

БІОХІМІЯ

УДК: 612:616-092

doi:10.25128/2078-2357.19.1.3

О.І. ГОРИН, Г.І. ФАЛЬФУШИНСЬКА

Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка
вул. М. Кривоноса, 2, Тернопіль, 47028
e-mail: falfushynska@tnpu.edu.ua

ЕКСТРАКТ МОМОРДІКИ ПРИГНІЧУЄ ОКИСНИЙ СТРЕС ТА ЗБІЛЬШУЄ ГЕМОЛІТИЧНУ СТІЙКІСТЬ ЕРИТРОЦИТІВ КОРОПА ЗА ВПЛИВУ ГЛЮКОЗИ

Вважають, що включення у схему лікування цукрового діабету фітоекстрактів та природних антиоксидантів може оптимізувати результати терапевтичного втручання. Відтак, метою даного дослідження було встановити вплив момордіки *Momordica charantia* у формі рослинного екстракту та синтезованого фітокомплексу на основі нано-цинк оксиду, а також сполук цинку на інтенсивність гемолізу та показники системи окисного стресу еритроцитів коропа *Cyprinus carpio* за умови їх експозиції в присутності високої концентрації глюкози *in vitro*. Як свідчать одержані результати, за впливу глюкози в еритроцитах зростає кількість продуктів окисного ушкодження ліпідів та протеїнів, порушується баланс системи антиоксидантного захисту, а також збільшується концентрація метилгліоксалу та швидкість гемолізу. За додаткового впливу сполук цинку та фітоекстракту гіркої дині були виявлені ознаки специфічної відповіді молекулярних та клітинних систем щодо різних чинників. Зокрема, цинк піколінат, за окремими винятками, істотно не впливав на досліджувані параметри, тоді як наночастинки ZnO поглиблювали ефекти, спричинені дією глюкози. Момордіка у формі рослинного екстракту та, особливо, у формі синтезованого шляхом зеленого синтезу ZnO-фітокомплексу сприяла зниженню інтенсивності пероксидації ліпідів та протеїнів, глутатіонтрансферазної активності, швидкості гемолізу і концентрації метилгліоксалу, а також збільшенню каталазної активності і глутатіону до базального рівня. Одержані результати вказують на необхідність подальших досліджень антигіперглікемічної активності момордіки та встановлення механізмів її дії.

Ключові слова: *Momordica charantia*, зелений синтез, наночастинки цинк оксиду, фітокомплекс, окисний стрес, гемоліз

Цукровий діабет, відповідно до звітів ВООЗ та ООН, за темпами поширення випереджає відомі неінфекційні захворювання та належить до переліку найбільш небезпечних сучасних викликів світовій спільноті [19, www.who.int]. Зокрема, за останні 20 років кількість нововиявлених випадків діабету зросла майже втричі (з 130 млн у 1990 році до 366 млн в 2011 р) і, більше того, темпи експансії діабету постійно зростають. Істотно, також, збільшується частка населення з метаболічним синдромом і предіабетом (порушеною толерантністю до глюкози): вже зараз у світі їх нараховується більше 500 млн осіб. Від діабету у світі кожних 7 секунд помирає 1 хворий, а кожних 10 секунд на супутні патології хворіють 12 чоловік (www.who.int).

Вважають, що діабет та хронічна гіперглікемія супроводжується глікацією протеїнів, посиленням утворенням активних форм кисню та окисним стресом, які в свою чергу детермінують глибину патологічних змін та супутні патології, насамперед серцево-судинні захворювання [5, 6, 10, 16, 19]. Активні форми кисню беруть участь у регуляції сигналіну інсуліну та визначають розвиток резистентності до нього, яка є одним з ключових факторів ризику за діабету 2 типу [16]. Також, потенційно, через глікацію протеїнів, радикали можуть змінювати структуру та модулювати функції антиоксидантних ензимів, що, в свою чергу, може призводити до швидких і незворотних деструктивних змін як на клітинному, так і на організменному рівні організації біосистем.

З давніх часів лікарські рослини використовувалися для лікування діабету в альтернативних аюрведичних і китайських системах медицини. Відповідно до фармакоеконічного аналізу, найбільш використовуваною у світових масштабах на сьогодні є момордіка (гірка диня) *Momordica charantia*, яка вважається «золотим стандартом» БАД, що володіють гіпоглікемічним та гіполіпемічним ефектами [3, 11, 14]. Разом з тим дані стосовно впливу момордіки на тваринні моделі, окрім гризунів, практично відсутні [14]. Також, обмеженим є визначуваний набір маркерів, який, переважно, включає показники фізіологічного статусу організму або вуглеводного обміну.

Відтак, становило інтерес дослідити вплив екстракту *M. charantia* на ключові показники окисного стресу у еритроцитах коропа, як альтернативної моделі для дослідження механізмів та наслідків гіперглікемії. Ефективність використання даного модельного організму було нами продемонстровано у попередніх роботах [15, 21]. Також, зважаючи на те що діабет може супроводжуватися гіпоцинкемією та гіперциркурією, та збагачення дієти хворих сполуками цинку може забезпечувати переваги у терапії діабету та супутніх патологій [4], екстракт момордіки шляхом зеленого синтезу був збагачений наночастиною цинк оксиду. Зазначене дослідження може становити практичний інтерес з погляду пошуку біодоступної форми цинку для корекції метаболічних захворювань.

Матеріал і методи досліджень

Для дослідження відбирали екземпляри коропа звичайного *Cyprinus carpio* (17–19 см довжиною і масою 270–320 г) зі ставів рибного господарства, розташованого у референційній місцевості на Тернопільщині. Рибу доставляли в лабораторію у 50 л резервуарах з аерованою водою. Експерименти проводилися відповідно до національних та локальних рекомендацій з охорони тварин та відповідно до протоколу Комітету з біоетики Тернопільського національного педагогічного університету імені В. Гнатюка (№ 3 від 03.12.2018). Після 7 днів акліматизації до лабораторних умов, у коропа, під впливом анестетика, з серця відбирали цільну кров. Еритроцити виділяли шляхом градієнтного центрифугуванням цільної крові при $1000 \times g$ протягом 15 хв. Після відмивання від лейкоцитарної фракції еритроцити ресуспендували до 10% гематокриту у стерильному інкубаційному середовищі (90,5 мМ NaCl, 3 мМ KCl, 1,3 мМ CaCl₂, 0,5 мМ MgSO₄, 5 мМ глюкози, 1 мМ пірувату, 1 мМ трис-HCl, pH 7,4), стабілізованому гентаміцин сульфатом.

Досліджували ефект цинк піколінату (77 мкмоль), наночастинок ZnO (Sigma) (77 мкмоль), комерційного препарату екстракту плодів *Momordica charantia* (10 мг/мл) і синтезованого методом зеленого синтезу ZnO-фіто комплексу. З цією метою відбирали 25 мл 2,25% комерційного рослинного екстракту і нагрівали до 60-80 С. Потім додавали 10% розчин цинк сульфату, і суміш упарювали до стану темно-жовтої пасти. Після цього отриману субстанцію прожарювали в керамічній посудині при 200 °С протягом 2 хвилин [18]. Отриманий світло-жовтий порошок нано-ZnO-грав'яного комплексу використовували для експозиції.

Тривалість інкубації суспензії еритроцитів із доданками при 20 °С становила 48 год. Клітини крові контрольної групи утримували в 5 мМ розчині глюкози, тоді як еритроцити експериментальних груп – у 40 мМ глюкози та з одночасним внесенням в інкубаційне середовище фітоекстракту та сполук цинку. Досліджена концентрація глюкози знаходиться в діапазоні, апробованому в попередніх дослідженнях на коропових рибах [15, 17].

Каталазну активність [КФ 1.11.1.6] визначали у зразках гемолізату за методом Аєбі [1], який ґрунтується на розкладі гідроген пероксиду каталазою зразка. Досліджувана суміш

містила аліквоту гемолізату у 50 мМ К-фосфатному буфері, рН 7,0 за присутності 15 мМ H_2O_2 в загальному об'ємі 3,0 мл. Реакцію ініціювали додаванням відповідного об'єму досліджуваної проби і вимірювали поглинання при 240 нм з 60-секундним інтервалом. Ензиматичну активність обчислювали за мілімолярним коефіцієнтом світлопоглинання гідроген пероксиду ($\epsilon = -0,04 \text{ мМ}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$) і виражали в мкмоль/(10^6 клітин \times хв).

Перекисне окиснення ліпідів визначали в гемолізаті після обробки зразку трихлороцтовою кислотою в кінцевій концентрації 30% та характеризували за продуктами взаємодії з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК) – ТБК-активними продуктами (ТБК-АП) [12]. Інтенсивність абсорбції хромогену визначали при 532 нм. Концентрацію ТБК-АП визначали з використанням молярного коефіцієнту екстинкції $1,56 \times 10^5 \text{ М}^{-1} \text{ см}^{-1}$ і виражали у нмоль ТБК-АП/ 10^6 клітин.

Концентрацію карбонільних похідних протеїнів (КПП) як маркера окисної деструкції протеїнів, вимірювали в осаді аліквоти гемолізату, попередньо обробленого трихлороцтовою кислотою, шляхом реакції з 2,4-динітрофенілгідразином [12]. Концентрацію карбонільних похідних визначали з використанням молярного коефіцієнту екстинкції $2,1 \times 10^4 \text{ М}^{-1} \text{ см}^{-1}$ при 370 нм і виражали у мкмоль КПП/ 10^6 клітин.

Вміст загального глутатіону у гемолізаті визначали після повного відновлення глутатіону за допомогою глутатіонредуктази (*Sigma, США*) з використанням реактиву Елмана [2]. Реєстрували рівень 5-тіонітобензойної кислоти спектрофотометрично при 412 нм. Концентрацію глутатіону визначали за калібрувальною кривою, побудованою з використанням відновленого глутатіону (*Sigma, США*) та виражали як мкмоль ТНБ/ 10^6 клітин. Активність глутатіонтрансферази [КФ 2.5.1.18] визначали спектрофотометрично за утворенням адуктів 1-хлоро-2,4-динітробензену із глутатіоном з використанням молярного коефіцієнту екстинкції забарвленого комплексу $\epsilon_{340} = 9.6 \text{ мМ}^{-1} \text{ см}^{-1}$ [9].

Ступінь гемолізу визначали після центрифугування зразків еритроцитів при $5000 \times g$ протягом 10 хв. Концентрацію гемоглобіну в супернатанті реєстрували при 540 нм. За 100% лізису приймали значення супернатанту зразка клітин крові контрольної групи після повного гемолізу еритроцитів шляхом замороження/розмороження. Ступінь гемолізу в досліджуваних зразках розраховували відносно зразка з контрольним гемолізатом [21].

Метилглюксаль вимірювали в аліквоті гемолізату шляхом реакції з 0,2 мМ 2,4-динітрофенілгідразином [7] та визначали концентрацію з використанням молярного коефіцієнту екстинкції $3,36 \times 10^4 \text{ М}^{-1} \text{ см}^{-1}$ при 432 нм і виражали у мкмоль/ 10^6 клітин.

Результати вимірів подані у вигляді $M \pm SD$ для 8 зразків крові. Якщо дані згідно тесту Колмогорова-Смірнова не були нормально розподілені, їх трансформували з використанням методу Вох-Сох. Вірогідність відмінності двох рядів параметричних даних обчислювали з використанням *t*-тесту Стьюдента. Вірогідно вважали відмінність між рядами за $p < 0,05$. Аналіз біологічних параметрів здійснювали, використовуючи комп'ютерні програми Statistica v 12.0 та Excel для Windows-2013.

Результати досліджень та їх обговорення

Експозиція еритроцитів коропа за присутності підвищеної концентрації глюкози викликала збільшення вмісту ТБК-АП та карбонільних похідних протеїнів (Рис. 1) на тлі істотного зменшення каталазної активності та концентрації загального глутатіону (Рис. 2). Також збільшувався вміст метилглюксалу, як активного дикарбонільного метаболіту, що утворюється переважно в процесі розпаду глюкози [5], та інтенсивність гемолізу (Рис.1).

Поєднана експозиція еритроцитів з підвищеним вмістом глюкози та цинк піколінату і наноксиду дозволила виявити різні моделі клітинної відповіді на додатковий чинник ($F > 10,2$, $p < 0,01$). Якщо цинк піколінат не викликав помітних змін визначуваних показників за окремими винятками, то наноцинк оксид поглиблював зміни, викликані дією глюкози, а саме посилював процеси окисного ушкодження ліпідів і протеїнів, сприяв гострій активації каталази і викликав ще більш помітне збільшення вмісту метилглюксалу (рис. 1, 2).

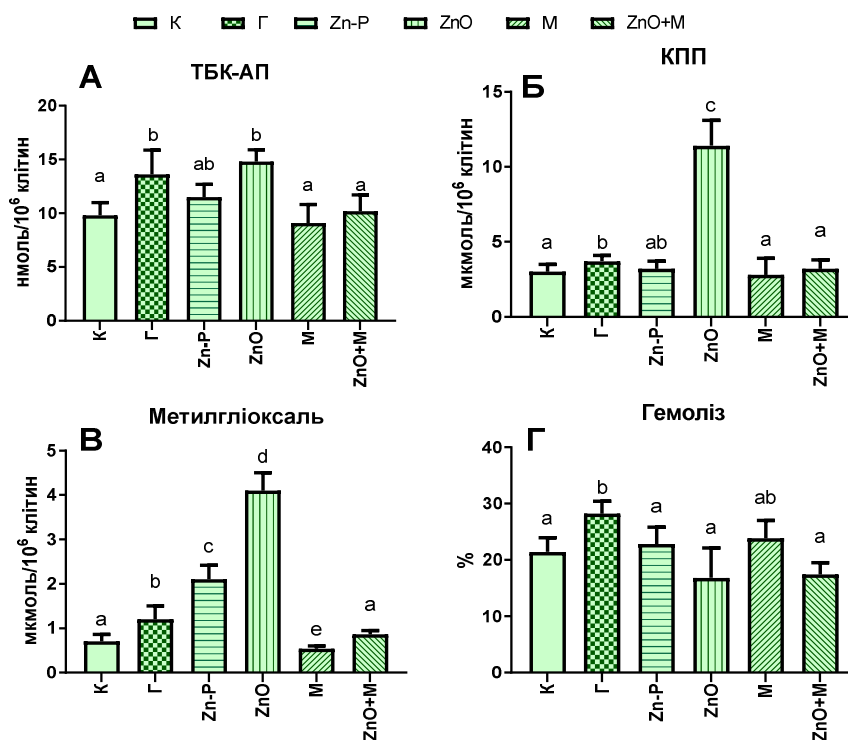


Рис. 1. Показники окисного ушкодження (А, Б), карбонілювання (Б, В) та гемолітичної стійкості (Г) еритроцитів коропа за дії глюкози, сполук цинку (цинк піколінату Zn-P та нанозинк оксиду ZnO) та фітопрепаратів момордіки (М, ZnO+M) *in vitro*

Обробка еритроцитів коропа фітоекстрактом момордіки та, особливо, синтезованим ZnO-фітокомплексом на основі гіркої дині сприяла захисту клітин від окисного ушкодження та карбонілювання, ймовірно шляхом знешкодження надмірного продукування активних форм кисню та збалансування системи антиоксидантного захисту. Більшість визначуваних показників за впливу фітопрепаратів підтримувалися на базальній лінії контролю.

Момордіка вважається «золотим стандартом» БАД, що володіють гіпоглікемічним та гіполіпемічним ефектами та широко використовується в альтернативній медицині, особливо в країнах Азії [3, 14]. У плодах момордіки виявлена низка активних глікозидів, зокрема момордин, чарантин і кукурбітан, які можуть модулювати вуглеводний та ліпідний обмін. Зокрема, з використанням тваринних моделей було показано, що *M. charantia* може регулювати вуглеводний обмін опосередковано через його інгібуючу дію на процеси перетравлення та всмоктування, поглинання глюкози скелетними м'язами, а також за рахунок підвищення чутливості інсуліну [14]. Вживання момордіки зменшувало ймовірність розвитку резистентності до інсуліну у щурів, яких утримували на дієті з підвищеним вмістом фруктози, та сприяло зменшенню окисного стресу в щурів з діабетом, яких утримували на звичайній дієті [11]. Інкубація еритроцитів коропа продемонструвала здатність екстракту момордіки запобігати розвитку окисного стресу у клітині, який є однією з ознак діабету та сприяє розвитку його ускладнень і супутніх патологій, в тому числі нефропатій. Більше того, комбінація нанозинк оксиду з екстрактом плодів момордіки у формі ZnO-фітокомплексу забезпечила з одного боку оптимізацію впливу фітоекстракту (особливо щодо пулу клітинних тіолів) та з іншого – зменшила токсичні прояви цинк оксиду, які він продемонстрував при окремій дії (рис. 1,2).

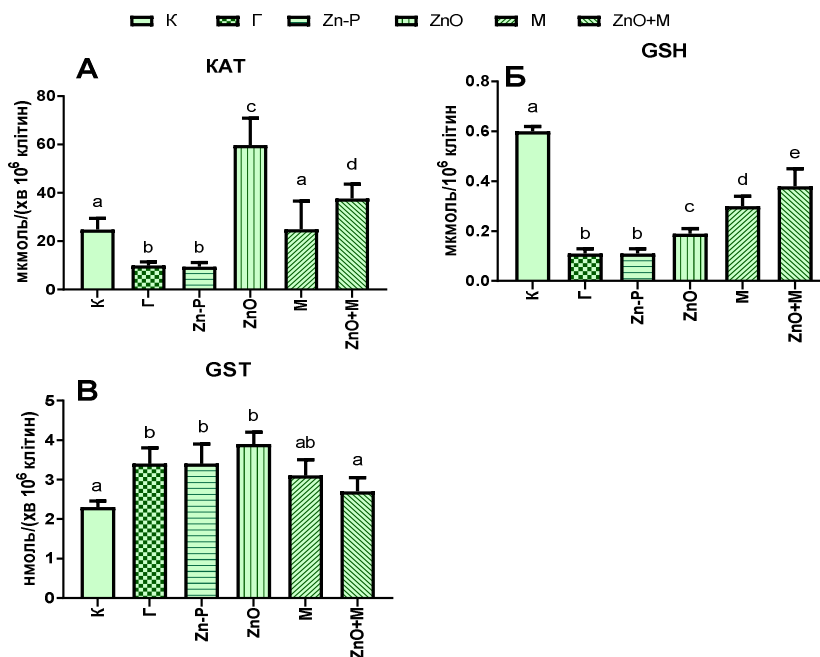


Рис. 2. Показники системи антиоксидантного захисту (А – каталазна активність, Б – концентрація загального глутатіону, В – глутатіонтрансферазна активність) еритроцитів коропа за дії глюкози, сполук цинку (цинк піколінату Zn-P та наноцинка оксиду ZnO) та фітопрепаратів момордіки (M, ZnO+M) *in vitro*

Сполуки, що містять функціональну карбонільну групу можуть пошкоджувати біомолекули шляхом зшивання протеїнів і ДНК, а також інактивувати ферменти глікацією [8, 13]. Наприклад, обробка клітин ендотелію 2-5 мМ розчином метилглюксалу протягом 2 годин стимулювала утворення поперечних зшивок ДНК і сприяла дисфункції тіоредоксин/тіоредоксин-редуктазної системи [13]. Реакційна здатність α, відтак і токсичність карбонілів може сильно варіювати залежно від кількості функціональних груп, будови молекули та стеричних особливостей. На відміну від інших вуглеводів (наприклад, глюкози, гліцеральдегідів і фруктози), метилглюксали, які мають другий карбоніл у α- або β- положенні, мають набагато вищу реакційну здатність і можуть спонтанно модифікувати макромолекули [20]. Відтак, метилглюксаль вважається одним з найбільш потужних глікативних агентів. Як показали наші результати, інкубація еритроцитів коропа в присутності підвищеної концентрації глюкози викликала двократне збільшення вмісту метилглюксалу і лише момордіка, як у формі екстракту так і фіто-ZnO комплексу проявляла протекторний ефект, підтримуючи вміст метилглюксалу на базальному рівні контролю. Більше того, зміни вмісту метилглюксалу та глутатіону були взаємно негативно корельованими ($r=-0,78$, $p<0,001$), що повністю узгоджується з даними отриманими на еритроцитах людини, про потенцію метилглюксалів індукувати окисний стрес шляхом порушення функціональної активності ензимів антиоксидантного захисту, зокрема каталази, супероксиддисмутази і глутатіонпероксидази і зменшуючи рівень глутатіону [5, 8].

Гемоліз вважається одним із супутніх проявів діабету та детермінується низкою чинників. Насамперед, підвищений вміст глюкози у середовищі викликає зміну йонного балансу, мікроархітектоніки поверхні клітини, порушення співвідношення холестерол/фосфоліпідів у мембранах еритроцитів та поступову втрату здатності до деформації клітин [10]. Негативний вплив глюкози потенціюють й цукрознижувальні препарати, зокрема похідні сульфонілсечовини, глібуридів і толбутамідів. Як показали одержані нами результати, гіпертонічний розчин глюкози посилює гемоліз еритроцитів коропа, який, в свою чергу,

успішно коригується сполуками цинку (у тому числі й рекомендованим для вживання діабетикам цинк піколінатом) та досліджуваними фітопрепаратами. Відтак, існує необхідність щодо подальшого дослідження препаратів цинку та фітоекстракту момордіки щодо їх можливості стабілізувати патологічне ушкодження клітин та корегувати ускладнення діабету, зокрема мікроангіопатичну гемолітичну анемію. У літературі такі дослідження обмежені [4].

Відтак, екстракт плодів момордіки та, особливо, синтезований шляхом зеленого синтезу ZnO-фітокомплекс сприяє зменшенню проявів окисного стресу та утворення метилгліюксалу в еритроцитах коропа за їх експозиції в підвищеній концентрації глюкози, а також стабілізує гемолітичну стійкість клітин. Одержані результати демонструють перспективність використання біодоступного комплексу нано-цинк оксиду на основі екстракту момордіки за умов гіперглікемії та вимагають подальших досліджень щодо розширення кола експериментальних моделей та набору показників.

Робота виконана за підтримки МОН України (держбюджетна тема "Дослідження системної ендокринної активності цинку та чинників її оптимізації на моделях холоднокровних тварин").

1. Aebi H. Catalase / H. Aebi // *Methods Enzym Anal.* — 1974. — Vol. 2. — P. 673—684.
 2. Anderson M.E. Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples / M.E. Anderson // *Methods Enzymology.* - 1985. — Vol. 113. — P. 548-555.
 3. Chaturvedi P. Momordica charantia maintains normal glucose levels and lipid profiles and prevents oxidative stress in diabetic rats subjected to chronic sucrose load / P. Chaturvedi, S. George // *Journal of Medicinal Food. J Med Food.* — 2010. — Vol. 13, issue 3. — P. 520—527.
 4. Cruz K. J. C. Antioxidant role of zinc in diabetes mellitus / K. J. C. Cruz, A. R. S. de Oliveira, D.N. Marreiro // *World Journal of Diabetes.* — 2015. — Vol. 6, issue 2. — P. 333—337.
 5. Evaluation of methylglyoxal toxicity in human erythrocytes, leukocytes and platelets, / A. S. Prestes, M.M. Dos Santos, A. Ecker [et al.] // *Toxicology Mechanisms and Methods.* — 2017. — Vol. 27, issue 4. — P. 307—317.
 6. Giacco F. Oxidative stress and diabetic complications / F. Giacco, M. Brownlee // *Circulation Research.* — 2010. — Vol. 107, issue 9. — P. 1057—1070.
 7. Gilbert R. P. Spectrophotometric determination of methylglyoxal with 2,4-dinitrophenylhydrazine / R. P. Gilbert, R. B. Brandt // *Analytical Chemistry.* — 1975. — Vol. 47, issue 14. — P. 2418—2422.
 8. Glycation of human erythrocyte glutathione peroxidase: effect on the physical and kinetic properties / S. Suravajjala, M. Cohenford, L. R. Frost [et al.] // *Clinica Chimica Acta.* — 2013. — Vol. 421. — P. 170—176.
 9. Habig W.H. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation / W.H. Habig, M.J. Pabst, W.B. Jakoby // *Journal of Biological Chemistry.* - 1974. — Vol. 249. — P. 7130—7139.
 10. James S. H. Microangiopathic hemolytic anemia as a complication of diabetes mellitus / S. H. James, A. M. Meyers // *American Journal of the Medical Sciences.* — 1998. — Vol. 315, issue 3. — P. 211—215.
 11. Joseph B. Antidiabetic effects of Momordica charantia (bitter melon) and its medicinal potency / B. Joseph, D. Jini // *Archive of "Asian Pacific Journal of Tropical Disease.* — 2013. — Vol. 3, issue 2. — P. 93—102.
 12. Lushchak V. I. Indices of oxidative stress. 1. TBA-reactive substances and carbonylproteins / V. I. Lushchak, T. V. Bahniukova, O. V. Lushchak // *Ukrainskii Biokhimičeskii Zhurnal.* — 2004. — Vol.73, issue 3, P. 136—141.
 13. Methylglyoxal induces DNA crosslinks in ECV304 cells via a reactive oxygen species-independent protein carbonylation pathway / C. Y. Tu, Y. F. Chen, C. K. Lii [et al.] // *Toxicology in Vitro.* — 2013. — Vol. 27. — P. 1211—1219.
 14. Momordica charantia and type 2 diabetes: from in vitro to human studies / S. D.Habicht, C. Ludwig, R.Y. Yang [et al.] // *Current Diabetes Reviews.* — 2014. — Vol. 10, issue 1. — P. 48—60.
 15. *Carassius auratus* As a novel model for the hyperglycemia study/ H. Falfushynska, O. Horyn, L. Gnatyshyna [et al.] // *Ukrainian Biochemical Journal.* — 2019. — Vol. 91, issue 4. — P. 58—69.
 16. Oxidative stress in diabetes mellitus: is there a role for hypoglycemic drugs and/or antioxidants / O.O. Erejuwa // *Oxidative stress disorder.* — 2012. — P. 217—246.
 17. Persistent impaired glucose metabolism in a zebrafish hyperglycemia model / K.M. Capiotti, R.Jr. Antonioli, L.W. Kist [et al.] // *Comparative Biochemistry and Physiology.* — 2014. — Vol. 171B. — P. 58—65.
 18. Ramesh R. Green Synthesis of Zinc Oxide Nanoparticles Using Flower Extract Cassia Auriculata / R. Ramesh, A. Rajendran, M. Meenakshisundaram // *Journal of NanoScience and NanoTechnology.* — 2014. — Vol. 2, issue 1. — P. 41—45.
- 26 ISSN 2078-2357. Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер. Біол., 2019, № 1 (75)

19. Rehman K. Mechanism of Generation of Oxidative Stress and Pathophysiology of Type 2 Diabetes Mellitus: How Are They Interlinked? / K. Rehman, M.S.H.Akash // Journal Cell Biochemistry. — 2017. — Vol. 118 (11). — P. 3577—3585.
20. Rethinking glycolysis: on the biochemical logic of metabolic pathways / A. Bar-Even, A. Flamholz, E. Noor [et al.] // Nature Chemical Biology. — 2012. — Vol. 8. — P. 509—517.
21. Viskupicova J. Effect of high glucose concentrations on human erythrocytes in vitro / J. Viskupicova, D. Blaskovic, S. Galiniak [et al.] // Redox biology. — 2015. — Vol. 5. — P. 381—387.
22. Деклараційний патент України на корисну модель Спосіб індукції гіперглікемії у корошових риб / Г. І. Фальфушинська, О. Б. Столяр, О. І. Горин, В. В. Хома, Л. Л. Гнатишина, Г. Б. Буяк — № у201811223; заявл. 15.11.2018.

References

1. Aebi H. Catalase / H. Aebi // Methods Enzym Anal. — 1974. — Vol. 2. — P. 673—684.
2. Anderson M.E. Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples / M.E. Anderson // Methods Enzymology. - 1985. — Vol. 113. — P. 548-555.
3. Chaturvedi P. Momordica charantia maintains normal glucose levels and lipid profiles and prevents oxidative stress in diabetic rats subjected to chronic sucrose load / P. Chaturvedi, S. George // Journal of Medicinal Food. J Med Food. — 2010. — Vol. 13, issue 3. — P. 520—527.
4. Cruz K. J. C. Antioxidant role of zinc in diabetes mellitus / K. J. C. Cruz, A. R. S. de Oliveira, D.N. Marreiro // World Journal of Diabetes. — 2015. — Vol. 6, issue 2. — P. 333—337.
5. Evaluation of methylglyoxal toxicity in human erythrocytes, leukocytes and platelets, / A. S. Prestes, M.M. Dos Santos, A. Ecker [et al.] // Toxicology Mechanisms and Methods. — 2017. — Vol. 27, issue 4. — P. 307—317.
6. Giacco F. Oxidative stress and diabetic complications / F. Giacco, M. Brownlee // Circulation Research. — 2010. — Vol. 107, issue 9. — P. 1057—1070.
7. Gilbert R. P. Spectrophotometric determination of methylglyoxal with 2,4-dinitrophenylhydrazine / R. P. Gilbert, R. B. Brandt // Analytical Chemistry. — 1975. — Vol. 47, issue 14. — P. 2418—2422.
8. Glycation of human erythrocyte glutathione peroxidase: effect on the physical and kinetic properties / S. Suravajjala, M. Cohenford, L. R. Frost [et al.] // Clinica Chimica Acta. — 2013. — Vol. 421. — P. 170—176.
9. Habig W.H. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation / W.H. Habig, M.J. Pabst, W.B. Jakoby // Journal of Biological Chemistry. - 1974. — Vol. 249. — P. 7130—7139.
10. James S. H. Microangiopathic hemolytic anemia as a complication of diabetes mellitus / S. H. James, A. M. Meyers // American Journal of the Medical Sciences. — 1998. — Vol. 315, issue 3. — P. 211—215.
11. Joseph B. Antidiabetic effects of Momordica charantia (bitter melon) and its medicinal potency / B. Joseph, D. Jini // Archive of "Asian Pacific Journal of Tropical Disease. — 2013. — Vol. 3, issue 2. — P. 93—102.
12. Lushchak V. I. Indices of oxidative stress. 1. TBA-reactive substances and carbonylproteins / V. I. Lushchak, T. V. Bahniukova, O. V. Lushchak // Ukrainkii Biokhimicheskii Zhurnal. — 2004. — Vol.73, issue 3, P. 136—141.
13. Methylglyoxal induces DNA crosslinks in ECV304 cells via a reactive oxygen species-independent protein carbonylation pathway / C. Y. Tu, Y. F. Chen, C. K. Lii [et al.] // Toxicology in Vitro. — 2013. — Vol. 27. — P. 1211—1219.
14. Momordica charantia and type 2 diabetes: from in vitro to human studies / S. D.Habicht, C. Ludwig, R.Y. Yang [et al.] // Current Diabetes Reviews. — 2014. — Vol. 10, issue 1. — P. 48—60.
15. *Carassius auratus* As a novel model for the hyperglycemia study/ H. Falfushynska, O. Horyn, L. Gnatyshyna [et al.] // Ukrainian Biochemical Journal. — 2019. — Vol. 91, issue 4. — P. 58—69.
16. Oxidative stress in diabetes mellitus: is there a role for hypoglycemic drugs and/or antioxidants / O.O. Erejuwa // Oxidative stress disorder. — 2012. — P. 217—246.
17. Persistent impaired glucose metabolism in a zebrafish hyperglycemia model / K.M. Capiotti, R.Jr. Antonioli, L.W. Kist [et al.] // Comparative Biochemistry and Physiology. — 2014. — Vol. 171B. — P. 58—65.
18. Ramesh R. Green Synthesis of Zinc Oxide Nanoparticles Using Flower Extract Cassia Auriculata / R. Ramesh, A. Rajendran, M. Meenakshisundaram // Journal of NanoScience and NanoTechnology. — 2014. — Vol. 2, issue 1. — P. 41—45.
19. Rehman K. Mechanism of Generation of Oxidative Stress and Pathophysiology of Type 2 Diabetes Mellitus: How Are They Interlinked? / K. Rehman, M.S.H.Akash // Journal Cell Biochemistry. — 2017. — Vol. 118 (11). — P. 3577—3585.

20. Rethinking glycolysis: on the biochemical logic of metabolic pathways / A. Bar-Even, A. Flamholz, E. Noor [et al.] // *Nature Chemical Biology*. — 2012. — Vol. 8. — P. 509—517.
21. Viskupicova J. Effect of high glucose concentrations on human erythrocytes *in vitro* / J. Viskupicova, D. Blaskovic, S. Galiniak [et al.] // *Redox biology*. — 2015. — Vol. 5. — P. 381—387.
22. Deklaratsiynyy patent Ukrainy na korysnu model' Sposib induktsii hiperhlikemii u koropovykh ryb / H.I. Fal'fushyn'ska, O. B. Stoliar, O. I. Horyn, V. V. Khoma, L. L. Hnatyshyna, H. B. Buiak — No u201811223; zaiavl. 15.11.2018. (in Ukrainian).

O.I. Horyn, H.I. Falfushynska

Ternopil Volodymyr Hnatiuk National Pedagogical University, Ukraine

MOMORDICA EXTRACT DIMINISHES OXIDATIVE STRESS SIGNS AND RATE OF HEMOLYSIS IN COMMON CARP RED BLOOD CELLS UNDER THE GLUCOSE TREATMENT

Phytoextracts and natural antioxidants should provide promising results in therapeutic intervention for diabetes mellitus when they include into medical treatment scheme. The present study aimed to investigate the effect of *Momordica charantia* phytoextract alone and in complex-form with nano zinc oxide as well as zinc compounds on rate of hemolysis and oxidative stress parameters in *Cyprinus carpio* red blood cells (RBC) after their exposure to high glucose *in vitro*. The results have shown that the glucose treatment was capable to promote an increase in oxidative damage of lipids and proteins, the break of balance in antioxidant defence and enhance the rate of hemolysis and methylglyoxal concentration. When glucose-treated RBC were probed with *M. charantia* extract, nZnO- *Momordica*, nZnO and zinc picolinate specific response to different co-exposures was disclosed. Zinc picolinate in general had no significant effect on the studied parameters with few exceptions, then ZnO nanoparticles made glucose effects more profound. *Momordica* in herbal extract form and, particularly, in green synthesized ZnO nanoparticle have caused the decrease in lipid and protein peroxidation, glutathione transferase activity, rate of hemolysis and methylglyoxal, and the increase in catalase and glutathione up to control baseline. These results have pointed to the necessity of further investigations of antihyperglycemic activity of *Momordica* and mechanistic explanation of its potentials.

Key words: Momordica charantia, green synthesis, ZnO nanoparticle, phytocomplex, oxidative stress, hemolysis

Надійшла 28.01.2019.

УДК 577.125: (597.551.2+ 597.552.1): 546.723

doi:10.25128/2078-2357.19.1.4

В.З. КУРАНТ, В.О. ХОМЕНЧУК

Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка

вул. Максима Кривоноса, 2, Тернопіль, 46027

e-mail: khomenchuk@tnpu.edu.ua

ВПЛИВ ІОНІВ МАНГАНУ, ЦИНКУ, КУПРУМУ ТА ПЛЮМБУМУ НА ВМІСТ ВІЛЬНИХ АМІНОКИСЛОТ В ОРГАНІЗМІ КОРОПА

У роботі досліджено динаміку вмісту вільних амінокислот у тканинах коропа за дії на його організм іонів Мангану, Цинку, Купруму та Плюмбуму водного середовища. Показано важливу роль цих метаболітів у процесах обміну у риб за умов впливу на них підвищених концентрацій іонів важких металів. Відмічено використання вільних амінокислот як додаткового субстрату окиснення. Різниця в динаміці досліджуваних показників у м'язах та печінці риб дозволяє зробити висновок про першочергову мобілізацію вільних амінокислот м'язів та наступне використання амінокислот білкових резервів печінки.

Ключові слова: короп, метаболізм, амінокислоти, важкі метали