

ВПЛИВ ЦИТРАТУ ХРОМУ НА АНТИОКСИДАНТНИЙ ЗАХИСТ У ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНО ІНДУКОВАНИМ ДІАБЕТОМ

О. О. Сушко^{1,2}, Р. Я. Іскра¹, В. І. Приймич²
sushko.ola@gmail.com

¹Інститут біології тварин НААН,
вул. Стуса 38, м. Львів, 79034, Україна

²Львівський національний університет ветеринарної медицини
та біотехнологій імені С. З. Гжицького,
вул. Пекарська, 50, м. Львів, 79010, Україна

Досліджували активність антиоксидантної системи та рівень пероксидного окиснення ліпідів у печінці щурів з алоксан-індукованим діабетом та за впливу цитрату хрому, який вполювали тваринам протягом місяця в кількості 0,1 і 0,2 мкг/мл води. Цукровий діабет експериментально викликали внутрішньо-очеревинним введенням 5 % розчину моногідрату алоксану в кількості 150 мг/кг маси тіла. Діабет виявляли вимірюванням глюкози в крові, зібраної з хвостової вени. На 40-й день досліду після декапітації тварин було відібрано тканину печінки для досліджень.

У гомогенаті печінки щурів контрольної діабетичної групи встановлено вірогідне зростання вмісту гідропероксидів ліпідів та ТБК-активних продуктів. За вполювання цитрату хрому в кількості 0,1 мкг/мл вміст гідропероксидів ліпідів та ТБК-активних продуктів у печінці знижувався щодо їхнього рівня у тканині тварин діабетичної контрольної групи.

У печінці тварин контрольної діабетичної групи виявлено вірогідне зниження активностей каталази, супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази та вмісту відновленого глутатіону. Однак за впливу цитрату хрому в кількості 0,1 і 0,2 мкг/мл води показники нормалізувалися, а саме зростали активності каталази, супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази та збільшувався вміст відновленого глутатіону порівняно з їхніми рівнями у печінці тварин діабетичної контрольної групи.

Вірогідні зміни вмісту продуктів пероксидного окиснення ліпідів та активності ензимів антиоксидантної системи у печінці найкраще проявлялися за використання цитрату хрому в кількості 0,1 мкг/мл води. Ці показники свідчать про нормалізацію антиоксидантного захисту за впливу цитрату хрому у тканинах щурів з експериментально індукованим діабетом.

Ключові слова: ЩУРИ, ДІАБЕТ, АЛОКСАН, ПЕЧІНКА, АНТИОКСИДАНТНИЙ ЗАХИСТ, ПЕРОКСИДНЕ ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ

INFLUENCE OF CHROMIUM CITRATE ON ANTIOXIDANT DEFENSE IN THE LIVER OF RATS WITH EXPERIMENTALLY INDUCED DIABETES

О. О. Sushko^{1,2}, R. Ya. Iskra¹, V. I. Pryimych²
sushko.ola@gmail.com

¹Institute of animal biology NAAS,
38 V. Stusa str., Lviv 79034, Ukraine

²Lviv National University of the Veterinary Medicine
and Biotechnologies named after S. Z. Gzhysky,
50 Pekarska str, Lviv 79010, Ukraine

We have investigated the activity of the antioxidant system and the level of peroxide oxidation of lipids in the liver of rats with aloxane-induced diabetes and influence of chromium citrate, which was given to animals during one month in an amount of 0.1 and 0.2 mg/ml of water. Diabetes mellitus was experimentally induced by intraperitoneal injection of 5 % solution of alloxan monohydrate in an amount of 150 mg/kg body weight. Diabetes was detected by measuring glucose levels in blood collected from the tail vein. On the 40th day of the experiment, after the decapitation of the animals, the liver tissue for research was collected.

Content of lipid hydroperoxides and TBA-active products significantly increased in the rat liver homogenate of the control diabetic group. Content of lipid hydroperoxides and TBA-active products decreased in the liver

of rats watered by chromium citrate in the amount of 0.1 mg/ml compared to corresponding levels in the diabetic control group.

The activity of catalase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, glutathione reductase and the content of reduced glutathione significantly decreased in the liver of animals of the control diabetic group. However, under the effect of chromium citrate in the amount of 0.1 and 0.2 mg/ml of water those indications normalized, namely, the activity of catalase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase increased and the content of reduced glutathione increased, compared to their levels in the liver of animals in the diabetic control group.

Probable changes in the content of products of lipid peroxidation and the activity of enzymes in the antioxidant system in the liver are most noticeable when using chromium citrate in the amount of 0.1 mg/ml of water. These indexes show the normalization of antioxidant protection for the effects of chromium citrate in tissues of rats with experimentally induced diabetes.

Keywords: RATS, DIABETES, ALLOXAN, LIVER, ANTIOXIDANT DEFENSE, LIPID PEROXIDATION

ВЛИЯНИЕ ЦИТРАТА ХРОМА НА АНТИОКСИДАНТНУЮ ЗАЩИТУ В ПЕЧЕНИ КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО ИНДУЦИРОВАННЫМ ДИАБЕТОМ

О. О. Сушко^{1,2}, Р. Я. Искра¹, В. И. Приймич²
sushko.ola@gmail.com

¹Институт биологии животных НААН,
ул. В. Стуса, 38, г. Львов, 79034, Украина

²Львовский национальный университет ветеринарной медицины
и биотехнологий имени С. З. Гжицкого,
ул. Пекарская, 50, г. Львов, 79010, Украина

Исследовали активность антиоксидантной системы и уровень перекисного окисления липидов в печени крыс с аллоксан-индуцированным диабетом при воздействии цитрата хрома, который употребляли опытные животные в течение месяца в количестве 0,1 и 0,2 мкг/мл воды. Сахарный диабет экспериментально вызывали внутрибрюшинным введением 5 % раствора моногидрата аллоксана в количестве 150 мг/кг массы тела. Диабет определяли измерением глюкозы в крови, собранной из хвостовой вены. На 40-й день опыта после декапитации животных были отобраны образцы тканей печени для исследований.

В гомогенате печени крыс контрольной диабетической группы установлено достоверное повышение содержания гидроперекисей липидов и ТБК-активных продуктов. При условии выпаивания раствора цитрата хрома, в количестве 0,1 мкг/мл, содержание гидроперекисей липидов и ТБК-активных продуктов в печени снижалось относительно их уровня в ткани животных диабетической контрольной группы.

В печени животных контрольной диабетической группы установлено достоверное снижение активностей каталазы, супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы и содержания восстановленного глутатиона. Однако под влиянием цитрата хрома в количестве 0,1 и 0,2 мкг/мл воды эти показатели нормализовались, то есть возрастала активность каталазы, супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и увеличивалось содержание восстановленного глутатиона по сравнению с их уровнями в печени животных диабетической контрольной группы.

Достоверные изменения содержания продуктов перекисного окисления липидов и активности ферментов антиоксидантной системы в печени четче проявлялись при использовании цитрата хрома в количестве 0,1 мкг/мл воды. Данные показатели свидетельствуют о нормализации антиоксидантной защиты при воздействии цитрата хрома в тканях крыс с экспериментально индуцированным диабетом.

Ключевые слова: КРЫСЫ, ДИАБЕТ, АЛЛОКСАН, ПЕЧЕНЬ, АНТИОКСИДАНТНАЯ ЗАЩИТА, ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ

На сьогодні цукровий діабет (ЦД) досяг епідеміологічного порогу у всьому світі та є найпоширенішим ендокринним захворюванням, яке зустрічається в клінічній практиці. Захворювання характеризується гіперглікемією з по-

рушенням обміну вуглеводів, білків та ліпідів, у результаті дефектів секреції інсуліну та його дії. Захворювання може призвести до серйозних ускладнень — таких, як серцево-судинні та ниркові захворювання, сліпота й ампутація кінцівок.

Донедавна ЦД 2 типу вважався рідкісним захворюванням, а тепер на нього хворіють 10 % населення Землі [26]. У таких пацієнтів часто спостерігають порушення метаболізму макро- та мікроелементів [1]. Як відомо, деякі мікроелементи — такі, як Cr, Zn, V — можуть впливати на синтез, секрецію, вивільнення та механізм дії інсуліну [21].

Цукровий діабет 1 типу обумовлений генетичною схильністю та автоімунним ураженням клітин підшлункової залози, що є причиною недостатньої кількості інсуліну. Це може прискорити активацію поліолового шляху, синтез гексозаміну та активацію протеїну C, збільшення активних форм Оксигену (АФО) та кінцевих продуктів глікації [12]. Для цього типу діабету характерна поява основних симптомів, які швидко прогресують з часом.

Діабет — це захворювання, пов'язане зі зростанням оксидативного стресу та процесів пероксидного окиснення ліпідів. Відомо, що вільні радикали та АФО атакують клітинні мембрани і призводять до поширення пероксидації ліпідів. Є кілька потенційних джерел виробництва вільних радикалів при ЦД: автоокиснення глюкози у плазмі крові та активація лейкоцитів.

За розвитку ЦД одним з перших органів, які зазнають патологічних змін, є печінка, оскільки вона є фільтром, через який проходить вся кров; у ній руйнується інсулін. Тканини печінки чутливі до інсуліну, схильні до впливу оксидативного стресу, викликаного гіперглікемією, що може призвести до пошкодження тканин органа [16]. Поступово порушується білковий, вуглеводний та ліпідний обміни, що призводить до посилення оксидативного стресу і подальшого запуску низки запальних реакцій [20].

На сьогодні зростає інтерес до харчових добавок з потенційною гіпоглікемічною і гіполіпідемічною дією, які можуть використовуватися за лікування або профілактики діабету. Дослідники висловили припущення [9], що дефіцит Хрому може сприяти резистентності до інсуліну. Крім того, виявлена кореляція між ЦД 2 типу і низьким вмістом Хрому в сироватці крові [4]. Для інсуліну як гіпоглікемічного фактору необхідний Хром, оскільки він активує його рецептор [6]. Хром зв'язується з рецептором інсуліну, тим самим полегшує його чутливість та поси-

лює дію інсуліну стимуляцією активності тирозинкінази інсулінового рецептора [22]. Хром є біологічно активною складовою біомолекули хромодуліну, який відіграє важливу роль у функціонуванні сигнального шляху інсуліну, таким чином впливає на обмін вуглеводів та ліпідів [23]. Крім цього, Хром як метал зі змінною валентністю може ініціювати пероксидні процеси та підвищувати активність антиоксидантної системи [15]. Подвійна дія трьохвалентного хрому — як антиоксиданту, так і прооксиданту — може бути обґрунтована його здатністю брати участь в окисно-відновних процесах [7, 8].

Метою дослідження було встановити вплив цитрату хрому на активність антиоксидантної системи та процеси пероксидного окиснення ліпідів у тканині печінки діабетичних щурів.

Матеріали та методи

Дослідження проведені на 32 білих лабораторних щурах, які перебували в умовах віварію Інституту біології тварин НААН за 12-годинного циклу «світло/темрява». Всі тварини були клінічно здоровими, отримували стандартний гранульований корм для лабораторних щурів. Були відібрані щури масою тіла від 100 до 120 г, розділені на чотири групи: I група — контрольні тварини, II група — контрольні тварини з діабетом, III та IV — дослідні тварини. Щурам I та II груп давали чисту воду без добавок, а тваринам III та IV груп протягом місяця до питної води додавали розчин цитрату хрому в кількостях 0,1 і 0,2 мг/мл води. На 31-й день досліді у тварин II, III і IV груп на тлі 24-годинного голодування був викликаний цукровий діабет внутрішньоочеревинним введенням 5 % розчину моногідрат алоксану («Синбіас») у кількості 150 мг/кг маси тіла. Гіперглікемію виявляли вимірюванням глюкози крові, зібраної з хвостової вени, за допомогою портативного глюкометра («Gamma-M»). Динаміку зміни рівня глюкози проводили через 24 год після введення алоксану та впродовж 10 днів вранці перед годуванням тварин.

На 40-у добу досліджень тварин виводили з експерименту декапітацією за введення тіопенталу натрію. Експерименти на тваринах

проводили відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Матеріалом для дослідження були гомогенати тканини печінки. 10 % гомогенати готувати на 0,05 М трис-НСІ буфері, рН 7,8 (1 г тканини та 10 мл буферу). Концентрацію протеїну в гомогенатах тканини визначали за методом Лоурі [13]. В гомогенатах визначали вміст гідропероксидів ліпідів (ГПЛ) за методом, принцип якого полягає в осадженні протеїну розчином трихлороцтової кислоти та екстракцією ліпідів етанолом з наступною взаємодією досліджуваних екстрактів з тіоціанатом амонію [17]. Концентрацію ТБК-позитивних продуктів вимірювали за допомогою кольорової реакції малонового діальдегіду з тіобарбітуровою кислотою [10]. Супероксиддисмутазну активність (СОД) визначали за методом, принцип якого полягає у відновленні нітротетразолію супероксидними радикалами [3]. Глутатіонпероксидазну активність (ГПО) визначали за швидкістю окиснення відновленого глутатіону [19]. Каталазну активність (КТ) визначали за допомогою здатності пероксиду гідрогену утворювати з солями молібдену стійкий забарвлений комплекс [11]. Глутатіонредуктазну активність (ГР) визначали за швидкістю відновлення глутатіону за наявності NADPH [25]. Вміст відновленого глутатіону визначали за рівнем утворення тіонітрофенільного аніону в результаті взаємодії SH-груп глутатіону з 5,5-дитіобіс, 2-нітробензойною кислотою [25].

Одержані цифрові дані обробляли і опрацьовували статистично за допомогою комп'ютерного пакету програм *Microsoft Excel 2016*. Визначали середнє арифметичне значення та стандартну похибку середнього арифметичного. Для визначення вірогідних відмінностей між статистичними групами використовували критерій Стюдента.

Результати та обговорення

Використання експериментальних лабораторних тварин є одною з кращих стратегій

розуміння патофізіології будь-якого захворювання та розроблення препаратів лікування і профілактики. Одним із потужних засобів для індукування експериментального цукрового діабету є речовина алоксан. Алоксан як структурний аналог глюкози зв'язується з транспортером глюкози GLUT2 і накопичується у β -клітинах підшлункової залози [5]. Токсична дія алоксану на β -клітини підшлункової залози пов'язана з окисненням сульфідних груп (-SH-груп), гальмуванням глюкокінази, утворенням вільних радикалів і порушенням внутрішньоклітинного гомеостазу. У результаті редукції алоксану утворюється діурінова кислота, яка згодом повторно окиснюється до алоксану, встановлюючи окисно-відновний цикл для утворення АФО та супероксидних радикалів.

Експериментально було встановлено, що за дії алоксану у печінці тварин II групи активність ГП вірогідно знижувалася на 28,43 % (рис. 1). Глутатіонпероксидаза є важливим селенопротеїном, дисрегульована активність якого пов'язана з важкими патологіями, зокрема ожирінням та діабетом. Знижена активність ГП у печінці за умов ЦД може бути пов'язана з низьким вмістом глутатіону або інактивацією ензиму за сильного оксидативного стресу [18].

За вipoювання шурам розчину цитрату хрому в кількостях 0,1 і 0,2 мкг/мл води було відмічено зростання активності ГП, відповідно, на 26,69 та 20,47 % порівняно з контрольною діабетичною групою ($P < 0,1$).

За експериментально індукованого діабету у печінці тварин II групи активність глутатіонредуктази зменшувалася на 23,89 % ($P < 0,5$) порівняно з I групою (рис. 2). Це свідчить про пригнічення відновлення окисненого глутатіону за ЦД. Отримані результати дозволяють припустити, що у діабетичних шурів здатність зменшувати або інактивувати вільні радикали слабшає. Є безліч досліджень, які підтвердили зниження активності антиоксидатних печінкових ензимів за перебігу цукрового діабету [2, 14]. За вipoювання шурам розчину цитрату хрому активність ГР у печінці тварин III і IV груп вірогідно не змінювалась.

Відновлений глутатіон захищає клітини від окисного пошкодження, підтримує їх

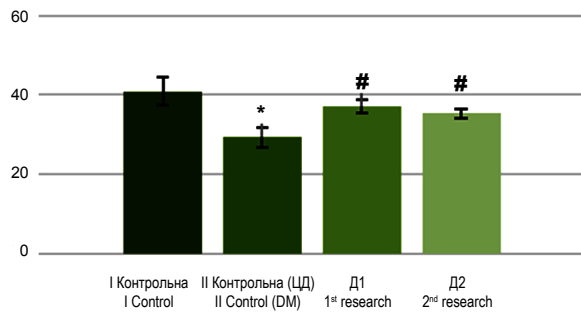


Рис. 1. Активність ГП у тканині печінки, мкмоль/хв×мг протеїну ($M \pm m$, $n=8$)
 Fig. 1. GPx activity in rats liver tissues, $\mu\text{mol}/\text{min} \times \text{mg}$ of protein ($M \pm m$, $n=8$)

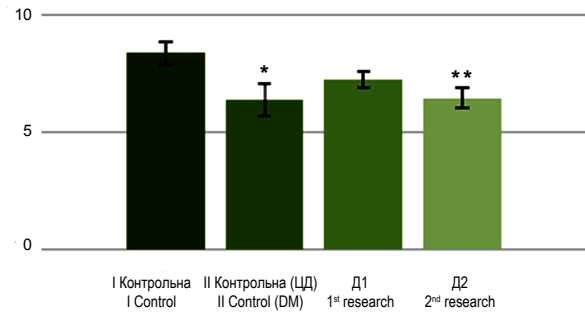


Рис. 2. Активність ГР у тканині печінки, мкмоль/хв×мг протеїну ($M \pm m$, $n=8$)
 Fig. 2. GR activity in rats liver tissues, $\mu\text{mol}/\text{min} \times \text{mg}$ of protein ($M \pm m$, $n=8$)

структурну та функціональну цілісність, а також зазнає змін у печінці діабетичних щурів. Вміст відновленого глутатіону в II групі вірогідно знижувався на 68,04 %, що свідчить про його інтенсивне споживання у реакціях детоксикації АФО за діабету (рис. 3).

Споживання щурами питної води з цитратом хрому в концентрації 0,1 мкг/мл води призводило до зростання рівня відновленого глутатіону у печінці тварин на 112,12 % ($P < 0,001$), а в концентрації 0,2 мкг/мл — на 63,64 % ($P < 0,025$) щодо контрольної діабетичної групи.

Також у печінці тварин II групи спостерігали зниження активності КАТ на 12,85 % і СОД — на 7,6 % щодо I групи ($P < 0,5$) (рис. 4, 5). Таке значне зниження активності ГП, КАТ та СОД у печінці діабетичних щурів можна інтерпретувати через перевиробництво АФО, що виснажувало активність цих ензимів. Це показує, що печінка є одним з органів, який найбільше страждає від оксидативного стресу за цукрового діабету.

Додавання до раціону цитрату хрому в кількості 0,1 мкг/мл зумовлювало зростання на 6,41 % активності СОД щодо контрольної діабетичної групи. Таким чином, покращення антиоксидантного статусу може бути пов'язане з підвищенням чутливості до інсуліну завдяки дії цитрату хрому.

Активність КАТ у гомогенаті печінки щурів III групи також зростала на 14,26 %, що підтверджує оптимальну дозу цитрату хрому 0,1 мкг/мл для нормалізації активності цього ензиму ($P < 0,5$).

Цитрат хрому як добавка стабілізує активність антиоксидантних ензимів. Очевид-

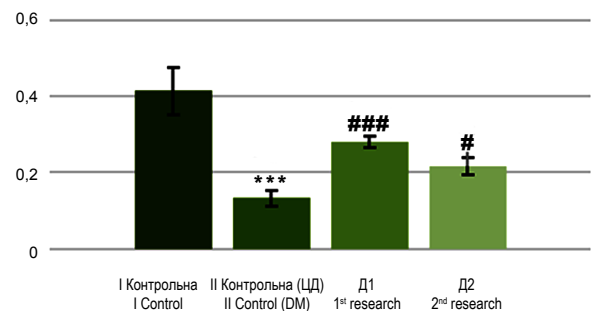


Рис. 3. Вміст ВГ у тканині печінки щурів, ммоль/мл ($M \pm m$, $n=8$)

Fig. 3. Content of GSH in rats liver tissues, mmol/ml ($M \pm m$, $n=8$)

Примітка: Тут і далі * — $P < 0,05$; ** — $P < 0,01$; *** — $P < 0,001$ — вірогідні показники II, III та IV груп щодо I групи; # — $P < 0,05$; ## — $P < 0,01$; ### — $P < 0,001$ — вірогідні показники III та IV груп щодо II групи.

Note: Here and onward * — $P < 0.05$; ** — $P < 0.01$; *** — $P < 0.001$ — the significant indicators of II, III and IV groups as compared to I group; # — $P < 0.05$; ## — $P < 0.01$; ### — $P < 0.001$ — the significant indicators of III and IV groups as compared to II group.

но, хром як посередник інсуліну має здатність збільшувати поглинання глюкози клітинами, а також посилює експресію синтезу антиоксидантних ензимів.

ПОЛ — це окиснювальна деградація ліпідів, яка відбувається під дією вільних радикалів і є однією з основних причин пошкодження клітинних мембран та подальшої загибелі клітин унаслідок впливу АФО. Цей процес регулює ліпідний склад біомембран і мембраноасоційованих ензимів, бере участь у синтезі лейкотрієнів, простагландинів, метаболізм катехоламінів та стероїдних гормонів, впливає на проникність мембран і транспорт речовин через них [24]. Порушення стабільного рівня ПОЛ може бути спричинене низкою

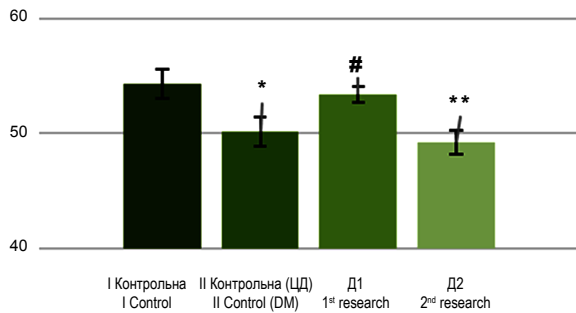


Рис. 4. Активність КАТ у тканині печінки, ммоль/хв×мг протеїну ($M \pm m$, $n=8$)
Fig. 4. CAT activity in rats liver tissues, μmol/min×mg of protein ($M \pm m$, $n=8$)

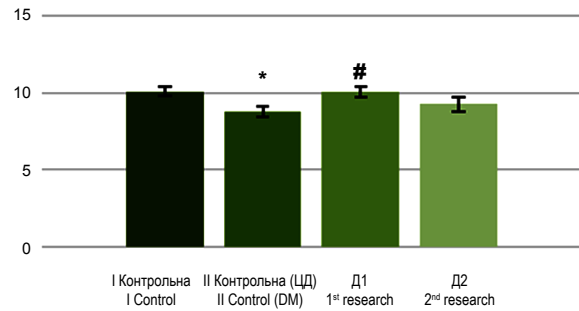


Рис. 5. Активність СОД у тканині печінки, ум. од./мг протеїну ($M \pm m$, $n=8$)
Fig. 5. SOD activity in rats liver tissues, SU/mg of protein ($M \pm m$, $n=8$)

причин, а саме надмірним синтезом продуктів ПОЛ, зниженням активності ензимів антиоксидантної системи, запобіганням пероксидації взаємодією АФО, впливом на склад біологічних мембран.

Формування ГПЛ та їхніх метаболітів є важливим в клінічній медицині, оскільки змінює структуру і функцію мембран. Встановлено зростання вмісту ГПЛ на 105,3 % внаслідок дії алоксану у печінці тварин II групи ($P < 0,001$). Вміст ГПЛ вірогідно зменшується при додаванні до питної води цитрату хрому кількістю 0,1 мг/мл на 30,52 % щодо II діабетичної групи ($P < 0,5$) (рис. 6).

ТБК-активні продукти утворюються в організмі при деградації поліненасичених

жирів під дією АФО. При перебігу ЦД у печінці тварин II групи вміст продуктів ПОЛ зростав на 57,18 % ($P < 0,001$). Відомо, що збільшення ТБК-активних продуктів відбувається при хронічних захворюваннях і є проявом ураження клітин (рис. 7).

Відмічено, що після випоювання шурам III групи цитрату хрому в концентрації 0,1 мг/мл води вміст ТБК-активних продуктів у печінці зменшувався на 18 % ($P < 0,05$) порівняно з II групою, однак зростав стосовно I (контрольної) групи на 29,92 % ($P < 0,025$). За випоювання цитрату хрому в концентрації 0,2 мг/мл відбувалося вірогідне зростання цього показника щодо контрольної групи на 40,43 %, однак відзначено незначне зниження щодо II групи.

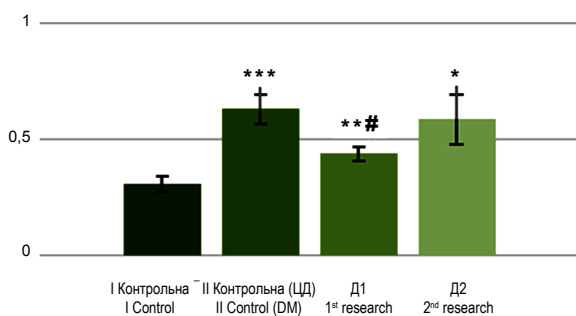


Рис. 6. Вміст ГПЛ у тканині печінки, ум.од./мл ($M \pm m$, $n=8$)
Fig. 6. Content of LHP in rats liver tissues, SU/ml ($M \pm m$, $n=8$)

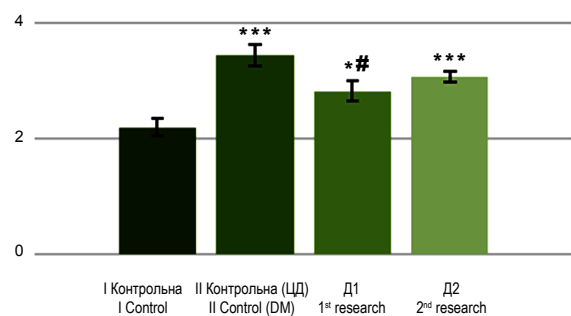


Рис. 7. Вміст ТБК-активних продуктів у тканині печінки шуриків, ммоль/мл ($M \pm m$, $n=8$)
Fig. 7. Content of TBA-active products in rats' liver tissues, mmol/ml ($M \pm m$, $n=8$)

Результати дослідження дозволяють стверджувати, що випоювання шурам цитрату хрому призводило до інгібування процесів ПОЛ та активації антиоксидантної системи у тканині печінки на тлі цукрового діабету.

Висновок

Антиоксидантний захист у тканині печінки шуриків з експериментальним діабетом змінювався — зменшувалися активності ензимів

ГП, ГР, КАТ, СОД, вміст ВГ на тлі зростання вмісту ГПЛ та ТБК-активних продуктів.

Введення до щоденного раціону тварин розчину цитрату хрому у концентраціях 0,1 і 0,2 мкг/мл спричиняє стабілізаційний вплив на антиоксидантний захист у тканині печінки діабетичних щурів.

Перспективи подальших досліджень.

Буде досліджено комплексний вплив цитрату хрому та ванадію на прооксидантно-антиоксидантні процеси у крові та тканинах щурів з експериментально індукованим діабетом. Також дослідити ліпідний склад плазми при впливі цитрату цих мікроелементів в організмі щурів з алоксановим діабетом.

1. Abou-Seif M. A., Youssef A. A. Evaluation of some biochemical changes in diabetic patients. *Clinica Chimica Acta*, 2004, vol. 346, issue 2, pp. 161–170. DOI: 10.1016/j.cccn.2004.03.030.

2. Ahmadvand H., Dehnoo M. G., Cheraghi R., Rasouljan B., Ezatpour B., Azadpour M., Baharvand K. Amelioration of altered serum, liver, and kidney antioxidant enzymes activities by sodium selenite in alloxan-induced diabetic rats. *Reports of Biochemistry and Molecular Biology*, 2014, vol. 3, no. 1, pp. 4–20.

3. Chevari S., Andyal T., Shtirenger D. Determination of the antioxidant properties of blood and their diagnostic value in old age. *Laboratory Work*, 1991, vol. 10, pp. 9–13. (in Russian)

4. Davies S., McLaren Howard J., Hunnisett A., Howard M. Age-related decreases in chromium levels in 51 665 hair, sweat, and serum samples from 40 872 patients: Implications for the prevention of cardiovascular disease and type II diabetes mellitus. *Metabolism*, 1997, vol. 46, issue 5, pp. 469–473. DOI: 10.1016/S0026-0495(97)90179-7.

5. Elsner M., Tiedge M., Guldbakke B., Munday R., Lenzen S. Importance of the GLUT2 glucose transporter for pancreatic beta cell toxicity of alloxan. *Diabetologia*, 2002, vol. 45, issue 11, pp. 1542–1549. DOI: 10.1007/s00125-002-0955-x.

6. Fairweather D., Rose N. R. Type 1 Diabetes: virus infection or autoimmune disease. *Nature Immunology*, 2002, vol. 3, pp. 338–340. DOI: 10.1038/ni0402-338.

7. Iskra R. Ya. Antioxidant system in the body by the action of rabbit chromium compounds. *Studia Biologica*, 2012, vol. 6, no. 1, pp. 77–86. (in Ukrainian) DOI: 10.30970/sbi.0601.201.

8. Iskra R. Ya., Vlizlo V. V. Peculiarities of antioxidant defense system in erythroid cells and tissues of pigs under action of chromium chloride. *The Ukrainian Biochemical Journal*, 2012, vol. 85, issue 3, pp. 96–102. DOI: 10.15407/ubj85.03.096. (in Ukrainian)

9. Jeejeebhoy K. N., Chu R. C., Marliss E. B., Greenberg G. R., Bruce-Robertson A. Chromium deficiency, glucose intolerance, and neuropathy reversed by chromium supplementation, in a patient receiving long-term total parenteral nutrition. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 1977, vol. 30, issue 4, pp. 531–538. DOI: 10.1093/ajcn/30.4.531.

10. Korobeinikova E. N. Modification of the LPO determination in the reaction with TBA. *Laboratory Work*, 1989, vol. 7, pp. 8–10. (in Russian)

11. Korolyuk M. A., Ivanova L. I., Maiorova I. G., Tokarev V. E. A method for measuring catalase activity. *Laboratory Work*, 1988, vol. 1, pp. 16–19. (in Russian)

12. Lin C. C., Huang H. H., Hu C. W., Chen B. H., Chong I. W., Chao Y. Y., Huang Y. L. Trace elements, oxidative stress and glycemic control in young people with type 1 diabetes mellitus. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 2014, vol. 28, issue 1, pp. 18–22. DOI: 10.1016/j.jtemb.2013.11.001.

13. Lowry O. H. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 1951, vol. 193, no. 1, pp. 265–275.

14. Lucchesi A. N., de Freitas N. T., Cassettari L. L., Marques S. F. G., Spadella C. T. Diabetes mellitus triggers oxidative stress in the liver of alloxan-treated rats: a mechanism for diabetic chronic liver disease. *Acta Cirurgica Brasileira*, 2013, vol. 28, no. 7, pp. 502–508. DOI: 10.1590/S0102-86502013000700005.

15. Lushchak O. V., Kubrak O. I., Torous I. M., Nazarchuk T. Y., Storey K. B., Lushchak V. I. Trivalent chromium induces oxidative stress in gold fish brain. *Chemosphere*, 2009, vol. 75, issue 1, pp. 56–62. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2008.11.052.

16. Manna P., Das J., Ghosh J., Sil P. C. Contribution of type 1 diabetes to rat liver dysfunction and cellular damage via activation of NOS, PARP, IkappaBalpha/NF-kappaB, MAPKs, and mitochondria-dependent pathways: Prophylactic role of arjunolic acid. *Free Radical Biology and Medicine*, 2010, vol. 48, issue 11, pp. 1465–1484. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.02.025.

17. Mironchik V. V. Method of determination of lipid hydroperoxides in biological tissues. Patent SU no. 1084681, 1984. (in Russian)

18. Mishra N., Singh N. Blood viscosity, lipid profile, and lipid peroxidation in type-1 diabetic patients with good and poor glycemic control. *North American Journal of Medical Sciences*, 2013, vol. 5, issue 9, pp. 562–566. DOI: 10.4103/1947-2714.118925.

19. Moin V. M. A simple and specific method for determining glutathione peroxidase activity in erythrocytes. *Laboratory Work*, 1986, vol. 12, pp. 724–727. (in Russian)

20. Palsamy P., Sivakumar S., Subramanian S. Resveratrol attenuates hyperglycemia-mediated oxidative stress, proinflammatory cytokines and protects hepatocytes ultrastructure in streptozotocin-nicotinamide-induced experimental diabetic rats. *Chemico-Biological Interactions*, 2010, vol. 186, issue 2, pp. 200–210. DOI: 10.1016/j.cbi.2010.03.028.

21. Praveena S., Pasula S., Sameera K. J. Trace elements in diabetes mellitus. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 2013, vol. 7, issue 9, pp. 1863–1865. DOI: 10.7860%2FJCDR%2F2013%2F5464.3335.

22. Vincent J. B. Is chromium pharmacologically relevant? *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 2014, vol. 28, issue 4, pp. 397–405. DOI: 10.1016/j.jtemb.2014.06.020.

23. Vincent J. B. Quest for the molecular mechanism of chromium action and its relationship to diabetes. *Nutrition Reviews*, 2000, vol. 58, issue 3, pp. 67–72. DOI: 10.1111/j.1753-4887.2000.tb01841.x.

24. Vladimirov Yu. A., Archakov A. I. *Peroxide oxidation of lipid in biological membranes*. Moscow, Nauka, 1972, 252 p. (in Russian)

25. Vlizlo V. V. (ed.), Fedoruk R. S., Ratych I. B. *Laboratory methods of research in biology, veterinary medicine. A guide*. Lviv, Spolom, 2012, 764 p. (in Ukrainian)

26. Wang N., Li T., Han P. The effect of tianmai xiaoke pian on insulin resistance through PI3-K/AKT signal pathway. *Journal of Diabetes Research*, 2016, Article ID 92612599261259, pp. 1–8. DOI: 10.1155/2016/9261259.