triglycerides [Text] / M. J. Fletcher // *Clin. Acta.* – 1969. – Vol. 22, № 3. – P. 393-397.
123. Современные методы в биохимии [Текст] / под ред. В. Н. Ореховича. – М. : Медицина, 1977. – 392 с.
124. Сопоставление различных подходов к определению перекисного окисления липидов в гептан-изопропанольных экстрактах крови [Текст] / И. А. Волчегорский [и др.] // *Вопросы мед. химии.* – 1989. – № 1. – С. 127-131.
125. Стальная, И. Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты [Текст] / И. Д. Стальная, Г. Л. Гаришвили // *Современные методы в биохимии.* – 1977. – С. 66-68.

126. Ohkawa, H. Reaction of linoleic acid hydroperoxide with thiobarbituric acid [Text] / Ohkawa. H, Ohishi. N, Yagi K. // J Lipid Res. – 1978. – Vol. 19, № 8. – P. 1053-1057.
127. Определения содержания восстановленного глутатиона в тканях / Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) [Текст] : учеб. пособие / под ред. М. И. Прохоровой. – Л. : Изд-во Ленинградского ун-та, 1982. – С. 183-187.
128. Биохимические исследования в токсикологическом эксперименте [Текст] / под ред. М. Ф. Савченкова, В. М. Прусакова. – Иркутск : Изд-во Иркутского университета, 1990. – С. 110-119.
129. Кролюк, М. А. Метод определения активности каталазы [Текст] / М. А. Кролюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майоров // Лаб. дело. – № 1. – 1998. – С. 16-17.
130. Straus, W. Colorimetric determination of cytochrom c oxidase by formation of a quinonediimonium pigment from dimethyl-p-phenylenediamine [Text] / W. Straus // Biochem. biophys. acta. – 1956. – Vol. 19. – P. 58-65.
131. Miller, G. L. Protein determination for large numbers of samples [Text] / G. L. Miller // Analyt. Chem. – 1959. – Vol. 31, № 5. – P. 964-966.
132. Орлова, Е. А. Анализ нитритов и нитратов в ткани при экспериментальной почечной недостаточности [Текст] / Е. А. Орлова // Укр. журн. exper. медицины. – 2002. – Т. 3, № 1. – С. 79-82.
133. Пособие по изучению адгезивно-агрегационной активности тромбоцитов [Текст] / А. Л. Берковский, С. А. Васильев, Л. В. Жердева [и др.]. – М. : [б. и.], 2002. – 28 с.
134. Bazett, H. C. An analysis of time-relations on electrocardiograms [Text] / H. C. Bazett // Heart. – 1920. – Vol. 7, № 3. – P. 353-370.
135. Меркулов, Г. А. Курс патогистологической техники [Текст] / Г. А. Меркулов. – М. : Медицина, Ленинградское отделение, 1969. – 424 с.

136. Development of glomerular lesions in experimental longterm diabetes in the rats [Text] / K. Hirose, R. Osterby, M. Nosava [et al.] // *Kidney Int.* – 1982. – Vol. 21. – P. 689-695.
137. Van Pilsen, J. F. Effect of various protein precipitants on recoveries of creatinine added to plasma [Text] / J. F. Van Pilsen, M. Bovis // *Clin. Chem.* – 1957. – Vol. 3. – P. 90.
138. Breinek, P. Determination of urea using diacetylmonoxim without deproteinization in a sulfuric acid medium [Text] / P. Breinek, J. Bouda // *Vnitřní Lek.* – 1970. – P. 186.
139. Чанс, Б. Регуляция клеточного обмена. – М., 1962. – С. 111.
140. Гланс, С. Медико-биологическая статистика [Текст] / С. Гланс ; пер. с англ. Ю. А. Данилова. – М. : Практика, 1998. – 459 с.
141. Sleiman, D. Effect of Mediterranean diet in diabetes control and cardiovascular risk modification: a systematic review [Text] / D. Sleiman, M. R. Al-Badri, S. T. Azar // *Front. Public health.* – 2015. – Vol. 3, № 69. – P. 1-8.
142. Mediterranean diet and cardiometabolic disease: a review [Text] / E. Garcia-Fernandez, L. Rico-Cabanas, N. Rosgaard [et al.] // *Nutrients* – 2014. – Vol. 6. – P. 3474-3500.
143. Poornima, I. Diabetic cardiomyopathy. The search for a unifying hypothesis [Text] / I. Poornima, P. Parikh, R. Shannon // *Circ. Res.* – 2006. – Vol. 98. – P. 596-605.
144. Rare syringyl acylated flavonol glycosides from the aerial parts of *Leonurus japonicus* houtt [Text] / Y. Zhang, S. Deng, L. Qu [et al.] // *Molecules.* – 2013. – Vol. 18. – P. 2967-2977.
145. Chapple, S. J. Effects of 4-hydroxynonenal on vascular endothelial and smooth muscle cell redox signaling and function in health and disease [Text] / S. J. Chapple, X. Cheng, G. E. Mann // *Redox Biol.* – 2013. – Vol. 1. – P. 319-331.
146. Stanhope, K. L. Adverse metabolic effects of dietary fructose: results from recent epidemiological, clinical, and mechanistic studies [Text] /

K. L. Stanhope, J. M. Schwarz, P. J. Havel // *Curr. Opin. Lipidol.* – 2013. – Vol. 24, № 3. – P. 198-206.

147. Very high fructose intake increases serum LDL-cholesterol and total cholesterol: a meta-analysis of controlled feeding trials [Text] / Y. H. Zhang, T. An, R. C. Zhang [et al.] // *J. Nutr.* – 2013. – Vol. 143. – P. 1391–1398.

148. Simopoulos, A. P. Dietary omega-3 fatty acid deficiency and high fructose intake in the development of metabolic syndrome, brain metabolic abnormalities, and non-alcoholic fatty liver disease [Text] / A. P. Simopoulos // *Nutrients.* – 2013. – Vol. 5. – P. 2901-2923.

149. Plasma and platelet taurine are reduced in subjects with insulin-dependent diabetes mellitus: effects of taurine supplementation [Text] / F. Franconi, F. Bennardini, A. Mattana [et al.] // *Amer. J. clin. Nutr.* – 1995. – Vol. 61. – P. 1115-1119.

150. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from different parts of *Leonurus japonicus* Houtt [Text] / L. Xiong, C. Peng, Q. M. Zhou [et al.] // *Molecules.* – 2013. – Vol. 18. – P. 963-973.

151. Saltiki, K. Coronary heart disease in postmenopausal women; the role of endogenous estrogens and their receptors [Text] / K. Saltiki, M. Alevizaki // *Hormones.* – 2007. – Vol. 6, № 1. – P. 9-24.

152. Solimene, M. C. Coronary heart disease in women: a challenge for the 21st century [Text] / M. C. Solimene // *Clinics.* – 2010. □ Vol. 65, № 1. – P. 99-106.

153. Galipeau, D. Female rats are protected against fructose-induced changes in metabolism and blood pressure [Text] / D. Galipeau, S. Verma, J. Mcneill // *Amer. J. Pphysiol. Heart Circ. Physiol.* – 2002. – Vol. 283. – P. 2478-2484.

154. Buettner, R. High-fat diets: modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents [Text] / R. Buettner, J. Scholmerich, L. C. Bollheimer // *Obesity.* – 2007. – Vol. 15. – P. 798-808.

155. Effect of taurine on advanced glycation end products-induced hypertrophy in renal tubular epithelial cells [Text] / J. S. Huang, L. Y. Chuang, J. Y. Guh [et al.] // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2008. – Vol. 233. – P. 220-226.

156. Oxidative stress in diabetes: implications for vascular and other complications [Text] / D. Pitocco, M. Tesauro, R. Alessandro [et al.] // *Int. J. Molec. Sci.* – 2013. – Vol. 14, № 11. – P. 21525–21550.

157. Oxidative stress in diabetic nephropathy [Text] / N. Kashihara, Y. Haruna, V. K. Kondeti, Y. S. Kanwar // *Curr. Med. Chem.* – 2010. – Vol. 17, № 34. – P. 4256–4269.

158. A role for taurine in mitochondrial function [Text] / S. H. Hansen, M. L. Andersen, C. Cornett [et al.] // *J. Biomed. Sci.* – 2010. – Vol. 17. – P. 23-30.

159. Effect of taurine on biomarkers of oxidative stress in tissues of fructose-fed insulin-resistant rats [Text] / A. T. A. Nandhini, V. Thirunavukkarasu, M. K. Ravichandran, C. V. Anuradha // *Singapore Med. J.* – 2005. – Vol. 46. – P. 82-87.

160. Association between heart rate and multiple risk factor syndrome [Text] / T. Inoue, K. Iseki, C. Iseki [et al.] // *Circ. J.* – 2008. – Vol. 72. – P. 454-457.

161. Relationship between QT and RR interval in rats, guinea pigs, rabbits, and primates [Text] / E. Hayes, M. K. Pugsley, W. P. Penz [et al.] // *J. Pharmacol. Toxicol. Methods.* – 1994. – Vol. 32, № 4. – P. 201-207.

162. The clinical value of the ECG in noncardiac conditions [Text] / C. V. Miegheem [et al.] // *PhDCHEST.* – 2004. – Vol. 4. – P. 125.

163. Макаревич И. Ф., Бухарина Е. В., Дикань Л. Н. [и др.] Новый кардиотоник радиопротектор Кратал // Матеріали V національного з'їзду фармацевтів України «Досягнення сучасної фармації та перспективи її розвитку у новому тисячолітті». — С. 179–180.

164. Паньків, В. І. Цукровий діабет, переддіабет і серцево-судинні захворювання. Аналіз рекомендацій Європейського товариства з кардіології

(ESC) і Європейської асоціації з вивчення діабету (EASD) [Текст] / В. І. Паньків // Прак. ангіологія. – 2007. – № 2. – С. 6-8.

165. Tavafi, M. Diabetic nephropathy and antioxidants [Text] / M. Tavafi // J. Nephrothol. – 2013. – Vol. 2, № 1. – P. 20–27.

166. Khoshjou, F. Mitochondrion and its role in diabetic nephropathy [Text] / F. Khoshjou, F. Dadras // Iran J. Kidney Dis. – 2014. – Vol. 8, № 5. – P. 355–358.

167. Tessari, P. Nitric oxide in the normal kidney and in patients with diabetic nephropathy [Text] / P. Tessari // Nephrol. – 2015. – Vol. 28, № 3. – P. 257–268.

168. Reduction of heparan sulphate-associated anionic sites in glomerular basement membrane of rats with streptozotocin-induced diabetic nephropathy [Text] / J. Born, A. A. Kraats, M. A. Bakker [et al.] // Diabetologia. – 1995. – Vol. 38, № 10. – P. 1169-1175.

169. Дженингс, П. Механизмы, лежащие в основе развития диабетической микроангиопатии [Текст] / П. Дженингс // Диабетография. – 1995. – № 3. – С. 22-24.

170. Cardiovascular disease in the developing world prevalences, patterns, and the potential of early disease detection [Text] / D. S. Celermajer, C. K. Chow, E. Marijon [et al.] // J. amer. coll. cardiol. – 2012. – Vol. 60. – P. 1207-1216.

171. Suh, S. Metabolic syndrome and cardiovascular diseases in Korea [Text] / S. Suh, M. K. Lee // J. Atheroscler. Thromb. – 2014. – Vol. 21, Suppl. 1. – P. 31-35.

172. Prevalence of metabolic syndrome in Brazilian adults: a systematic review [Text] / F. de Carvalho Vidigal, J. Bressan, N. Babio, J. Salas-Salvade // BMC Public health. – 2013. – Vol. 13. – P. 1-10.

173. Achievement of recommended glucose and blood pressure targets in patients with type 2 diabetes and hypertension in clinical practice –study rationale and protocol of DIALOGUE [Text] / A. K. Gitt, R. E. Schmieder, E. Duetting [et al.] // Cardiovasc. Diabetol. – 2012. – Vol. 11. – P. 1-8.

174. Gupta. A. Metabolic syndrome: What are the risks for humans? [Text] / A. Gupta, V. Gupta / BioSci Trends. – 2010. – Vol. 4, № 5. – P. 204-212.
175. Role of “Western Diet” in inflammatory autoimmune diseases [Text] / A. Manzel, D. N. Muller, D. A. Hafler [et al.] // Curr. Allergy Asthma Rep. – 2014. – Vol. 14, № 1. – P. 454.
176. Improving prediction algorithms for cardiometabolic risk in children and adolescents [Text] / U. Sovio, A. Skow, C. Falconer [et al.] // Obesity. – 2013. – Vol. 2013. – 6 p.
177. Roles of the chemokine system in development of obesity, insulin resistance, and cardiovascular disease [Text] / L. Yao, O. Herlea-Pana, J. Heuser-Baker [et al.] // Immunol. Res. – 2014. – Vol. 2014. – 11 p.
178. Leibowitz , G. β -cell failure in type 2 diabetes [Text] / G. Leibowitz, N. Kaiser, E. Cerasi // J. Diab. Invest. – 2011. – Vol. 2, № 2. – P.
179. Platelet taurine concentration can be predicted from whole blood taurine concentrations in dogs [Text] / C. L. Torres, N. J. Walker, Q. R. Rogers, F. Tablin // J. Nutr. – 2006. – Vol. 136. – P. 2055-2057.
180. Metabolic syndrome in premenopausal and postmenopausal women with type 2 diabetes: loss of protective effects of premenopausal status [Text] / M. Nakhjavani, M. Imani, M. Larry, A. Aghajani-Nargesi [et al.] // J. Diabet. Metabol. Disord. – 2014. – Vol. 13. – P. 1-6.
181. Misra, A. Obesity, the metabolic syndrome, and type 2 diabetes in developing countries: role of dietary fats and oils [Text] / A. Misra, N. Singhal, L. Khurana // J. Amer. Coll. Nutr. – 2010. – Vol. 29, № 3. – P. 289-301.
182. Diet & insulin resistance: a review & asian indian perspective [Text] / S. Isharwal, A. Misra, J. S. Wasir, P. Nigam // Indian J. Med. Res. – 2009. – Vol. 129, № 5. – P. 485-499.
183. Associations of estrogen and testosterone with insulin resistance in pre- and postmenopausal women with and without hormone therapy [Text] / S. Matsui, T. Yasui, A. Tani [et al.] // Int. J. Endocrinol. Metab. – 2013. – Vol. 11, № 2. – P. 65-70.

184. Taurine ameliorates hyperglycemia and dyslipidemia by reducing insulin resistance and leptin level in Otsuka Long-Evans Tokushima fatty (OLETF) rats with long-term diabetes [Text] / K. J. Kim, D. H. Oh, J. Y. Kim [et al.] // *Exp. Molec. Med.* – 2012. – Vol. 44, № 11. – P. 665-673.

185. Estradiol improves cardiovascular function through up-regulation of SOD2 on vascular wall [Text] / Z. Liu, Y. Gou, H. Zhang [et al.] // *Redox Biol.* – 2014. – Vol. 3. – P. 88-99.

186. Samad, F. Inflammation, obesity, and thrombosis [Text] / F. Samad, W. Ruf // *Blood.* – 2013. – Vol. 122, № 20. – P. 3415-3422.

187. Bosomworth, N. J. Approach to identifying and managing atherogenic dyslipidemia: a metabolic consequence of obesity and diabetes [Text] / N. J. Bosomworth // *Can. Fam. Physician.* – 2013. – Vol. 59. – P. 1169-1180.

188. Pradhan, A. D. Sex differences in the metabolic syndrome: implications for cardiovascular health in women [Text] / A. D. Pradhan // *Clin. Chemistry.* – 2014. – Vol. 60, № 1. – P. 44-52.

189. Eckel, L. A. The ovarian hormone estradiol plays a crucial role in the control of food intake in females [Text] / L. A. Eckel // *Physiol. Behav.* – 2011. – Vol. 104, № 4. – P. 517-524.

190. Trayhurn, P. Physiological role of adipose tissue: white adipose tissue as an endocrine and secretory organ [Text] / P. Trayhurn, J. H. Beattie // *Proc. nutr. soc.* – 2001. – Vol. 60, № 3. – P. 329-339.

191. Antiobesity and hypolipidemic effects of lotus leaf hot water extract with taurine supplementation in rats fed a high fat diet [Text] / H. Du, J. You, X. Zhao [et al.] // *Biomed. Sci.* – 2010. – Vol. 17, Suppl. 1. – P. 1-5.

192. Taurine in health and diseases: consistent evidence from experimental and epidemiological studies [Text] / Y. Yamori, T. Taguchi, A. Hamada [et al.] // *Biomed. Sci.* – 2010. – Vol. 17, Suppl. 1. – P. 1-14.

193. Misra, A. Obesity and dyslipidemia in south Indians [Text] / A. Misra, U. Shrivastava // *Nutrients.* – 2013. – Vol. 5. – P. 2708-2733.

194. Acute high-fat diet paradigms link galanin to triglycerides and their transport and metabolism in muscle [Text] / S. F. Leibowitz, J. T. Dourmashkin, G. Chang, [et al.] // *Brain Res.* – 2004. – Vol. 1008, № 2. – P. 168-178.
195. Горшунська, М. Ю. Оксидативний стрес у хворих на цукровий діабет 2 типу: зв'язок з характеристиками розвитку, прогресування та ускладнень (огляд літератури та власні результати) [Текст] / М. Ю. Горшунська // *Пробл. Ендокрин. Патол.* – 2012. – № 3. – P. 113-124.
196. Impact of ovariectomy, high fat diet, and lifestyle modifications on oxidative/antioxidative status in the rat liver [Text] / R. Vuković¹, S. Blažetić, I. Oršolić¹ [et al.] // *Croat Med. J.* – 2014. – Vol. 55. – P. 218-227.
197. Lipid peroxidation potential and antioxidants in the heart tissue of β -alanine- or taurine-treated old rats [Text] / H. Parildar, S. Dogru-Abbasoglu, G. Mehmetçik [et al.] // *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* – 2008. – Vol. 54, № 1. – P. 61-65.
198. The effect of *Leonurus sibiricus* plant extracts on stimulating repair and protective activity against oxidative DNA damage in CHO cells and content of phenolic compounds [Text] / P. B. Sitarek, E. S. Ba, H. Wysokińska [et al.] // *Oxid. Med. Cel. Longev.* – 2016. – Vol. 2016. – 11 p.
199. Effects of high-fat diet on plasma lipids, adiposity, and inflammatory markers in ovariectomized C57BL/6 mice [Text] / A. Ludgero-Correia, M. B. Aguila, C. A. Mandarim-de-Lacerda, T. S. Faria // *J. Nutr.* – 2012. – Vol. 28, № 3. – P. 316-323.
200. Estrogens and atherosclerosis [Text] / J. F. Arnal, P. Gourdy, R. Elhage [et al.] // *Eur. J. Endocrinol.* – 2004. – Vol. 150. – P. 113-117.
201. Significance of nitric oxide synthases: lessons from triple nitric oxide synthases null mice [Text] / M. Tsutsui, A. Tanimoto, M. Tamura [et al.] // *Pharmacol. Sci.* – 2015. – Vol. 127. – P. 42-52.
202. Prognostic value of endothelial dysfunction in type 1 diabetes mellitus [Text] / A. M. Ladeia, R. R. Sampaio, M. C. Hita, L. F. Adan // *World J. Diabet.* – 2014. – Vol. 5, № 5. – P. 601-605.

203. Особливості змін системи оксиду азоту за дії переривчастої гіпоксії у щурів різного віку [Текст] / О. К. Кульчицький, Р. І. Потапенко, С. М. Новикова, В. М. Швець // Кровообіг та гемостаз. – 2013. – № 3–4. – С. 138.
204. The return of metabolism: biochemistry and physiology of the pentose phosphate pathway [Text] / A. Stincone, A. Prigione, T. Cramer [et al.] / Biol. Rev. – 2014. – Vol. 2014. – P. 1-39.
205. Triantaphyllopoulos, K. A. Energy balance-dependent regulation of ovine glucose 6-phosphate dehydrogenase protein isoform expression [Text] / K. A. Triantaphyllopoulos, G. P. Laliotis, I. A. Bizelis // Adipocyte. – 2014. – Vol. 3, № 1. – P. 30–38.
206. Potential protective effects of nigella sativa and allium sativum against fructose-induced metabolic syndrome in rats [Text] / N. Al-Rasheed, N. Al-Rasheed, Y. Bassiouni [et al.] // J. Oleo. Sci. – 2014. – Vol. 63, № 8. – P. 839-848.
207. Manna, P. Amelioration of cadmium-induced cardiac impairment by taurine [Text] / P. Manna, M. Sinha, P. C. Sil // Chem. Biol. Interact. – 2008. – Vol. 174, № 2. – P. 88-97.
208. Nephrotoxicity and its prevention by taurine in tamoxifen induced oxidative stress in mice [Text] / H. Tabassum, S. Parvez, H. Rehman [et al.] // Hum. Exp. Toxicol. – 2007. – Vol. 26, № 6. – P. 509-518.
209. The effect of taurine on renal ischemia/reperfusion injury [Text] / G. Guz, E. Oz, N. Lortlar [et al.] // Amino Acids. – 2007. – Vol. 32, № 3. – P. 405-411.
210. Effect of fishmeal replacement by soy protein concentrate with taurine supplementation on hepatic intermediary metabolism and antioxidant status of totoaba juveniles (*Totoaba macdonaldi*) [Text] / I. Bañuelos-Vargas, L. M. López, A. Pérez-Jiménez, H. Peres // Comp. Biochem. Physiol. – 2014. – Vol. 170. – P. 18-25.

211. Glucose-6-phosphatase deficiency [Text] / R. Froissart, M. Piraud, A. M. Boudjemline [et al.] // Orphanet J. Rare Dis. – 2011. – Vol. 6, № 27. – P. 1-12.
212. Park, I. S. Effects of taurine on plasma and liver lipids, erythrocyte ouabain sensitive Na efflux and platelet aggregation in Sprague Dawley rats [Text] / I. S. Park, Y. H. Kang, J. S. Kang // Nutr. Res. Pract. – 2007. – Vol. 1, № 3. – P. 200-205.
213. Segula, D. Complications of obesity in adults: a short review of the literature [Text] / D. Segula // Malawi Med. J. – 2014. – Vol. 26, № 1. – P. 20-24.
214. Effect of the amount and type of dietary fat on cardiometabolic risk factors and risk of developing type-2 diabetes, cardiovascular disease, and cancer: a systematic review [Text] / U. Schwab, L. Lauritzen, T. Tholstrup [et al.] // Food Nutr. Res. – 2014. – Vol. 58. – P. 1-26.
215. The development of diet-induced obesity and glucose intolerance in C57Bl/6 mice on a high-fat diet consists of distinct phases [Text] / L. M. Williams, F. M. Campbell, J. E. Drew [et al.] // PLOS ONE. – 2014. – Vol. 9, № 8. – P. 1-19.
216. Markers of tissue-specific insulin resistance predict the worsening of hyperglycemia, incident type 2 diabetes and cardiovascular disease [Text] / M. Fízel'ova, H. Cederberg, A. Stancakova [et al.] // PLOS ONE. – 2014. – Vol. 9, № 10. – P. 1-8.
217. Taurine and glucose metabolism: a review [Text] / C. De la Puerta, F. J. Arrieta, J. A. Balsa [et al.] // Nutr hosp. – 2010. – Vol. 25, № 6. – P. 910-919.
218. Taurine (2-aminoethanesulfonic acid) deficiency creates a vicious circle promoting obesity [Text] / N. Tsuboyama-Kasaoka, C. Shozawa, K. Sano [et al.] // Endocrinology. – 2006. – Vol. 147, № 7. – P. 3276-3284.
219. Taurine supplementation and diabetes mellitus [Text] / F. Franconi, A. Loizzo, C. Ghirlanda, G. Seghieri // Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care. – 2006. – Vol. 9, № 1. – P. 32-36.
220. Овсянникова, О. Н. Целесообразность применения таурина в лечении неалкогольной жировой болезни печени [Текст] / О. Н. Овсянникова,

Л. А. Звенигородская // Эффективная фармакотерапия. Гастроэнтерология. – 2012. – № 2. – P. 38-42.

221. Ectopic fat deposition and global cardiometabolic risk: new paradigm in cardiovascular medicine [Text] / M. Shimabukuro, C. Kozuka, S. Taira [et al.] // J. Med. Invest. – 2013. – Vol. 60. – P. 1-14.

222. Lim, S. Ectopic fat assessment focusing on cardiometabolic and renal risk [Text] / S. Lim // Endocrinol. metab. – 2014. – Vol. 29. – P. 1-4.

223. Tangvarasittichai, S. Oxidative stress, insulin resistance, dyslipidemia and type 2 diabetes mellitus [Text] / S. Tangvarasittichai // World J. Diabetes. – 2015. – Vol. 6, № 3. – P. 456-480.

224. Ripps, H. Review: taurine: a “very essential” amino acid [Text] / H. Ripps, W. Shen // Molec. Vision. – 2012. – Vol. 18. – P. 2673-2686.

225. Горбенко, Н. И. Перспективность использования тауринсодержащего препарата «Кратал» в комплексной терапии метаболического синдрома и сахарного диабета [Текст] / Н. И. Горбенко // 100 избранных лекций по эндокринологии / под ред. Ю. И. Караченцева, А. В. Казакова, Н. А. Кравчун, И. М. Ильиной. – 2-й вып. – Х. : С.А.М., 2014. – С. 52–60.

226. Hwangand, M. H. Type 2 diabetes: endothelial dysfunction and exercise [Text] / M. H. Hwangand, S. Kim // J. Exerc. Nutrition Biochem. – 2014. – Vol. 18, № 3. – P. 239-247.

227. Muniyappa, R. Role of insulin resistance in endothelial dysfunction [Text] / R. Muniyappa, J. R. Sowers // Rev. Endocr. Metab. Disord. – 2013. – Vol. 14, № 1. – P. 5-12.

228. Modulatory effects of taurine on jejunal contractility [Text] / Q. Y. Yao, D. P. Chen, D. M. Ye [et al.] // Brazilian J. Med. Biol. Res. – 2014. – Vol. 47, № 12. – P. 1068-1074.

229. Comparison between cafeteria and high-fat diets in the induction of metabolic dysfunction in mice [Text] / T. S. Higa, A. V. Spinola, M. H. Fonseca-

Alaniz [et al.] // Int. J. Physiol. Pathophysiol. Pharmacol. – 2014. – Vol. 6, № 1. P. 47-54.

230. DiNicolantonio, J. J. The wrong white crystals: not salt but sugar as aetiological in hypertension and cardiometabolic disease [Text] / J. J. DiNicolantonio, S. C. Lucan // Open Heart. – 2014. – Vol. 1, № 1. – P. 1-8.

231. Mitochondrial biogenesis in the metabolic syndrome and cardiovascular diseases [Text] / J. Ren, L. Pulakat, A. Whaley-Connell, J. R. Sowers // J. Mol. Med. – 2010. – Vol. 88, № 10. – P. 993-1001.

232. A high-fructose diet worsens eccentric left ventricular hypertrophy in experimental volume overload [Text] / A. A. Bouchard-Thomassin, D. Lachance, M. C. Drolet [et al.] // Amer. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2011. – Vol. 300. – P. 125-134.

233. The importance of myocardial amino acids during ischemia and reperfusion in dilated left ventricle of patients with degenerative mitral valve disease [Text] / A. Venturini, R. Ascione, H. Lin [et al.] // Mol. Cell. Biochem. – 2009. – Vol. 330, № 1-2. – P. 63-70.

234. The potential health benefits of taurine in cardiovascular disease [Text] / Y. J. Xu, A. S. Arneja, P. S. Tappia, N. S. Dhalla // Exp. Clin. Cardiol. – 2008. – Vol. 13, № 2. – P. 57-65.

235. Birdsall, T. C. Therapeutic applications of taurine [Text] / Altern. Med. Rev. – 1998. – Vol. 3, № 2. – P. 128-136.

236. Taurine attenuates hypertrophy induced by angiotensin II in cultured neonatal rat cardiac myocytes [Text] / M. Azuma, K. Takahashi, T. Fukuda [et al.] // Eur. J. Pharmacol. – 2000. – Vol. 403, № 3. – P. 181–188.

237. Beneficial effects of taurine on serum lipids in overweight or obese non-diabetic subjects [Text] / M. Zhang, L. F. Bi, J. H. Fang [et al.] // Amino Acids. – 2004. – Vol. 26, № 3. – P. 267-227.

238. Применение препарата Кратал в комплексной терапии больных с ишемической болезнью сердца и нейроциркуляторной дистонией [б. и.] / [Электронный ресурс]. – Режим доступа :<http://bcpp.com.ua>.

239. Кратал – новый препарат отечественного производства с кардиопротекторным действием [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <http://www.apteka.ua/article/11885>.
240. Effect of ischemia, calcium depletion and repletion, acidosis and hypoxia on cellular taurine content [Text] / S. W. Schaffer, V. Pastukh, V. Solodushko [et al.] // *Amino Acids*. – 2002. – Vol. 23. – P. 395-400.
241. The establishment of metabolic syndrome model by induction of fructose drinking water in male Wistar rats [Text] / N. Mamikutty, Z. C. Thent, S. R. Sapri [et al.] // *Bio. Med. Res. Intern.* – 2014. – Vol. 2014. – 8 p.
242. Nitric oxide and mitochondria in metabolic syndrome [Text] / L. Litvinova, D. N. Atochin, N. Fattakhov [et al.] // *Front. Physiol.* – 2015. – Vol. 17, № 6. – P. 1-10.
243. Hu, F. Mitochondrial stress: a bridge between mitochondrial dysfunction and metabolic diseases? [Text] / F. Hu, F. Liu // *Cell signal.* – 2011. – Vol. 23, № 10. – P. 1528-1533.
244. Kim, J. Role of mitochondrial dysfunction in insulin resistance [Text] / J. Kim, Y. Wei, J. Sowers // *Circ. res.* – 2008. – Vol. 102. – P. 401-414.
245. Vial, G. Liver mitochondria and insulin resistance [Text] / G. Vial, H. Dubouchaud, X. M. Leverve // *ABP.* – 2010. – Vol. 57, № 4. – P. 389-392.
246. Mechanisms underlying skeletal muscle insulin resistance induced by fatty acids: importance of the mitochondrial function [Text] / A. R. Martins, R. T. Nachbar, R. Vinolo [et al.] // *Lipids Health Dis.* – 2012. – Vol. 11, № 30. – P. 1-11.
247. Oxidative stress, nitric oxide, and diabetes [Text] / D. Pitocco, F. Zaccardi, E. Di Stasio [et al.] // *Diabetic studies.* – 2010. – Vol. 7, № 1. – P. 15-25.
248. Neelofar, K. Amadori albumin in diabetic nephropathy [Text] / K. Neelofar, J. Ahmad // *Indian J. Endocrinol. Metabol.* – 2015. – Vol. 19, № 1. – P. 39-46.

249. Palsson, R. Cardiovascular complications of diabetic kidney disease [Text] / R. Palsson, U. D. Patel // *Adv. Chronic Kidney Dis.* – 2014. – Vol. 21, № 3. – P. 273-280.
250. Investigation of the protective effects of taurine against alloxan-induced diabetic retinal changes via electroretinogram and retinal histology with New Zealand white rabbits [Text] / S. T. Chiang, S. Yeh, Y. Chen [et al.] // *Intern. J. Endocrinol.* – 2014. – Vol. 2014. – 7 p.
251. Ito, T. The potential usefulness of taurine on diabetes mellitus and its complications [Text] / T. Ito, S. W. Schaffer, J. Azuma // *Amino Acids.* – 2012. – Vol. 42. – P. 1529-1539.
252. Roshan, B. A story of microalbuminuria and diabetic nephropathy [Text] / B. Roshan, R. C. Stanton // *Nephropathology.* – 2013. – Vol. 2, № 4. – P. 234-240.
253. Preventive effect of taurine on experimental type II diabetic nephropathy [Text] / S. Lin, J. Yang, G. Wu. [et al.] // *Biomed. Sci.* – 2010. – Vol. 17, Suppl. 1. – P. 1-8.
254. Taurine administration after appearance of proteinuria retards progression of diabetic nephropathy in rats [Text] / S. Higo, S. Miyata, Q. Yun [et al.] // *Med. Sci.* – 2008. – Vol. 54, № 1. – P. 35-45.
255. Effects of nitric oxide and antioxidants on advanced glycation end products-induced hypertrophic growth in human renal tubular cells [Text] / J. S. Huang, L. Y. Chuang, J. Y. Guh, Y. J. Huang // *Tox. Sci.* – 2009. – Vol. 111, № 1. – P. 109-119.
256. Antioxidants attenuate high glucose-induced hypertrophic growth in renal tubular epithelial cells [Text] / J. S. Huang, L. Y. Chuang, J. Y. Guh [et al.] // *Amer. J. Physiol. Renal Physiol.* – 2007. – Vol. 293. – P. 1072-1082.
257. Choi, B. Effect of redox modulating NRF2 activators on chronic kidney disease [Text] / B. Choi, K. Kang, M. Kwak // *Molecules.* – 2014. – Vol. 19, № 8. – P. 12727-12759.

258. Szabo, C. Role of nitrosative stress in the pathogenesis of diabetic vascular dysfunction [Text] / C. Szabo // *Pharmacology*. – 2009. – Vol. 156. – P. 713-727.

259. Про- та антиоксидантна системи і патологічні процеси в організмі людини [Текст] / О. Г. Резніков, О. М. Полумбрик, Я. Г. Бальон, М. О. Полумбрик // *Вісн. НАН України*. – 2014. – № 10. – С. 17-29.

260. Fructosamine is a useful indicator of hyperglycaemia and glucose control in clinical and epidemiological studies – cross-sectional and longitudinal experience from the AMORIS cohort [Text] / H. Malmstrom, G. Walldius, V. Gril [et al.] // *PLOS ONE*. – 2014. – Vol. 9, № 10. – P. 1-9.

261. Knockout of the *TauT* gene predisposes C57BL/6 mice to streptozotocin-induced diabetic nephropathy [Text] / X. Han, A. B. Patters, T. Ito [et al.] // *PLOS ONE*. – 2015. – Vol. 10, № 1. – P. 1-13.