

К. В. Тихонович¹, Т. Д. Криворучко¹, К. С. Непорада¹, С. М. Береговий²
ПОЛТАВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ¹
ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТА МЕДИЦИНИ КИЇВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ
ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА²

КОРЕКЦІЯ КОКАРНІТОМ ПАТОЛОГІЧНИХ ЗМІН У СЛИННИХ ЗАЛОЗАХ ЩУРІВ ЗА УМОВ ДІАБЕТИЧНОЇ НЕЙРОПАТІЇ

Вступ. Найпоширенішим ускладненням цукрового діабету є діабетична нейропатія, вплив якої на слинні залози вивчено недостатньо. Пошук засобів фармакологічної корекції на підставі з'ясування патогенезу розвитку патологічних змін у слинних залозах за умов діабетичної нейропатії залишається актуальним.

Мета дослідження – вивчити вплив стрептозоциніндукованої діабетичної нейропатії на розвиток патологічних змін у слинних залозах щурів, а також обґрунтувати доцільність використання за цих умов препарату “Кокарніт”.

Методи дослідження. Діабетичну нейропатію у щурів моделювали шляхом одноразової ін'єкції стрептозоцину (*Streptozocin*, “Sigma”, США) в дозі 65 мг/кг. Розвиток нейропатії реєстрували аналгезиметром за методом *Randall – Selitto*. Для корекції виявлених змін тваринам протягом 9 діб внутрішньом'язово вводили кокарніт (*World Medicine*) в дозі 1 мг/кг. У гомогенаті піднижньоощелепних слинних залоз визначали активність α -амілази, каталази, вміст молекул середньої маси, ТБК-активних продуктів й окисномодифікованих протеїнів, загальну протеолітичну та загальну антитриптичну активність.

Результати й обговорення. Результати виконаних досліджень свідчать про те, що введення тваринам стрептозоцину призводило до збільшення порога больової чутливості в усі дні вимірювання порівняно з початковим значенням. У тварин, яким упродовж 9 діб вводили кокарніт, поріг больової чутливості був меншим порівняно з групою щурів з діабетичною нейропатією без корекції та не відрізнявся від його рівня в інтактних тварин. За умов розвитку діабетичної нейропатії в підщелепних слинних залозах щурів знижувалась амілолітична активність, зростала антитриптична активність без змін активності протеїнази, а також збільшувався вміст ТБК-активних продуктів порівняно з цими показниками в інтактних тварин. Введення кокарніту протягом 9 діб за умов діабетичної нейропатії призводило до підвищення активності α -амілази, нормалізації загальної антитриптичної активності та пригнічення пероксидного окиснення ліпідів у слинних залозах щурів порівняно з групою тварин, яким моделювали нейропатію без корекції.

Висновки. Введення кокарніту відновлює больову чутливість до контрольних значень. Препарат нормалізує пригнічену протеїнсинтетичну функцію слинних залоз щурів за умов діабетичної нейропатії та пригнічує розвиток оксидативного стресу.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: діабетична нейропатія; слинні залози; кокарніт; оксидативний стрес.

ВСТУП. За оцінками 10-го видання *IDF Diabetes Atlas*, у 2021 р. число людей, які хворіють на цукровий діабет, сягнуло 537 мільйонів, і ця кількість, за прогнозами, зростає до 643 мільйонів у 2030 р. та 783 мільйонів у 2045 р. [1].

Найпоширенішим ускладненням цукрового діабету, що характеризується високими показниками захворюваності та смертності [2], порушенням працездатності у великій кількості хворих [3], є діабетична нейропатія, яка розвивається в 50 % пацієнтів [4, 5] та належить до нейродегенеративних розладів периферичної нервової системи [4].

© К. В. Тихонович, Т. Д. Криворучко, К. С. Непорада, С. М. Береговий, 2022.

Основним підходом до терапії діабетичної нейропатії є патогенетичне лікування, спрямоване на призначення антиоксидантів і метаболічних засобів [6]. До препаратів високої метаболічної активності належить кокарніт, який активує процеси аеробного окиснення глюкози, а також має регульовальний вплив на процеси окиснення жирних кислот [7]. Експериментальні дослідження на тваринах показали, що комплекс з вітамінів групи В покращує тактильну аллодинію у щурів [8], що свідчить про потенційну можливість його використання для лікування діабетичної нейропатії. Тіамін та бенфотіамін застосовують для лікування діабетичної нейропатії. Тіаміндифосфат є коензимом для транскетолази і

піруват- й α -кетоглутаратдегідрогеназного комплексу, які відіграють основну роль у внутрішньоклітинному метаболізмі глюкози та циклу трикарбонових кислот. Тіамін та бенфотіамін знижують експресію, активність мРНК альдолазо-редуктази, що є ключовим ферментом у поліоловому шляху, який перетворює глюкозу в сорбітол, таким чином знижуючи концентрацію сорбітолу і внутрішньоклітинну глюкозу, одночасно підвищуючи експресію та активність транскетолази [9]. При експериментальному цукровому діабеті тіамін та бенфотіамін запобігають накопиченню у тканинах і посилюють екскрецію із сечею аддуктів глікації, окиснення та нітрування протеїнів [10]. Ряд досліджень підтвердив, що невропатичні симптоми і дефіцити, а також швидкість нервової провідності значно покращуються після введення тіаміну/бенфотіаміну пацієнтам з діабетичною нейропатією [11]. Нікотинамід має антиоксидантну дію [12]. Результати експериментальних досліджень свідчать про те, що введення його щурам із цукровим діабетом, індукованим стрептозоцином, запобігає більшості очікуваних порушень, головним чином зберігаючи параметри парасимпатичних і барорефлекторних функцій [13], пригнічує пероксидне окиснення ліпідів у тварин із цукровим діабетом, нормалізує нерво-судинну дисфункцію, дефіцит нервової провідності та аномальні сенсорні реакції на ранніх етапах діабетичної нейропатії [14]. Захисна дія нікотинаміду зумовлена пригніченням активності полі(АДФ-рибозо)-полімерази, що попереджує зниження концентрації НАД і АТФ у клітинах. *In vitro* було показано [15], що кобаламін інгібує вироблення внутрішньоклітинного перексиду, підтримує рівень внутрішньоклітинного глутатіону і запобігає апоптотичній та некротичній загибелі клітин. Як свідчить систематичний огляд досліджень [16] щодо застосування вітаміну B_{12} для лікування больової діабетичної нейропатії, і комбінація метилкобаламіну з вітаміном B_{12} , і чистий метилкобаламін мають сприятливий вплив на соматичні симптоми, такі, як біль та парестезії. У кожному з досліджень лікування значно покращило симптоми соматосенсорного або нейропатичного болю порівняно з плацебо.

За даними авторів [17], які вивчали електрофізіологічні показники при діабетичній нейропатії, препарат "Кокарніт" впливає переважно на більш ушкоджені моторні волокна. Під дією його компонентів покращуються енергозабезпечення і трофіка нервової тканини, підвищуються резерви антиоксидантної та ендогенної антиноцицептивної системи. Кокарніт сприяє відновленню нервових волокон і поліпшенню нервової провідності, що дозволяє припустити участь препарату в механізмах нейропластичності [18].

Результати інших досліджень [19–24] свідчать про ефективність застосування цього комплексу під час лікування пацієнтів з діабетичною нейропатією.

Мета дослідження – вивчити вплив стрептозоциніндукованої діабетичної нейропатії на розвиток патологічних змін у слинних залозах щурів, а також обґрунтувати доцільність використання за цих умов препарату "Кокарніт".

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експеримент було проведено на 52 білих нелінійних щурах обох статей масою (200 ± 20) г. Упродовж усього дослідження тварини перебували на стандартному раціоні віварію. Щурів було поділено на 4 групи. До 1-ї групи входили інтактні (контрольні) тварини. Щурам 2-ї і 3-ї груп моделювали діабетичну нейропатію шляхом одноразового введення стрептозоцину (Streptozocin, "Sigma", США) в дозі 65 мг/кг [25]. Підтверджували розвиток нейропатії за тензоалгометричним методом Randall – Selitto [26, 27]. На 14-ту і 28-му доби експерименту визначали рівень глюкози у крові (з хвостової вени) за допомогою глюкометра Free Style Optium XEMV036-P0270 і тест-смужки Free Style Optium H. На 30-ту добу дослідження проводили глюкозотолерантний тест, що підтверджував наявність цукрового діабету в щурів. Наступного дня тваринам 3-ї і 4-ї (інтактні щури) груп протягом 9 діб внутрішньом'язово вводили кокарніт (World Medicine) в дозі 1 мг/кг [28], який містить 50 мг кокарбоксілази, 20 мг нікотинаміду, 500 мкг ціанокобаламіну, 10 мг динатрію аденозинтрифосфату тригідрату. З експерименту щурів виводили на 40-ву добу шляхом кровопускання під тіопенталовим наркозом.

Об'єктами дослідження були підщелепні слинні залози щурів, у гомогенаті яких визначали активність α -амілази (W. T. Saraway, 1959), каталази (M. A. Королюк, 1988), вміст молекул середньої маси (H. I. Габриелян, 1983), ТБК-активних продуктів (I. Д. Стальна, Т. Г. Гарішвілі, 1977) й окисномодифікованих протеїнів (E. E. Дубініна, 1995), загальну протеолітичну активність (A. M. Уголе, 1969) та загальну антитриптичну активність (K. H. Веремеєнко, 1988).

Для аналізу отриманих результатів було використано методи варіаційної статистики. Відповідність нормальному закону розподілу емпіричних даних оцінювали шляхом розрахунку критерію Шапіро – Вілка. Якщо дані відповідали нормальному розподілу, для оцінки міжгрупових відмінностей застосовували параметричний t-критерій Стюдента, коли вони не підлягали нормальному розподілу, статистичну обробку здійснювали за допомогою непараметричного методу – тесту Манна – Уїтні.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Встановлено, що стрептозоцин викликав у щурів цукровий діабет з розвитком діабетичної нейропатії, проявом якої було зростання порога больової чутливості, яку вимірювали тензоалгометричним методом. Результати виконаних досліджень показали, що в контрольних тварин початковий поріг больової чутливості становив $(100,1 \pm 3,4) \%$ та на 14-ту і 28-му доби вимірювання незначно коливався в межах базового рівня. У щурів, яким моделювали стрептозоциніндуковану нейропатію, він значно зростав у всі дні вимірювання порівняно з початковим значенням: на 14-ту добу після введення стрептозоцину збільшувався на $(22,4 \pm 8,4) \%$ ($p < 0,05$), а на 28-му – на $(100,9 \pm 15,3) \%$ ($p < 0,001$). Це свідчило про розвиток периферичної діабетичної нейропатії. А у тварин, яким упродовж 9 діб вводили кокарніт, поріг больової чутливості був меншим на

$(109,2 \pm 3,4) \%$ ($p < 0,001$) порівняно з групою щурів з діабетичною нейропатією без корекції та не відрізнявся від його рівня в контрольних тварин.

За умов розвитку діабетичної нейропатії в підщелепних слинних залозах щурів вірогідно у 2 рази знижувалась активність α -амілази порівняно з контрольними тваринами, що свідчило про пригнічення протеїнсинтетичної активності слинних залоз. Результати наших досліджень збігаються з результатами інших авторів [29, 30], які стверджують, що причинно-наслідковий зв'язок низької активності α -амілази у сироватці крові пацієнтів з ожирінням та цукровим діабетом пов'язаний з інсуліновою недостатністю.

Введення кокарніту призводило до вірогідного зростання активності α -амілази в гомогенаті слинних залоз тварин порівняно з групою щурів, яким моделювали діабетичну нейропатію без корекції (табл.).

Таблиця – Досліджувані показники слинних залоз щурів за умов діабетичної нейропатії та корекції кокарнітом

Біохімічний показник	Група тварин				Статистичний показник
	1-ша (інтактні)	2-га (діабетична нейропатія)	3-тя (діабетична нейропатія+кокарніт)	4-та (інтактні+кокарніт)	
Активність α -амілази, мг/с·л	$38,80 \pm 4,67$ (n=10)	$20,18 \pm 2,66$ (n=11)	$27,75 \pm 1,47$ (n=14)	$39,76 \pm 2,93$ (n=7)	$p_{1-2} < 0,05$ $p_{1-3} > 0,05$ $p_{2-3} < 0,05$ $p_{1-4} > 0,05$ $p_{3-4} < 0,001$
Загальна протеолітична активність, мкг/г·хв	$3,33 \pm 0,06$ (n=9)	$3,24 \pm 0,10$ (n=11)	$3,40 \pm 0,11$ (n=14)	$3,37 \pm 0,13$ (n=8)	$p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} > 0,05$ $p_{2-3} > 0,05$ $p_{1-4} > 0,05$ $p_{3-4} > 0,05$
Загальна антитриптична активність, г/кг	$32,64 \pm 1,74$ (n=9)	$89,77 \pm 7,01$ (n=11)	$51,07 \pm 4,91$ (n=14)	$32,81 \pm 1,96$ (n=8)	$p_{1-2} < 0,0001$ $p_{1-3} < 0,05$ $p_{2-3} < 0,001$ $p_{1-4} > 0,05$ $p_{3-4} > 0,05$
Вміст ТБК-активних продуктів, мкмоль/г	$4,25 \pm 0,72$ (n=15)	$8,72 \pm 1,16$ (n=11)	$5,94 \pm 0,69$ (n=18)	$4,27 \pm 0,36$ (n=8)	$p_{1-2} < 0,01$ $p_{1-3} > 0,05$ $p_{2-3} < 0,05$ $p_{1-4} > 0,05$ $p_{3-4} > 0,05$
Вміст молекул середньої маси, ум. од.	$0,290 \pm 0,003$ (n=8)	$0,320 \pm 0,009$ (n=11)	$0,310 \pm 0,005$ (n=18)	$0,295 \pm 0,006$ (n=8)	$p_{1-2} < 0,05$ $p_{1-3} < 0,05$ $p_{2-3} > 0,05$ $p_{1-4} > 0,05$ $p_{3-4} > 0,05$
Вміст окисно-модифікованих протеїнів, ум. од.	$0,34 \pm 0,02$ (n=10)	$0,37 \pm 0,03$ (n=11)	$0,30 \pm 0,02$ (n=18)	$0,24 \pm 0,03$ (n=8)	$p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} > 0,05$ $p_{2-3} > 0,05$ $p_{1-4} < 0,05$ $p_{3-4} > 0,05$
Активність каталази, мккат/г·хв	$0,740 \pm 0,034$ (n=10)	$0,840 \pm 0,060$ (n=11)	$0,770 \pm 0,060$ (n=18)	$0,730 \pm 0,014$ (n=8)	$p_{1-2} < 0,05$ $p_{1-3} > 0,05$ $p_{2-3} > 0,05$ $p_{3-4} > 0,05$

Протеїназно-інгібіторний потенціал підщелепних слинних залоз щурів при стрептозоциніндукованій нейропатії змінювався за компенсаторним типом, про що свідчило вірогідне підвищення антитриптичної активності без змін загальної протеолітичної активності. Введення кокарніту протягом 9 діб призводило до нормалізації загальної антитриптичної активності підщелепних слинних залоз тварин за умов діабетичної нейропатії порівняно з групою щурів, яким моделювали нейропатію без корекції (див. табл.).

Ми встановили, що вміст ТБК-активних продуктів у слинних залозах щурів за умов стрептозоциніндукованої нейропатії, порівняно з цим показником у контрольних тварин, вірогідно збільшився у 2 рази, що свідчило про активацію пероксидного окиснення ліпідів. Введення щурам кокарніту протягом 9 діб призводило до пригнічення пероксидного окиснення ліпідів, на що вказувало вірогідне зменшення вмісту ТБК-активних продуктів у слинних залозах тварин при діабетичній нейропатії порівняно з групою щурів, яким моделювали нейропатію без корекції (див. табл.).

ВИСНОВКИ. 1. Після введення стрептозоцину в щурів зростає поріг больової чутливості, що свідчить про розвиток діабетичної нейропатії. Введення тваринам кокарніту відновлює больову чутливість до контрольних значень.

2. Кокарніт нормалізує пригнічену протеїн-синтетичну функцію слинних залоз щурів за умов діабетичної нейропатії, на що вказує вірогідне підвищення активності α -амілази.

3. У слинних залозах тварин з діабетичною нейропатією розвивається оксидативний стрес, що проявляється збільшенням вмісту ТБК-активних продуктів та молекул середньої маси без змін вмісту продуктів окисної модифікації протеїнів. Кокарніт пригнічує розвиток оксидативного стресу в підщелепних слинних залозах щурів за умов стрептозоциніндукованої нейропатії.

Перспективи подальших досліджень. З метою об'єктивного підтвердження експериментальної ефективності препарату "Кокарніт" для корекції патологічних змін у слинних залозах щурів за умов діабетичної нейропатії заплановано провести морфологічні дослідження.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas, 10th edn. Brussels, Belgium: 2021. – Access mode : <https://www.diabetesatlas.org>
2. Sempere-Bigorra M. Differences and similarities in neuropathy in type 1 and 2 diabetes: A systematic review / Mar Sempere-Bigorra, Iván Julián-Rochina, Omar Cauli // *Journal of Personalized Medicine*. – 2021. – **11**, No. 3. – P. 230. – Access mode : <https://doi.org/10.3390/jpm11030230>
3. England J. D. Peripheral neuropathy [Electronic resource] / John D. England, Arthur K. Asbury // *The Lancet*. – 2004. – **363**, No. 9427. – P. 2151–2161. – Access mode : [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(04\)16508-2](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(04)16508-2)
4. Diabetic neuropathy / Eva L. Feldman, B. C. Callaghan, R. Pop-Busui [et al.] // *Nature Reviews Disease Primers*. – 2019. – **5**, No. 1. – Access mode : <https://doi.org/10.1038/s41572-019-0092-1>
5. Juster-Switlyk K. Updates in diabetic peripheral neuropathy / Kelsey Juster-Switlyk, A. Gordon Smith // *F1000Research*. – 2016. – **5**. – P. 738. – Access mode : <https://doi.org/10.12688/f1000research.7898.1>
6. Treatment of painful diabetic neuropathy [Electronic resource] / Saad Javed [et al.] // *Ther. Adv. Chronic Dis*. – 2015. – **6**, No. 1. – P. 15–28. – Access mode : <https://doi.org/10.1177/2040622314552071>
7. Drug with a high metabolic activity, cocarnit, in the treatment of diabetic cardiac autonomic neuropathy / S. V. Popov, O. K. Melekhovets, N. V. Demikhova, [et al.] // *Lik Sprava*. – 2012. – **3–4**. – P. 75–81.
8. B vitamins alleviate indices of neuropathic pain in diabetic rats / Corinne G. Jolival, L. M. Mizisin, A. Nelson [et al.] // *European Journal of Pharmacology*. – 2009. – **612**, No. 1–3. – P. 41–47. – Access mode : <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2009.04.028>
9. Luong K. V. The impact of thiamine treatment in the diabetes mellitus / K. V. Luong, L. T. Nguyen // *Journal of Clinical Medicine Research*. – 2012. – Access mode : <https://doi.org/10.4021/jocmr890w>
10. Increased protein damage in renal glomeruli, retina, nerve, plasma and urine and its prevention by thiamine and benfotiamine therapy in a rat model of diabetes / N. Karachalias, R. Babaei-Jadidi, N. Rabbani, P. J. Thornalley // *Diabetologia*. – 2010. – **53**, No. 7. – P. 1506–1516. – Access mode : <https://doi.org/10.1007/s00125-010-1722-z>
11. Beltramo E. Thiamine and diabetes: back to the future? [Electronic resource] / Elena Beltramo, Aurora Mazzeo, Massimo Porta // *Acta Diabetologica*. – 2021. – Access mode : <https://doi.org/10.1007/s00592-021-01752-4>
12. Li W. Nicotinamide regulates blood glucose level and affects mitochondrial superoxide level in gestational diabetic rats / W. Li, W. Yu, W. U. Haiying // *Chinese*. – 2017. – **46**, No. 2. – P. 179–185.
13. Nicotinamide attenuates streptozotocin-induced diabetes complications and increases survival rate in rats: role of autonomic nervous system [Electronic resource] / Paula L. Cruz, I. C. Moraes-Silva, A. A. Ribeiro [et al.] //

BMC Endocrine Disorders. – 2021. – **21**, No. 1. – Access mode : <https://doi.org/10.1186/s12902-021-00795-6>

14. Nicotinamide reverses neurological and neurovascular deficits in streptozotocin diabetic rats / M. J. Stevens, F. Li, V. R. Drel [et al.] // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. – 2006. – **320**, No. 1. – P. 458–464. – Access mode : <https://doi.org/10.1124/jpet.106.109702>

15. A novel role for vitamin B12: Cobalamins are intracellular antioxidants in vitro / Catherine S. Birch, N. E. Brasch, A. McCaddon [et al.] // *Free Radical Biology and Medicine*. – 2009. – **47**, No. 2. – P. 184–188. – Access mode : <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2009.04.023>

16. Sun Y. Effectiveness of vitamin B12 on diabetic neuropathy: Systematic review of clinical controlled trials / Y. Sun, L. Mei-Shu, L. Chien-Jung // *Acta Neurol. Taiwan*. – 2005. – No. 14. – P. 48–54.

17. Karakulova Yu. V. Monitoring of clinical and neurophysiological parameters in diabetic polyneuropathy patients receiving metabolic therapy / Yu. V. Karakulova, T. A. Filimonova // *Doktor.Ru*. – 2017. – **130**, No. 1. – P. 25–39.

18. Dynamics of neurologic disturbances on the background of combined therapy in patients with type 2 diabetes / I. V. Gatkikh, I. N. Brickman, K. A. Gazenkampf [et al.] // *Журн. неврологии и психиатрии имени С. С. Корсакова*. – 2018. – **118**, № 6. – С. 31. – Режим доступа : <https://doi.org/10.17116/jnevro20181186131>

19. The efficacy of cocarnit in diabetic neuropathy / S. V. Kotv, E. V. Isakova, V. Y. Leidvoll [et al.] // *Журн. неврологии и психиатрии имени С. С. Корсакова*. – 2018. – **118**, № 1. – С. 37. – Режим доступа : <https://doi.org/10.17116/jnevro2018118137-42>

20. Diabetic asymmetric proximal neuropathy [Electronic resource] / S. V. Kotov [et al.] // *Журн. неврологии и психиатрии имени С. С. Корсакова*. – 2017. – **117**, № 1. – С. 59. – Режим доступа : <https://doi.org/10.17116/jnevro20171171159-62>

21. Belousov D. Yu. Pharmacoeconomic analysis of ALK inhibitors in treatment of advanced or metastatic anaplastic lymphoma kinase-positive non-small cell lung cancer / D. Yu Belousov, A. E. Cheberda // *Remedium Journal about the Russian Market of Medicines and Medical Equipment*. – 2019. – No. 5. – P. 34–44. – Access mode : <https://doi.org/10.21518/1561-5936-2019-5-34-44>

22. Мкртумян А. М. Возможность применения препарата Кокарнит при лечении диабетической по-

линейропатии / А. М. Мкртумян, Т. Н. Маркова, С. В. Подачина // *Эндокринология*. – 2016. – № 4. – С. 6–10.

23. Оценка эффективности метаболической терапии в лечении диабетической полинейропатии у больных с сахарным диабетом 2-го типа / И. Н. Пашкова, Т. В. Потупчик, И. В. Гацких [и др.] // *Вопросы биол., мед. и фармац. химии*. – 2020. – № 10. – С. 25–34.

24. Application of Cocarnit in complex treatment of patients with diabetic polyneuropathy in outpatient practice / L. B. Novikova, I. Yu. Tarhanova, O. E. Dmitrieva [et al.] // *Pharmateca*. – 2018. – **11**. – P. 80–84. – Access mode : <https://doi.org/10.18565/pharmateca.2018.11.80-84>

25. Islam M. S. Nongenetic model of type 2 diabetes: A comparative study / M. S. Islam, Haymie Choi // *Pharmacology*. – 2007. – **79**, No. 4. – P. 243–249. – Access mode : <https://doi.org/10.1159/000101989>

26. Randall L. O. A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue / L. O. Randall, J. J. Selitto // *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* – 1957. – **111**, No. 4. – P. 409–419.

27. Randall-Selitto Test: A new approach for the detection of neuropathic pain after spinal cord injury / Eva Santos-Nogueira, E. Redondo Castro, R. Mancuso, X. Navarro // *Journal of Neurotrauma*. – 2012. – **29**, No. 5. – P. 898–904. – Access mode : <https://doi.org/10.1089/neu.2010.1700>

28. Definition of optimum scheme of cocarnit injection for rats with polyneuropathy following diabetes induced by tenzoalometric method / N. Nikitina, S. Berehovi, L. Stepanova, O. Kabanov // *Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kyiv. Series: Problems of Physiological Functions Regulation*. – 2017. – **23**, No. 2. – P. 37–42. – Access mode : https://doi.org/10.17721/2616_6410.2017.23.37-42

29. Low serum amylase in association with metabolic syndrome and diabetes: A community-based study / K. Nakajima, T. Nemoto, T. Muneyuki [et al.] // *Cardiovascular Diabetology*. – 2011. – **10**, No. 1. – P. 34. – Access mode : <https://doi.org/10.1186/1475-2840-10-34>

30. Aldossari N. M. Association between salivary amylase enzyme activity and obesity in Saudi Arabia / Norah Mubarak Aldossari, Eman E. El Gabry, Gihan E. H. Gawish // *Medicine*. – 2019. – **98**, No. 23. – P. e15878. – Access mode : <https://doi.org/10.1097/md.000000000015878>

REFERENCES

1. International Diabetes Federation. (2021). *IDF Diabetes Atlas*, 10th edn. Brussels, Belgium. Retrieved from: <https://www.diabetesatlas.org>

2. Sempere-Bigorra, M., Julián-Rochina, I., & Cauli, O. (2021). Differences and similarities in neuropathy in type 1 and 2 diabetes: A systematic review. *Journal of Personalized Medicine*, 11 (3), 230. Retrieved from: <https://doi.org/10.3390/jpm11030230>

3. England, J.D., & Asbury, A.K. (2004). Peripheral neuropathy. *Lancet (London, England)*, 363 (9427), 2151–2161. Retrieved from: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)16508-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)16508-2)

4. Feldman, E.L., Callaghan, B.C., Pop-Busui, R., Zochodne, D.W., Wright, D.E., Bennett, D.L., Bril, V., Russell, J.W., & Viswanathan, V. (2019). Diabetic neuropathy. *Nature reviews. Disease Primers*, 5 (1), 41.

Retrieved from: <https://doi.org/10.1038/s41572-019-0092-1>

5. Juster-Swityk, K., & Smith, A.G. (2016). Updates in diabetic peripheral neuropathy. *F1000Research*, 5, F1000 Faculty Rev-738. Retrieved from: <https://doi.org/10.12688/f1000research.7898.1>

6. Javed, S., Petropoulos, I.N., Alam, U., & Malik, R.A. (2015). Treatment of painful diabetic neuropathy. *Therapeutic Advances in Chronic Disease*, 6 (1), 15-28. Retrieved from: <https://doi.org/10.1177/2040622314552071>

7. Popov, S.V., Melekhovets, O.K., Demikhova, N.V., & Vynnychenko, L.B. (2012). Drug with a high metabolic activity, cocarnit, in the treatment of diabetic cardiac autonomic neuropathy. *Doctor's Case*, (3-4), 75-81.

8. Jolival, C.G., Mizisin, L.M., Nelson, A., Cunha, J.M., Ramos, K.M., Bonke, D., & Calcutt, N.A. (2009). B vitamins alleviate indices of neuropathic pain in diabetic rats. *European Journal of Pharmacology*, 612 (1-3), 41-47. Retrieved from: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2009.04.028>

9. Luong, K. V., & Nguyen, L. T. (2012). The impact of thiamine treatment in the diabetes mellitus. *Journal of Clinical Medicine Research*, 4 (3), 153-160. Retrieved from: <https://doi.org/10.4021/jocmr890w>

10. Karachalias, N., Babaei-Jadidi, R., Rabhani, N., & Thornalley, P. J. (2010). Increased protein damage in renal glomeruli, retina, nerve, plasma and urine and its prevention by thiamine and benfotiamine therapy in a rat model of diabetes. *Diabetologia*, 53 (7), 1506-1516. Retrieved from: <https://doi.org/10.1007/s00125-010-1722-z>

11. Beltramo, E., Mazzeo, A., & Porta, M. (2021). Thiamine and diabetes: back to the future?. *Acta Diabetologica*, 58 (11), 1433-1439. Retrieved from: <https://doi.org/10.1007/s00592-021-01752-4>

12. Li, W., Yu, W., & Haiying, W.U. (2017). *Zhejiang da xue xue bao. Yi xue ban = Journal of Zhejiang University. Medical Sciences*, 46 (2), 179-185.

13. Cruz, P.L., Moraes-Silva, I.C., Ribeiro, A.A., Machi, J.F., de Melo, M., Dos Santos, F., da Silva, M.B., Strunz, C., Caldini, E. G., & Irigoyen, M.C. (2021). Nicotinamide attenuates streptozotocin-induced diabetes complications and increases survival rate in rats: role of autonomic nervous system. *BMC Endocrine Disorders*, 21 (1), 133. Retrieved from: <https://doi.org/10.1186/s12902-021-00795-6>

14. Stevens, M.J., Li, F., Drel, V.R., Abatan, O.I., Kim, H., Burnett, D., Larkin, D., & Obrosova, I.G. (2007). Nicotinamide reverses neurological and neurovascular deficits in streptozotocin diabetic rats. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 320 (1), 458-464. Retrieved from: <https://doi.org/10.1124/jpet.106.109702>

15. Birch, C.S., Brasch, N.E., McCaddon, A., & Williams, J.H. (2009). A novel role for vitamin B(12): Cobalamins are intracellular antioxidants in vitro. *Free Radical Biology & Medicine*, 47 (2), 184-188. Retrieved from: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2009.04.023>

16. Sun, Y., Lai, M.S., & Lu, C.J. (2005). Effectiveness of vitamin B12 on diabetic neuropathy: systematic review of clinical controlled trials. *Acta Neurologica Taiwanica*, 14 (2), 48-54.

17. Karakulova, Yu.V., & Filimonova, T.A. (2017). Monitoring of clinical and neurophysiological parameters

in diabetic polyneuropathy patients receiving metabolic therapy. *Doktor. Ru*, 1 (130), 25-39 [in Russian].

18. Gatckikh, I.V., Brickman, I.N., Gazenkampf, K.A., Petrova, M.M., Veselova, O.F., Shalda, T.P., Narkevich, A.N., & Potupchik, T.V. (2018). Dynamics of neurologic disturbances on the background of combined therapy in patients with type 2 diabetes. *Journal of Neurological Psychiatry named after S.S. Korsakov*, 118 (6), 31-3. DOI: 10.17116/jnevro20181186131. PMID: 30040798 [in Russian].

19. Kotov, S.V., Isakova, E.V., Leidvoll, V.Y., Belova, Y.A., Volchenkova, T.V., Borodin, A.V., & Shvedov, V.A. (2018). The efficacy of cocarnit in diabetic neuropathy. *Journal of Neurological Psychiatry named after S. S. Korsakov*, 118 (1), 37-42. DOI: 10.17116/jnevro20181181137-42. PMID: 29460903 [in Russian].

20. Kotov, S.V., Rudakova, I.G., Isakova, E.V., Belova, Y.A., Volchenkova, T.V., Khirbek, M., & Stashuk, G.A. (2017). Diabetic asymmetric proximal neuropathy. *Journal of Neurological Psychiatry named after S. S. Korsakov*, 117 (1), 59-62. DOI: 10.17116/jnevro20171171159-62. PMID: 28252606 [in Russian].

21. Belousov, D.Yu., & Cheberda, A.E. (2016). Pharmacoeconomic analysis of Cocarnit® complex as treatment for diabetic polyneuropathy. *Good Clinical Practice*, 4, 14-26 [in Russian].

22. Mkrtumyan, A.M., Markova, T.N., & Podachina, S.V. (2016). The possibility of using Cocarnit in the treatment of diabetic polyneuropath. *Endocrinology*, 4, 6-10 [in Russian].

23. Pashkova, I.N., Potupchik, T.V., Gatskih, I.V., Petrova, M.M., Veselova, O.F., Narkevich, A.N., & Shalda, T.P. (2020). Evaluation of the effectiveness of metabolic therapy in the treatment of diabetic polyneuropathy in patients with type 2 diabetes mellitus]. *Issues of biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry*, 10, 25-35. Retrieved from: <https://doi.org/10.29296/25877313-2020-10-04> [in Russian].

24. Novikova, L.B., Tarhanova, I.Yu., Dmitrieva, O.E., Fomichev, A.V., Kakaulina, & L.N. (2018). The use of Cocarnit in the complex therapy of patients with diabetic polyneuropathy in outpatient practice. *Pharmateka*, 11 (364), 80-84. DOI: <https://dx.doi.org/10.18565/pharmateca.2018.11.80-84>

25. Islam, M.S., & Choi, H. (2007). Nongenetic model of type 2 diabetes: a comparative study. *Pharmacology*, 79 (4), 243-249. Retrieved from: <https://doi.org/10.1159/000101989>

26. Randall, L.O., & Selitto, J.J. (1957). A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue. *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie*, 111 (4), 409-419.

27. Santos-Nogueira, E., Redondo Castro, E., Mancuso, R., & Navarro, X. (2012). Randall-Selitto test: a new approach for the detection of neuropathic pain after spinal cord injury. *Journal of Neurotrauma*, 29 (5), 898-904. Retrieved from: <https://doi.org/10.1089/neu.2010.1700>

28. Nikitina, N., Berehovyi, S., Stepanova, L., & Kabanov, O. (2017). Determination of the optimal scheme of administration of Cocarnit to rats with diabetic polyneuropathy using tensoalometric method. *Bulletin of Taras Shevchenko National University: Problems of Regulation of Physiological Functions*, 2 (23), 37-42.

29. Nakajima, K., Nemoto, T., Muneyuki, T., Ka-kei, M., Fuchigami, H., & Munakata, H. (2011). Low serum

amylase in association with metabolic syndrome and diabetes: A community-based study. *Cardiovascular Diabetology*, 10, 34. Retrieved from: <https://doi.org/10.1186/1475-2840-10-34>

30. Aldossari, N.M., El Gabry, E.E., & Gawish, G. (2019). Association between salivary amylase enzyme activity and obesity in Saudi Arabia. *Medicine*, 98 (23), e15878. Retrieved from: <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000015878>

K. V. Tykhonovych¹, T. D. Kryvoruchko¹, K. S. Neporada¹, S. M. Berehovi²

POLTAVA STATE MEDICAL UNIVERSITY¹

INSTITUTE OF BIOLOGY AND MEDICINE OF TARAS SHEVCHENKO KYIV NATIONAL UNIVERSITY²

COCARNIT CORRECTION OF PATHOLOGICAL CHANGES IN SALIVARY GLANDS OF RATS IN CONDITIONS OF DIABETIC NEUROPATHY

Summary

Introduction. One of the most common complications of diabetes is the development of diabetic polyneuropathy, the effects of which on the salivary glands have not been sufficiently studied. The search for pharmacological correction based on the elucidation of the pathogenesis of the development of pathological changes in the salivary glands in diabetic neuropathy remains relevant.

The aim of the study – to study the effect of streptozocin-induced diabetic neuropathy on the development of pathological changes in the salivary glands of rats, as well as substantiating the feasibility of using the drug Cocarnit under these conditions.

Research Methods. Diabetic polyneuropathy in rats was induced by a single injection of streptozocin (Streptozocin, Sigma, USA) at a dose of 65 mg/kg. The development of neuropathy was recorded with analgesimeter according to the Randall-Selitto method. Cocarnit (World Medicine) (1 mg/kg) was administered intramuscularly to rats for 9 days to correct the changes. In the homogenate of the mandibular salivary glands of rats, we determined the activity of α -amylase, catalase, level of medium weight molecules, TBA-active products and oxidatively modified proteins, total proteolytic and total antitryptic activity.

Results and Discussion. Experiments showed that the administration of streptozocin to animals resulted in an increase in the pain sensitivity threshold (PST) on all days of measurement compared to baseline. In rats injected with Cocarnit for 9 days, the PST was lower compared to the group of rats with diabetic polyneuropathy without correction and did not differ from the level of PST in the control. The development of diabetic neuropathy in the mandibular salivary glands of animals decreased amylolytic activity, increased antitryptic activity without changes in proteinase activity, and increased the content of TBA-active products compared to these indicators in control animals. Cocarnit administration for 9 days in diabetic neuropathy resulted in increased amylase activity, normalization of total antitryptic activity, and inhibition of lipid peroxidation in rat salivary glands compared to the uncorrected neuropathy model.

Conclusions. Cocarnit administration restored pain sensitivity to control values. Cocarnit normalized the suppressed protein-synthetic function of the salivary glands of rats in diabetic neuropathy and inhibited the development of oxidative stress.

KEY WORDS: **diabetic neuropathy; salivary glands; Cocarnit; oxidative stress.**

Отримано 24.01.22

Адреса для листування: К. В. Тихонович, Полтавський державний медичний університет, вул. Шевченка, 23, Полтава, 36011, Україна, e-mail: tikhonovich.kseniia@gmail.com.