

properties is necessary.

References

- [1] Glocker, and I. Shah (editors), [Handbook of Thin Film Process Technology, Vol.1&2] Institute of Physics (2 vol. set) (2002).
- [2] Mahan, John E. [Physical Vapor Deposition of Thin Films] John Wiley & Sons, 110-118 (2000).
- [3] Ohring, Milton [Materials Science of Thin Films: Deposition and Structure, 2nd Edition] Academic Press, 232-237 (2002).

СЕЛЕНХРОМЛІПІДНИЙ КОМПЛЕКС З ХЛОРЕЛИ ЯК ЛІКУВАЛЬНО-ПРОФІЛАКТИЧНА СУБСТАНЦІЯ ЗА ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

Грубінко В.В.

*Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира
Гнатюка*

Останнім часом увагу науковців привертають фармацевтичні аспекти розробки та стандартизації препаратів біологічно активних речовин (БАР) рослинного, тваринного й мінерального походження, отриманих з натуральних продуктів. Значний інтерес становить використання БАР з водоростей, які є малотоксичними, діють м'яко та можуть використовуватися тривалий час.

Унікальні біохімічні складові водоростей здатні призупиняти розвиток цукрового діабету (ЦД), регулювати метаболізм при діабеті та його ускладненнях за рахунок впливу на обмін глюкози, збалансування ПОЛ. Завдяки комплексній терапії БАР з хімічними препаратами досягається стабілізація стану хворих, зменшення дози гіпоглікемічних засобів.

Ключова роль хрому полягає в регуляції метаболізму вуглеводів, оскільки Cr(III) є компонентом фактора толерантності до глюкози. Хром також бере участь підвищує імунітет, збільшує тривалість та якість життя хворих із ЦД. Поповнення цього мікроелемента аліментарним шляхом не завжди можливе, тому біологічно активні добавки (БАД), особливо водоростеві, до складу яких входить хром, знайшли широке застосування в клінічній практиці.

Селен є життєво необхідним мікроелементом, що забезпечує функціонування глутатіонпероксидази.

Отже, відтворення експериментальної моделі ЦД 2-го типу на тлі ожиріння та дослідження біологічної дії селенхромліпідного комплексу із хлорели має важливе значення для подальшого розуміння ролі БАД із водоростей у корекції метаболічного дисбалансу за цукрового діабету [1].

Метою роботи було вивчити особливості накопичення та вплив сполук хрому Cr(III) в комплексі із селеном Se(IV) на біосинтез і накопичення селенхромліпідного біологічно активного комплексу з ліпідами *Chlorella vulgaris* Beij., а також проаналізувати метаболічні реакції організму за дії ліпідного та селенхромліпідного комплексу із *Ch. vulgaris* у здорових щурів та на моделі цукрового діабету 2-го типу.

В експериментальних дослідженнях використано статевозрілі білі

безпородні щурі-самці з початковою масою 160–180 г. Тварин утримували в умовах віварію у відповідності до чинних положень.

Об'єктом досліджень була альгологічно чиста культура *Chlorella vulgaris* Beij. ССАР-211/11в, яку культивували на середовищі Фітцджеральда в модифікації Цендера і Горхема №11 (22–25°C, 2500 лк впродовж 16 год/добу). В умовах експерименту до культури водоростей додавали водний розчин натрію селеніту (Na_2SeO_3) у розрахунку на кількість йонів Se(IV) – 10,0 мг/дм³ (Vinjarska G.B et. al., 2014) та розчин $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ у розрахунку на вміст Cr(III) – 5,0; мг/дм³. Біомасу живих клітин відбирали на 7-му добу культивування. Контролем була культура, вирощена без додавання натрію селеніту та солі хрому.

Вміст селену визначали спектрофотометрично з о'-фенілєндіаміном, а хрому – за допомогою хромазурулу S. Ліпіди екстрагували сумішшю хлороформ-метанол (2:1) згідно та розділяли на класи методом одномірної тонкошарової хроматографії.

Досліджували біологічну активність ліпідного та селенхромліпідного комплексів, склад і структура яких встановлені методами тонкошарової хроматографії та мас-спектрометрії (рідинний хромато-мас-спектрометр Agilent 1200 SL/DAD/FD/MSD 6130; «Agilent Technologies», USA) на метаболізм у здорових щурів та з експериментальним цукровим діабетом 2-го типу.

При здійсненні експерименту на здорових щурах тварини було розділено на три групи. Контрольним щурам вводили внутрішньошлунково щоденно на протязі 14 діб 1 мл фізрозчину. Щурам другої групи вводили аналогічно ліпідну суспензію з хлорели на 1% крохмальному розчині, що містила 0,5 мг ліпідів в 1 мл суспензії, тваринам третьої групи – виділений із хлорели ліпідний комплекс, що містив 1,85 мкг селену, 1,1 мкг хрому і 0,5 мг ліпідів на 1 мл суспензії.

Цукровий діабет індукували шляхом відтворення моделі аліментарного ожиріння, яке здійснювали шляхом 4-тижневого призначення висококалорійної дієти з додаванням глутамату натрію (дієта #C 11024, Research Dietes, New Brunswick, NJ) з наступним одноразовим внутрішньоочеревинним введенням стрептозотоцину фірми «Sigma» (США), який вводили одноразово на цитратному буфері (65 мг/кг) та превентивно – нікотинамідом (230 мг/кг). Контрольним щурам вводили тільки цитратний буфер. Процес відтворення аліментарного ожиріння контролювали.

Для внутрішньошлункового введення щурам з ЦД наважку селенхромліпідного комплексу розчиняли в 1% водному розчині крохмалю, 1 мл якого у підсумку містив 0,6 мкг селену, 1,05 мкг хрому у 0,5 мг ліпідів [2]. Евтаназію тварин здійснювали під тіопенталовим наркозом.

Нами змодельована патологія у щурів та оцінено вплив селенхромліпідного комплексу порівняно з дією неорганічних сполук селену та хрому. Розвиток діабету підтверджували зростанням рівня глюкози в крові, наявністю глюкозурії та кетонів у сечі, ступенем толерантності до навантаження глюкозою, а також – за рівнем фруктозаміну в сироватці крові.

У щурів з експериментальним ЦД зростає вміст МСМ. При введенні селенхромліпідного комплексу відмічалось зниження показників загальної інтоксикації щодо показників ЦД (експериментальний цукровий діабет) у групах ЦД+Л (лікування упродовж 24 діб), ЦД+Л2 (лікування упродовж 36 діб), ЦД+П+Л (попереднє профілактичне введення 24 доби+лікування упродовж 36 діб) вміст МСМ1 знижується щодо групи ЦД відповідно на

9,9%, 5,6% та 22,5%, а вміст МСМ2 – зростає відповідно на 17,9%, 9% та 37,4%

Результати досліджень показали, що введення щурам в експерименті селенхромліпідної субстанції з хлорели знизило показники ендогенної інтоксикації в організмі тварин. Результати дослідження показали, що на 3 добу у тварин з експериментальним цукровим діабетом рівень глікемії зріс у 3,8 раза порівняно з контрольними тваринами та становив $(15,9 \pm 0,33)$ ммоль/дм³. З 14 доби рівень глюкози в крові знизився до $8,9 \pm 0,23$ ммоль/дм³ і до кінця спостереження майже не змінювався. Також у тварин з діабетом на 21 добу індукції ЦД спостерігалася істотне підвищення концентрації фруктозаміну в сироватці крові – в 1,9 раза (група ЦД), а на 35 день – в 1,7 раза, що свідчить про активацію процесів неензимного глікозилювання, а також про посилення метаболізації глюкози гексозаміновим шляхом в інсулінонечутливих тканинах. У здорових тварин глюкозурія не спостерігалася, після введення цитотоксину на 3–7 добу її концентрація становила до 0,5%, далі – 0,1%. Після 7 доби кетонових тіл в сечі не виявлено. Отримані результати свідчать про відсутність кетоацидозу. Проведений глюкозотолерантний тест показав, що у тварин з ЦД рівень глікемії через 2 години від моменту введення глюкози залишався вищим ніж 13 ммоль/дм³, що свідчить про порушення толерантності до глюкози у щурів та вказує на розвиток експериментальної патології.

За введення щурам селенхромліпідного комплексу у щурів групи ЦД+П відмічається зниження рівня глюкози в крові на 3,5%, фруктозаміну – на 9,6% порівняно з групою ЦД. У щурів груп ЦД+Л1, ЦД+Л2 та ЦД+П+Л1 рівень глікемії відносно групи ЦД знизився відповідно на 10%, 5,6% та 14,5%, а фруктозаміну – відповідно на 6,7%, 5,5% та 12,2%. За розвитку ЦД порушення обміну вуглеводів поєднуються з вираженими змінами у ліпідному обміні: збільшився вміст ЛПНЩ та холестеролу.

За введення щурам селенхромліпідного комплексу відмічається покращення ліпідного обміну – знизився вміст ЗХ та ЛПНЩ (на 18,6% та 7,1% відповідно у групі ЦД+П відносно групи ЦД1; на 21,8% та 19,4% у групі ЦД+Л1, на 7,5% та 6,5% у групі ЦД+Л2, на 19,5% та 19,4% у групі ЦД+П+Л1). Вміст ЛПВЩ зріс – у групі ЦД+П на 8,1% відносно групи ЦД1, а у групах ЦД+Л1 та ЦД+П+Л1 відносно групи ЦД2 відповідно на 2,7%, 5,4%, показники ЛПВЩ у групі ЦД+Л2 не змінилися.

Оскільки вплив на стан системи антиоксидантного захисту за умов ЦД є важливим напрямком у розробці терапевтичних засобів корекції діабетичних ускладнень, важливим етапом досліджень був аналіз впливу селенхромліпідного комплексу з *Ch. vulgaris* на ПОЛ печінки та сироватки крові щурів з моделлю ЦД 2-го типу.

Результати показали, що за умов експерименту у дослідних тварин достовірно зросли показники оксидативного стресу. За введення селенхромліпідного комплексу з профілактичною та лікувальною метою на фоні ЦД виявлено, що кількість АФК є лише на 20% більшою, ніж у здорових щурів, а використання комплексу впродовж 36 діб (ЦД+П+Л1) сприяло зниженню АФК на 13%.

Вміст ТБК-АП і ДК у щурів з ЦД виявився вдвічі більшим, ніж у контролі. За введення селенхромліпідного комплексу з профілактичною та лікувальною метою відмічається зниження у кількості як ТБК-АП, так і ДК щодо групи ЦД. Лікувально-профілактичне застосування субстанції зумовило найбільш позитивний ефект – кількість ТБК-АП зменшилася на 16% у сироватці крові та на 21% у печінці порівняно з показниками при ЦД, ДК

– відповідно на 17% та 8%. Введення неорганічних сумішей хрому і селену щурам також мало позитивний ефект.

Отримані дані вказують, що селенхромліпідний комплекс сприяє пригніченню ПОЛ у щурів з ЦД та виявляє ефективний вплив на окиснювальні процеси. За введення селенхромліпідного комплексу стабілізувався та покращився стан АОС тварин. Щодо активності каталази, то у сироватці крові у щурів з ЦД її значення було на 25–28% меншим, ніж у тварин контрольної групи. За введення селенхромліпідної субстанції щурам груп ЦД+Л, ЦД+П та ЦД+П+Л активність каталази у сироватці крові була практично в межах контрольних показників, а у печінці була на 12–16% вищою, ніж у тварин контролю.

За результатами досліджу активність СОД зменшилася у щурів з ЦД. При введенні субстанції з лікувальною метою активність СОД зросла у сироватці крові на 22%, у печінці на 11%, з лікувально-профілактичною метою – відповідно на 13% та на 20% порівняно з хворими тваринами. За введення неорганічної суміші селену і хрому активність ензиму збільшилася на 34% у сироватці крові та на 11% у печінці щодо щурів з ЦД.

Отримані результати показали, що у щурів введення селенхромліпідної субстанції з профілактичною і лікувально-профілактичною метою суттєво збільшує активності ГПО щодо щурів з ЦД: у тварин групи ЦД+П – на 31% у сироватці крові та на 70% у печінці, у щурів групи ЦД+П+Л відповідно на 45% та на 90%.

В експерименті відмічається зниження вмісту ВГ у щурів з ЦД. За введення селенхромліпідної субстанції за всіх умов досліджу спостерігається деяке підвищення вмісту ВГ у сироватці крові (в межах до 10%) порівняно з хворими тваринами. Так, при ЦД+Л1 – вміст ВГ у печінці щурів був на 19% більшим, ніж при ЦД, при ЦД+П та ЦД+Л+П – відповідно більшим на 28% і на 26%, при ЦД+Л2 – лише на 7%.

Загалом, виявлені зміни основних показників вуглеводного, ліпідного обмінів та окислативного статусу відповідають клінічній картині, що супроводжує розвиток цукрового діабету. Введення селенхромліпідного комплексу з хлорели з лікувальною та профілактичною метою за розвитку ЦД сприяє нормалізації обміну речовин та зниженню інтоксикаційного фону.

З результатів досліджень можна стверджувати, що використання селенхромліпідного комплексу, виділеного з хлорели, володіє набагато більшим терапевтичним ефектом при змодельованому ЦД і є ефективнішим порівняно з неорганічними сполуками. Отримані результати відкривають перспективу використання БАД з хлорели із вмістом хрому (III) та селену (IV) для зменшення розвитку патологічних процесів за діабету 2-го типу.

Література

1. Лукашів О.Я. Грубінко В.В. Аналіз селено- та хромовмісних сполук як перспективного класу біологічно активних добавок. «ScienceRise: Biological Science». 2017. № 5(8). С. 23–27.
2. Лукашів О.Я., Боднар О.І., Вінярська Г.Б., Грубінко В.В. Спосіб отримання біологічно активного селенхромліпідного комплексу з хлорели. Патент України 122227, Гру 26, 2017.