

**ЕКСТРАКТ ПЛОДІВ ДЕРЕНУ СПРАВЖНЬОГО (*CORNUS MAS* L.) СОРТІВ
‘YANTARNYI’ ТА ‘FLAVA’ ЯК ЧИННИК КОРЕКЦІЇ РІВНЯ МАРКЕРНИХ
ПОКАЗНИКІВ РОЗВИТКУ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ В ЛЕЙКОЦИТАХ
КРОВІ ЩУРІВ ЗІ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОЮ МОДЕЛЛЮ ЦУКРОВОГО
ДІАБЕТУ**

І. Бродяк*, Н. Сибірня

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: iryna.brodyak@lnu.edu.ua

І. Бродяк – <https://orcid.org/0000-0003-1157-2349>
Н. Сибірня – <https://orcid.org/0000-0002-9217-3931>

Одне із важливих джерел отримання біологічно активних компонентів для розробки нових антидіабетичних препаратів – це рослинна сировина. Перспективними серед таких рослин є представники роду *Cornus*. Плоди найпоширенішого в Україні виду *Cornus mas* L. вживають у їжу і використовують у народній медицині. Із плодів дерену отримують екстракти з високим вмістом біологічно активних речовин. Екстракти можуть стати альтернативною терапією за цукрового діабету, адже введення їх у щоденний раціон сприяє профілактиці цього захворювання й уникненню ускладнень. Важливою біомедичною проблемою за цукрового діабету є дисбаланс усіх обмінів речовин і розвиток оксидативного стресу, які призводять до супутніх інфекційно-запальних захворювань. Запобігти розвитку супутніх ускладнень можна способом нормалізації функціональної активності лейкоцитів крові. Тому метою цієї роботи було дослідити рівень маркерних показників, які характеризують ступінь розвитку оксидативного стресу, в лейкоцитах крові щурів зі стрептозотоксин-індукованим ЦД за перорального введення екстракту плодів дерену справжнього сортів ‘Yantarnyi’ та ‘Flava’ у дозі 20 мг/кг маси тіла упродовж 14 днів.

Проведено дослідження впливу екстракту плодів дерену справжнього сортів ‘Yantarnyi’ та ‘Flava’ на активність прооксидантного ензиму мілопероксидази, інтенсивність перекисного окиснення ліпідів, формування альдегідо- та кетопохідних окисної модифікації білків, накопичення кінцевих продуктів окисації білків і концентрацію відновленого глутатіону в лейкоцитах периферичної крові щурів за діабет-асоційованого оксидативного стресу. Встановлено, що екстракт плодів дерену пригнічує оксидативний

стрес, про що свідчить підвищення концентрації відновленого глутатіону, зниження вмісту ТБК-активних продуктів і окисно-модифікованих білків до значень у контрольній групі. У лейкоцитах крові екстракт нормалізував концентрацію кінцевих продуктів окисації білків. За введення екстракту підвищувалася активність мієлопероксидази в лейкоцитах крові щурів із діабетом і знижувалася активність цього ензиму у плазмі крові.

Нормалізація біомаркерів окисативного стресу в лейкоцитах крові щурів зі стрептозототин-індукованим діабетом вказує на антиоксидантні властивості екстракту плодів дерену справжнього сортів 'Yantarnyi' та 'Flava', стиглі плоди якого містять значну кількість іридоїдів, фенольних кислот і флавонолів. Одержані результати свідчать про перспективність використання екстракту як компонента антидіабетичних препаратів із антиоксидантною дією.

Ключові слова: стрептозототин-індукований цукровий діабет, лейкоцити, маркерні показники окисативного стресу, екстракт плодів дерену справжнього сортів 'Yantarnyi' та 'Flava', антиоксидантна активність

Останніми десятиліттями як кількість випадків, так і поширеність цукрового діабету (ЦД) неухильно зростають [20]. Ключовою проблемою цього захворювання є дисбаланс усіх обмінів речовин і розвиток супутніх інфекційно-запальних захворювань [24]. За діабету на тлі хронічної гіперглікемії порушується структурно-функціональний стан імунокомпетентних клітин крові, що є причиною активації імунних процесів. Клінічні дослідження людей, хворих на діабет, і дослідження з використанням експериментальних щурів та мишей з індукованим ЦД як моделі захворювання демонструють значні дефекти у хемотаксисі лейкоцитів, порушення фагоцитарної й антибактеріальної активностей цих клітин [18, 22].

За гіперглікемії та, як наслідок, високої концентрації глюкози в інсулінонезалежних тканинах, зокрема, в клітинах крові, посилюється утворення вільних радикалів – активних форм кисню (АФО: $O_2^{\bullet-}$, $HO^{\bullet}$, H_2O_2 , $HOCl$). Вільні радикали індукують перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ), спричиняють модифікацію білків і пошкодження ДНК, провокуючи розвиток окисативного стресу [13, 22]. За інтенсивного окисативного стресу змінюється проникність і плинність мембран клітин, що впливає на процес транспорту сполук крізь мембрану [12, 23]. На фоні зниження активності антиоксидантної системи захисту вільні радикали порушують третинну, вторинну та первинну структуру білків, що призводить до зміни або втрати функціональної активності (рецепторної, регуляторної, транспортної, каталітичної та ін.), агрегації або ж фрагментації білкових молекул [1].

До біомаркерів окисативного стресу належать продукти ПОЛ (малоновий діальдегід (МДА) і реактивні гідропероксиди) й окисно-модифіковані білки (ОМБ), що представлені карбонільованими протеїнами ($-C=O$) та кінцевими продуктами окисації білків (англ. advanced oxidation protein products – AOPPs). Карбонільовані похідні утворюються внаслідок окисного розщеплення білків, амідування або окиснення бічних R-груп. Кінцеві продукти окиснення білків формуються у реакції між хлоровмісними окисниками (хлораміни, гіпохлоритна кислота $HClO$) і білками. Гіпохлоритна кислота в живих організмах утворюється в реакції, яку каталізує прооксидантний ензим мієлопероксидаза (МПО). Цей ензим виділяється з гранул активованих нейтрофільних гранулоцитів, моноцитів і макрофагів у місцях запалення. Отже, активність МПО та пов'язаний із нею

рівень АОРРPs є біохімічними маркерними показниками запальних і патологічних процесів вільнорадикального характеру [14]. Окиснені білки стають джерелом вільних радикалів, виснажуючи запас антиоксидантів і спричиняючи деструкцію інших молекул (ліпідів, ДНК) клітини, що на молекулярному рівні є причиною розвитку та прогресування діабету [1, 21].

Щоб уникнути розвитку оксидативного стресу, структурних пошкоджень і супутніх важких ускладнень за діабету, важливою є нормалізація функціональної активності лейкоцитів крові [18]. Особливу увагу приділяють антидіабетичним препаратам, які містять природні антиоксиданти, здатні запобігати надмірному утворенню АФО або ж виступати їхніми скавенджерами. Біологічно активні речовин рослин, які застосовують в антидіабетичній терапії, знешкоджують вільні радикали завдяки здатності “гасити” електронно-збудженні молекули [5]. Окрім того, біоактивні сполуки здатні зменшувати утворення гідропероксидів і АФО через модуляцію активності про- й антиоксидантних ензимів [12]. Зокрема, поліфеноли посилюють ендогенну антиоксидантну систему, запобігаючи окиснювальному пошкодженню білків і ліпідів [4].

Кількісне визначення біомаркерних показників оксидативного стресу дає змогу оцінити ефективність дії сполук із антиоксидантними властивостями [10]. З огляду на це, вивчення властивостей і механізму впливу екстрактів плодів дерену справжнього (*Cornus mas* L.), які містять значну кількість біоактивних сполук (антоціани, іридоїди, фенольні кислоти і флавоноли) [9], на функціональний стан клітин крові та їхній антиоксидантний статус за гіперглікемії дасть змогу схарактеризувати перспективу використання цих фітопрепаратів як дієтичних допоміжних засобів у терапії ЦД. Тому метою роботи було дослідити рівень маркерних показників, які характеризують ступінь розвитку оксидативного стресу, в лейкоцитах крові щурів зі стрептозотоцин-індукованим ЦД за перорального введення екстракту плодів дерену справжнього сортів ‘Yantarnyi’ (BDPA 14131) та ‘Flava’ (BDPA 8795).

Матеріали та методи

Дослідження проводили на самцях білих щурів лінії Wistar, яких утримували у стандартних умовах віварію з дотриманням міжнародних норм гуманного поводження з лабораторними тваринами та вимог статті 26 Закону України “Про захист тварин від жорстокого поводження”. Тваринам забезпечували вільний доступ до стандартного корму та води з 12-годинним циклом світло/темрява, температурою 22 ± 2 °C і вологістю 60 ± 5 % у приміщенні. Біоетичну експертизу дослідів, проведених на біологічному факультеті Львівського національного університету імені Івана Франка, оформлено протоколом № 57-02-2026 від 16.02.2026 р.

Після двох тижнів адаптації ЦД індукували одноразовим внутрішньоочеревинним введенням стрептозотоцину у дозі 55 мг/кг маси тіла. Стрептозотоцин розчиняли в 10 мМ цитратному буфері за рН 4,5. Через 72 год після ін’єкції стрептозотоцину забирали зразки крові з хвостової вени та глюкозооксидазним методом вимірювали концентрацію глюкози у крові (аналітичний ензиматичний набір REF № HP009.02 “Філісіт-Діагностика”, Дніпро, Україна). З інтактних щурів із рівнем глюкози від 3,5 до 5,0 мМ було сформовано контрольну групу (n=6). Серед щурів із гіперглікемією (12–14 мМ) було сформовано дві експериментальні групи (n=6 у кожній групі). Одна група тварин із ЦД упродовж 14-ти днів раз на добу перорально через зонд отримувала 1 мл питної води, а друга – екстракт плодів дерену сортів ‘Yantarnyi’ та ‘Flava’ у дозі 20 мг/кг маси тіла. Кожен щур контрольної групи в аналогічних умовах через зонд отримував 1 мл води. Кількість і тривалість введення

екстракту базувалася на наших попередніх дослідженнях [9]. Методи приготування екстракту, компонентного аналізу та визначення кількості біологічно активних речовин у складі екстракту ультраефективною рідинною хроматографією в поєднанні з мас-спектрометрією (UPLC-qTOF-MS/MS; HPLC-PDA) описано в роботі Dzydzan et al. [9].

В останній день експерименту (24-й день від моменту індукції діабету) щурів усіх груп декапітували під ефірним наркозом і відбирали зразки крові з додаванням гепарину для уникнення коагуляції (співвідношення гепарин : кров становило 1 : 100). Із крові виділяли лейкоцити способом центрифугування на градієнті густини фікол-тріомбразт ($\rho = 1,076\text{--}1,078$). Потім клітини тричі промивали холодним ($4\text{ }^{\circ}\text{C}$) фосфатно-сольовим буфером (137 mM NaCl, 2,7 mM KCl, 10 mM $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$, 1,8 mM KH_2PO_4 , pH 7,4). Лейкоцити ($2,5 \cdot 10^6$) лізували у 150 мкл буфера, який містив 0,5 % Triton X-100, 100 mM KCl, 5 mM MgCl_2 , 2 mM EGTA, 25 mM Tris (pH 7,5) і коктейль інгібіторів протеаз (Sigma, США). Лізати лейкоцитів центрифугували за 10 600 g упродовж 10 хв ($4\text{ }^{\circ}\text{C}$) для видалення клітинних залишків. Супернатанти збирали та використовували для визначення вмісту біохімічних маркерних показників, що характеризують ступінь розвитку оксидативного стресу. Вміст білка в лізатах лейкоцитів визначали за методом Лоурі [19].

Вміст відновленого глутатіону (GSH) визначали за використання 5,5'-дитіобіс-2-нітробензойної кислоти (реактив Елмана) [6]. До лізату лейкоцитів додавали 0,36н H_2SO_4 , перемішували й інкубували 10 хв за кімнатної температури для осадження білків. Додавали 10 % розчин натрій вольфрамату й центрифугували (15 300 g, 10 хв). До отриманого супернатанту додавали 2 М *трис*-HCl буфер (pH 8,4), ацетон і реактив Елмана. Вимірювали оптичну густину забарвленого продукту жовтого кольору на спектрофотометрі EPOCH (BioTek, США) за $\lambda = 412$ нм. Для розрахунку використовували молярний коефіцієнт екстинкції для нітробензоат-іона ($\epsilon = 14150\text{ M}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$). Концентрацію GSH виражали в нмоль/мг білка.

Визначення вмісту ОМБ нейтрального й основного характеру ґрунтувалося на взаємодії альдегідних і карбонільних груп аліфатичних залишків амінокислот з 2,4-динітрофенілгідразином з утворенням білково-кон'югованих 2,4-динітрофенілгідразонів з характерним спектром поглинання за $\lambda = 370$ нм (ОМБ нейтрального характеру) та за $\lambda = 430$ нм (ОМБ основного характеру) [8]. До лізату лейкоцитів додавали 0,85 % розчин натрій хлориду, 0,1 М 2,4-динітрофенілгідразин і 10 % розчин трихлороцтової кислоти (ТХО). Інкубували 1 год за температури $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, а згодом центрифугували (960 g, 10 хв). Отриманий осад тричі промивали 5 % розчином ТХО та додавали 8 М розчин сечовини. Проби інкубували для повного розчинення осаду за температури $100\text{ }^{\circ}\text{C}$. Екстинкції проб вимірювали за $\lambda = 370$ та $\lambda = 430$ нм на спектрофотометрі EPOCH (BioTek, США). Вміст ОМБ нейтрального й основного характеру обчислювали з використанням коефіцієнтів молярної екстинкції ($\epsilon = 22000\text{ M}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$ та $\epsilon = 16800\text{ M}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$, відповідно). Вміст ОМБ виражали в мкмоль/мг білка.

Визначення концентрації кінцевих продуктів оксидації білків (AOPPs) [27]. До лізату лейкоцитів додавали фосфатно-сольовий буфер (pH 7,4), 1,16 М розчин калій йодиду й оцтову кислоту. Вимірювали оптичну густину реакційної суміші за $\lambda = 340$ нм на спектрофотометрі EPOCH (BioTek, США). Для розрахунку AOPPs будували калібрувальний графік, використовуючи розчин хлораміну-Т (0–100 мкМ). Вміст AOPPs виражали в нмоль/г білка.

Вміст ТБК-активних продуктів визначали з використанням методу, який ґрунтується на процесі активації перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) іонами Fe^{2+} [26]. До лізату

лейкоцитів додавали 10 мМ K^+-Na^+ фосфатний буфер (pH 7,4), 1 мМ калій перманганат, 10 мМ $FeSO_4$ й інкубували 10 хв, після чого знову додавали 10 мМ $FeSO_4$. Реакцію утворення продуктів ПОЛ зупиняли додаванням 20 % розчину ТХО. Зразки центрифугували (960 g, 15 хв), відбирали супернатант, вносили 1 н HCl та 0,7 % розчин тіобарбітурової кислоти (ТБК). Після інкубації (100 °C, 20 хв) різко охолоджували та вимірювали екстинкцію забарвленого комплексу за $\lambda = 532$ нм на спектрофотометрі Epoch (BioTek, США). Для розрахунку використовували молярний коефіцієнт екстинкції ($\epsilon = 156000 \text{ M}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$). Результати виражали в пмоль/млн клітин.

Визначення активності МПО у лейкоцитах периферичної крові та плазмі проводили згідно з методом, описаним Krawisz et al. [17]. До інкубаційної суміші (50 мМ фосфатний буфер (pH 5,4–6,0), о-діанізидин, 3 % розчин H_2O_2) додавали лізат лейкоцитів (або плазму крові), ресуспендували та негайно вимірювали оптичну густину проб за $\lambda = 450$ нм на спектрофотометрі Epoch (BioTek, США). Після вимірювання екстинкції суміш інкубували (37 °C, 10 хв) і знову фотометрували. Для розрахунку використовували молярний коефіцієнт екстинкції о-діанізидину ($\epsilon = 11300 \text{ M}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$). Результати виражали в нмоль H_2O_2 / хв на 1 мг білка.

Обчислення основних статистичних показників проводили на основі прямих кількісних даних, отриманих під час досліджень. Для оцінки ймовірності різниці між статистичними характеристиками двох альтернативних наборів даних користувалися однофакторним дисперсійним аналізом (ANOVA 1) за допомогою програми Microsoft Excel 2023. Дані представляли у форматі середніх значень (M) $\pm$ стандартне відхилення (m). Різницю між групами вважали статистично значущою, якщо значення $p \geq 0,05$ (рівень значущості $P < 0,05$), обчислену у програмі StatPlus із подальшим post-hoc аналізом.

Результати і їхнє обговорення

За ЦД в умовах хронічної гіперглікемії надмірне утворення АФО спричиняє окиснення біологічних макромолекул (ліпідів, білків, нуклеїнових кислот), зумовлюючи структурно-функціональні зміни в цих сполуках. За окиснення ліпідів формуються гідропероксиди, які згодом піддаються фрагментації з утворенням широкого спектру реакційноздатних проміжних продуктів: акролеїну, 4-гідроксиноненалу, 4-оксононеналу, малонового діальдегіду (МДА) та ін. [15]. Зважаючи на те, що ліпопротеїни та структурні ліпіди біологічних мембран клітин є головними мішенями АФО, то для оцінки ступеня ПОЛ аналізують вміст МДА на основі його взаємодії з ТБК. Рівень ТБК-активних продуктів у лейкоцитах крові був підвищеним в 1,3 раза у групі щурів із ЦД порівняно з контрольними щурами (рис. 1А). Екстракт плодів дерену справжнього сприяв достовірному зниженню (у 1,5 раза) вмісту ТБК-активних продуктів у лейкоцитах крові щурів порівняно з діабетичними щурами, які не отримували екстракт (рис. 1А). Отже, біологічно активні сполуки екстракту обумовлюють ефективний захист ліпідів мембран від перекисного окиснення. Варто зазначити, що у результаті проведеного якісного та кількісного аналізу цих сполук у складі екстракту було ідентифіковано іридоїди (логанова кислота, сверозид, логанін, секоксиллоганін, корнузид, сумарний вміст яких в екстракті становить 88 %), фенольні кислоти (вісім гідроксикоричних кислот і гідроксibenзойна кислота, які становлять 9 % маси екстракту) та флавоноли (три похідні кверцетину – 3 % у складі екстракту) [9].

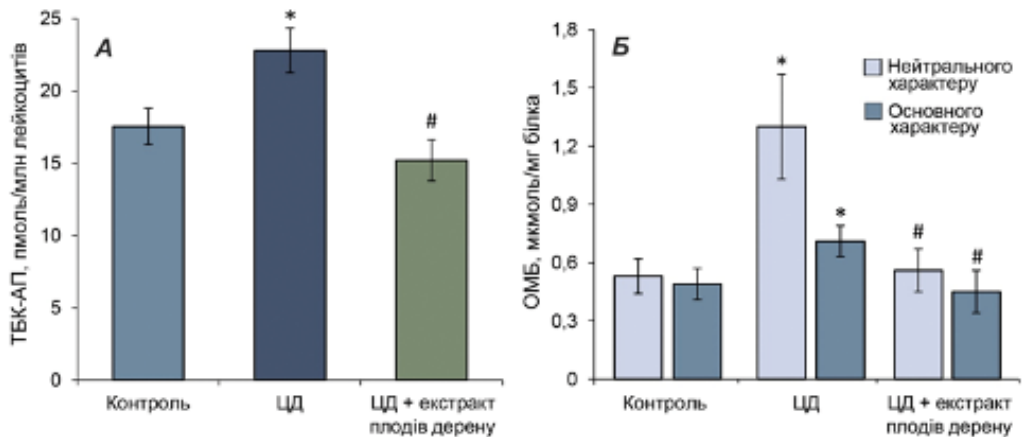


Рис. 1. Вплив екстракту плодів дерену справжнього сортів 'Yantarnyi' та 'Flava' на вміст ТБК-активних продуктів (ТБК-АП, А) і концентрацію окисно модифікованих білків (ОМБ) нейтрального й основного характеру (Б) в лейкоцитах крові діабетичних тварин (* – різниця вірогідна порівняно з контролем, $P < 0,05$; # – різниця вірогідна порівняно з ЦД, $P < 0,05$)

За оксидативного стресу реакційноздатні АФО реагують зі залишками аліфатичних амінокислот із формуванням кето- й альдегідпохідних білків. Унаслідок такої окисної модифікації змінюються ключові фізико-хімічні та біологічні властивості білків, зокрема, гідрофобність, ізоелектрична точка, термостабільність, протеолітична чутливість, ензиматична активність. Інтенсивність ОМБ визначається особливостями амінокислотного складу білків. Акцепторними групами, які здатні перехоплювати електрони, взаємодіючи з АФО, і утворювати аніон-радикали, є сульфгідрильні, дисульфідні, карбонільні, карбоксильні групи й аміногрупи білків. Найчастіше карбонілюванню піддаються такі амінокислоти як цистеїн, треонін, лізин, пролін, аргінін і гістидин [14]. Продукти, утворені за безпосереднього окиснення R-груп амінокислотних залишків білків (реакція первинного карбонілювання білків), реагують з 2,4-динітрофенілгідразином, утворюючи гідразони, що є важливим для їхньої детекції [8]. Нами виявлено підвищення вмісту ОМБ нейтрального й основного характеру в 2,4 та 1,4 раза, відповідно, у лейкоцитах крові щурів за ЦД (рис. 1Б). За введення екстракту плодів дерену вміст ОМБ нейтрального характеру знизився на 57 % (рис. 1Б), а ОМБ основного характеру – на 37 % (рис. 1Б).

Іншим біомаркером окисного ушкодження білків, що виникає за оксидативного стресу і посилює запальні процеси в організмі, є АОРРs. Важливу роль в утворенні АОРРs відіграє МПО – ензим азурофільних гранул поліморфноядерних лейкоцитів, який задіяний у O_2 -залежному антимікробному захисті під час реалізації вроджених ефекторних реакцій. За спонтанної чи стимульованої активації фагоцити зазнають дегрануляції, яка супроводжується вивільненням МПО або всередину фаголізосом, або в позаклітинний простір. Тому важливо було дослідити активність МПО та рівень АОРРs у лейкоцитах крові щурів за введення екстракту плодів дерену. Експериментально встановлено, що активність МПО та рівень АОРРs у лейкоцитах периферичної крові щурів із ЦД знижуються на 50 % та 39 %, відповідно, порівняно з контрольною групою (рис. 2А і 2Б). Водночас у тварин з діабетом активність МПО у плазмі крові зростала на 91 % (рис. 2Б). Відомо, що під час запальних процесів рівень МПО у крові підвищується. Це обумовлено

впливом різних стимулювальних факторів на лейкоцити або ж їхнім раптовим лізісом. Отже, отримані нами результати можуть свідчити про посилення процесу спонтанної дегрануляції лейкоцитів, яка зумовлена метаболічними та функціональними змінами в цих клітинах крові за ЦД [18]. Окрім того, було встановлено взаємозв'язок між активністю МПО й рівнем глікемії. Зокрема, зниження активності МПО в лейкоцитах крові хворих на ЦД корелює з підвищенням відсоткового вмісту глікованого гемоглобіну (HbA1c) [28].

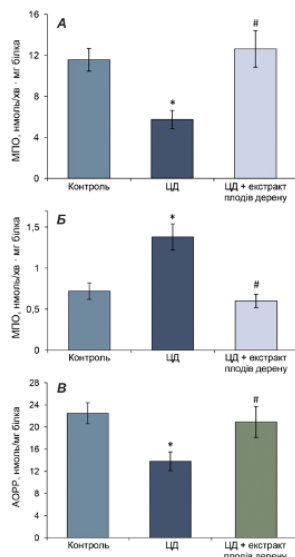


Рис. 2. Зміна активності мієлопероксидази (МПО) в лейкоцитах (А) і плазмі (Б) та вмісту АОРРс (В) в лейкоцитах крові щурів зі стрептозотоцин-індукованим ЦД за введення екстракту плодів дерену справжнього сортів 'Yantarnyi' та 'Flava' (* – різниця вірогідна порівняно з контролем, $P < 0,05$; # – різниця вірогідна порівняно з ЦД, $P < 0,05$)

За введення екстракту плодів дерену справжнього сортів 'Yantarnyi' та 'Flava' тваринам із ЦД спостерігали підвищення активності МПО у 2,2 раза в лейкоцитах крові (рис. 2А) та зниження активності цього ензиму (на 56 %) у плазмі крові (рис. 2Б). Зростання активності МПО в лейкоцитах може бути пов'язано як з гіпоглікемічним ефектом біоактивних речовин цього екстракту [9], так і зі зменшенням інтенсивності вивільнення цього ензиму у кровоплин. Як наслідок, вміст АОРРс у лейкоцитах крові діабетичних тварин, яким вводили екстракт, підвищувався до контрольних значень (рис. 2В). Зростання активності МПО та нормалізація вмісту АОРРс у лейкоцитах за діабету ми можемо пояснити не лише гіпоглікемічними [9], а й антиоксидантними [25] властивостями біоактивних сполук екстракту плодів дерену справжнього. Посилення антиоксидантного статусу лейкоцитів могло сприяти пригніченню процесу дегрануляції та вивільнення МПО в позаклітинну рідину (зокрема, у кров) та, як наслідок, зниження активності ензиму в плазмі крові.

Під час детоксикації вільнорадикальних сполук функціонування природних антиоксидантних механізмів базується на залученні GSH як донора гідрогену в окисно-відновних реакціях. Відновлений глутатіон як низькомолекулярний антиоксидант є одним із ключових показників, що характеризує інтенсивність розвитку внутрішньоклітинного оксидативного стресу. Згідно з одержаними результатами, концентрація цього природного

антиоксиданта в лейкоцитах щурів зі стрептозотоцин-індукованим ЦД знижена на 28 % (рис. 3). Введення тваринам із ЦД екстракту плодів дерену справжнього сортів 'Yantarnyi' та 'Flava' зумовило зростання вмісту GSH у лейкоцитах крові на 33 % (рис. 3). Зниження концентрації GSH за діабету може бути зумовлене кількома чинниками. За гіперглікемії зміни у структурі та функціональній активності білків ланцюга транспорту електронів мітохондрій призводять до надмірного утворення АФО та розвитку оксидативного стресу. За цих умов відбувається виснаження пулу GSH та порушення редокс-балансу між відновленим і окисненим глутатіоном (GSH/GSSG) [18]. Оскільки для відновлення глутатіону за участі глутатіонредуктази необхідний кофактор НАДФН + H⁺, то від його концентрації залежатиме швидкість цієї enzymатичної реакції. Проте відомо, що за діабету інтенсифікація поліолового шляху перетворення глюкози на сорбітол призводить до конкурування між альдозоредуктазою та глутатіонредуктазою за відновлений НАДФ⁺, що призводить до виснаження його вмісту [7]. Ще одним чинником зниження пулу GSH за ЦД може бути зміна функціонування глутатіонредуктази. Порушення активності цього enzymу й інших enzymів антиоксидантної системи захисту може бути наслідком прямого впливу АФО на білкову молекулу [25].

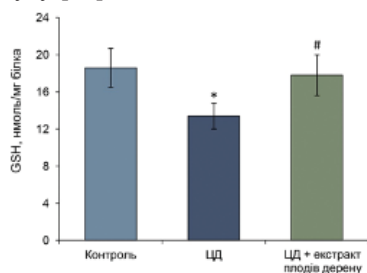


Рис. 3. Вміст відновленого глутатіону в лейкоцитах периферичної крові контрольних щурів, щурів зі стрептозотоцин-індукованим ЦД та за введення екстракту плодів дерену справжнього сортів 'Yantarnyi' та 'Flava' (* – різниця вірогідна порівняно з контролем, $P < 0,05$; # – різниця вірогідна порівняно з ЦД, $P < 0,05$)

Екстракт плодів дерену справжнього сортів 'Yantarnyi' та 'Flava' виявив антиоксидантний ефект, підвищуючи концентрацію GSH (рис. 3) та знижуючи вміст маркерних показників оксидативного стресу в лейкоцитах периферичної крові (рис. 1 і 2). Ми припускаємо, що антиоксидантний потенціал екстракту пов'язаний зі здатністю глікозидів кверцетину та кемпферолу, на вміст яких у його складі припадає 3 % [9], безпосередньо знешкоджувати АФО. Окрім того, флавоноли є природними інгібіторами прооксидантних enzymів (НАДФН-оксидаза, ліпоксигеназа, циклооксигеназа, монооксигеназа, ксантинооксидаза) [3, 11]. Антиоксидантні сполуки (флавоноли й іридоїди, зокрема, логанова кислота, логанін, секоксилоганін, сферозид і корнузид [9]) проявляють свої властивості за допомогою різних механізмів: перенесенням атома гідрогену й електрона, здатністю хелатувати метали змінної валентності. Варто зазначити, що логанова кислота безпосередньо виконує роль скавенджера вільних радикалів [2]. Іншим механізмом антиоксидантної дії іридоїдних глікозидів на клітинному рівні може бути вплив на експресію прозапальних цитокінів. Встановлено, що за експериментального діабету ці сполуки пригнічують експресію генів інтерлейкіну-6, фактора некрозу пухлин- α та С-реактивного білка в клітинах печінки [16]. Оскільки запалення й оксидативний стрес є взаємопов'язаними процесами, то зниження рівня прозапальних цитокінів

супроводжуватиметься зниженням концентрації АФО.

Введення екстракту плодів дерену справжнього сортів 'Yantarnyi' та 'Flava' запобігає розвитку оксидативного стресу в лейкоцитах крові щурів із ЦД, що проявлялось у підвищенні концентрації відновленого глутатіону, зниженні інтенсивності процесів перекисного окиснення ліпідів і окисної модифікації білків.

Біологічно активні речовини екстракту, підвищуючи антиоксидантний потенціал лейкоцитів, пригнічують вивільнення МПО у кров, про що свідчить зростання її активності в лейкоцитах і зниження у плазмі. Це супроводжується нормалізацією рівня кінцевих продуктів оксидації білків у лейкоцитах діабетичних тварин.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Подяка. Автори висловлюють щире подяку професорці Алісії Кухарській (A. Z. Kucharska) з кафедри технології фруктів, овочів і рослинних нутрицевтиків Вроцлавського університету природничих наук (м. Вроцлав, Польща) за підготовку екстракту плодів дерену справжнього та визначення вмісту біологічно активних сполук.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Abdelazim M., Abomughaid M. M. Oxidative stress: an overview of past research and future insights // *All Life*. 2024. Vol. 17. P. 2316092. <https://doi.org/10.1080/26895293.2024.2316092>
2. Abirami A., Sinsinwar S., Rajalakshmi P. et al. Antioxidant and cytoprotective properties of loganic acid isolated from seeds of *Strychnos potatorum* L. against heavy metal induced toxicity in PBMC model // *Drug and Chemical Toxicology*. 2019. P. 1–11. <https://doi.org/10.1080/01480545.2019.1681445>
3. Banjarnahor S. D. S., Artanti N. Antioxidant properties of flavonoids // *Med. J. Indones*. 2015. Vol. 23. P. 239–244. <https://doi.org/10.13181/mji.v23i4.1015>
4. Blagojević B., Agić D., Serra A. T. et al. An in vitro and in silico evaluation of bioactive potential of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) extracts rich in polyphenols and iridoids // *Food Chem*. 2021. Vol. 335. P. 127619. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127619>
5. Chaachouay N., Zidane L. Plant-derived natural products: a source for drug discovery and development // *Drugs and Drug Candidates*. 2024. Vol. 3. P. 84–207. <https://doi.org/10.3390/ddc3010011>
6. Chakravarty S., Rizvi S. I. Day and night GSH and MDA levels in healthy adults and effects of different doses of melatonin on these parameters // *Int. J. Cell Biol*. 2011. Vol. 2011. P. 404591. <https://doi.org/10.1155/2011/404591>
7. Darmaun D., Smith S. D., Sweeten S. et al. Evidence for accelerated rates of glutathione utilization and glutathione depletion in adolescents with poorly controlled type 1 diabetes // *Diabetes*. 2005. Vol. 54. P. 190–196. <https://doi.org/10.2337/diabetes.54.1.190>
8. Demkovych A., Bondarenko Y., Hasiuk P. A. Oxidative modification of proteins in the process of experimental periodontitis development // *Interv. Med. Appl. Sci*. 2017. Vol. 9. P. 218–221. <https://doi.org/10.1556/1646.9.2017.28>
9. Dzydzan O., Bila I., Kucharska A. Z. et al. Antidiabetic effects of extracts of red and yellow fruits of cornelian cherries (*Cornus mas* L.) on rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus // *Food Funct*. 2019. Vol. 10. P. 6459–6472. <https://doi.org/10.1039/C9FO00515C>
10. Dzydzan O., Brodyak I., Sokół-Łętowska A. et al. Loganic acid, an iridoid glycoside extracted from *Cornus mas* L. fruits, reduces of carbonyl/oxidative stress biomarkers in plasma and

- restores antioxidant balance in leukocytes of rats with streptozotocin-Induced diabetes mellitus // *Life*. 2020. Vol. 10. P. 349. <https://doi.org/10.3390/life10120349>
11. *Francenia Santos-Sánchez N., Salas-Coronado R., Villanueva-Cañongo C., Hernández-Carlos B.* Antioxidant compounds and their antioxidant mechanism. In E. Shalaby (Ed.). *Antioxidants*. IntechOpen, 2019. <https://doi.org/10.5772/intechopen.85270>
 12. *Ghasemi-Dehnoo M., Amini-Khoei H., Lorigooini Z., Rafieian-Kopaei M.* Oxidative stress and antioxidants in diabetes mellitus // *Asian Pac. J. Trop. Med.* 2020. Vol. 13. P. 431–438. <https://doi.org/10.4103/1995-7645.291036>
 13. *González P., Lozano P., Ros G., Solano F.* Hyperglycemia and oxidative stress: an integral, updated and critical overview of their metabolic interconnections // *Int. J. Mol. Sci.* 2023. Vol. 24. P. 9352. <https://doi.org/10.3390/ijms24119352>
 14. *Gryszczyńska B., Formanowicz D., Budzyń M.* et al. Advanced oxidation protein products and carbonylated proteins as biomarkers of oxidative stress in selected atherosclerosis-mediated diseases // *BioMed Res. Int.* 2017. Vol. 2017. P. 1–9. <https://doi.org/10.1155/2017/4975264>
 15. *Ito F., Sono Y., Ito T.* Measurement and clinical significance of lipid peroxidation as a biomarker of oxidative stress: oxidative stress in diabetes, atherosclerosis, and chronic inflammation // *Antioxidants*. 2019. Vol. 8. P. 72. <https://doi.org/10.3390/antiox8030072>
 16. *Kang J., Guo C., Thome R.* et al. Hypoglycemic, hypolipidemic and antioxidant effects of iridoid glycosides extracted from *Corni fructus*: Possible involvement of the PI3K–Akt/PKB signaling pathway // *RSC Advances*. 2018. Vol. 8. P. 30539–30549. <https://doi.org/10.1039/C8RA06045B>
 17. *Krawisz J. E., Sharon P., Stenson W. F.* Quantitative assay for acute intestinal inflammation based on myeloperoxidase activity. Assessment of inflammation in rat and hamster models // *Gastroenterol.* 1984. Vol. 87. P. 1344–1350.
 18. *Kuchurka O. M., Chaban M. O., Dzydzan O. V.* et al. Leukocytes in type 1 diabetes mellitus: the changes they undergo and induce // *Studia Biologica*. 2022. Vol. 16. P. 47–66. <https://doi.org/10.30970/sbi.1601.674>
 19. *Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J.* Protein measurement with the Folin phenol reagent // *J. Biol. Chem.* 1951. Vol. 193. P. 265–275.
 20. *Magliano D., Boyko E. J.* Diabetes Atlas: 11th Ed. International Diabetes Federation: Brussels, 2025.
 21. *Mertoglu C., Siranli G., Coban T. A.* et al. The role of protein oxidation in the development of diabetic microvascular complications // *North. Clin. Istanbul*. 2021. Vol. 8. P. 500–506. <https://doi.org/10.14744/nci.2021.33341>
 22. *Mouri Mi., Badireddy M.* Hyperglycemia. In *StatPearls*; StatPearls Publishing: Treasure Island (FL), 2026.
 23. *Osman A. A. M., Seres-Bokor A., Ducza E.* Diabetes mellitus therapy in the light of oxidative stress and cardiovascular complications // *J. Diabetes Complicat.* 2025. Vol. 39. P. 108941. <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2024.108941>
 24. *Sapra A., Bhandari P.* Diabetes. In *StatPearls*; StatPearls Publishing: Treasure Island (FL), 2026.
 25. *Seniv M. B., Dzydzan O. V., Brodyak I. V.* et al. Antioxidant effect of extract of yellow fruits of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) in rats' leukocytes under streptozotocin-induced diabetes mellitus // *Studia Biologica*. 2021. Vol. 15. P. 15–26. <https://doi.org/10.30970/sbi.1501.645>
 26. *Strugała P., Dzydzan O., Brodyak I.* et al. Antidiabetic and antioxidative potential of the blue congo variety of purple potato extract in streptozotocin-induced diabetic rats // *Molecules*. 2019. Vol. 24. P. 3126. <https://doi.org/10.3390/molecules24173126>

27. Taylor E. L., Armstrong K. R., Perrett D. et al. Optimisation of an advanced oxidation protein products assay: its application to studies of oxidative stress in diabetes mellitus // *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2015. Vol. 2015. P. 496271. <https://doi.org/10.1155/2015/496271>
28. Unubol M., Yavasoglu I., Kacar F. et al. Relationship between glycemic control and histochemical myeloperoxidase activity in neutrophils in patients with type 2 diabetes // *Diabetol. Metab. Syndr.* 2015. Vol. 7. P. 119. <https://doi.org/10.1186/s13098-015-0115-3>

Стаття надійшла до редакції 20.05.26

доопрацьована 17.06.26

прийнята до друку 19.06.26

FRUIT EXTRACT OF CORNELIAN CHERRY (*CORNUS MAS* L.) OF THE 'YAN-TARNYI' AND 'FLAVA' CULTIVARS AS A FACTOR FOR THE CORRECTION OF OXIDATIVE STRESS BIOMARKERS IN BLOOD LEUKOCYTES OF RATS WITH A STREPTOZOTOCIN-INDUCED MODEL OF DIABETES MELLITUS

I. Brodyak, N. Sybirna

Ivan Franko National University of Lviv

4, Hrushevskiy St., Lviv 79005, Ukraine

e-mail: istryna.brodyak@lnu.edu.ua

One of the important sources of biologically active compounds for the development of novel antidiabetic agents is plant-derived raw material. Among these, representatives of the genus *Cornus* are considered particularly promising. The most widespread species in Ukraine is *Cornus mas* L., the fruits of which are consumed as food and widely used in traditional medicine. Cornelian cherry fruits are a valuable source of extracts rich in biologically active substances. Such extracts may serve as an alternative therapeutic approach for diabetes mellitus, as they can be incorporated into the daily diet for disease prevention and for reducing the risk of diabetic complications.

A major biomedical challenge associated with diabetes mellitus is the imbalance of metabolic processes and the development of oxidative stress, which contribute to the occurrence of concomitant infectious and inflammatory disorders. Prevention of these complications may be achieved through the normalization of the functional activity of blood leukocytes. Therefore, the aim of this study was to investigate the levels of biomarkers characterizing oxidative stress development in blood leukocytes of rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus following oral administration of fruit extract of *Cornus mas* L. cultivars 'Yantarnyi' and 'Flava' at a dose of 20 mg/kg body weight for 14 days.

The effects of the cornelian cherry fruit extract on the activity of the pro-oxidant enzyme myeloperoxidase, lipid peroxidation intensity, the formation of aldehyde and ketone derivatives of oxidative protein modification, the accumulation of advanced oxidation protein products, and the concentration of reduced glutathione were evaluated in peripheral blood leukocytes of rats under

diabetes-induced oxidative stress. The fruit extract were found to suppress oxidative stress, as evidenced by increased levels of reduced glutathione and decreased concentrations of thiobarbituric acid-reactive substances (TBA-RS) and oxidatively modified proteins to values comparable with those of the control group. In blood leukocytes, the extract also normalized the levels of advanced oxidation protein products. Administration of the extracts increased myeloperoxidase activity in leukocytes of diabetic rats while decreasing its activity in blood plasma.

The normalization of oxidative stress biomarkers in blood leukocytes of rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus indicates the antioxidant properties of fruit extract from *Cornus mas* L. cultivars 'Yantarnyi' and 'Flava', whose ripe fruits contain substantial amounts of iridoids, phenolic acids, and flavonols. The obtained results demonstrate the potential of this extract as components of antidiabetic preparations with antioxidant activity.

Keywords: streptozotocin-induced diabetes mellitus, blood leukocytes, oxidative stress biomarkers, cornelian cherry (*Cornus mas* L.) fruit extract of the 'Yantarnyi' and 'Flava' cultivars, antioxidant activity