



# Антиоксидантна терапія на основі екстрактів плодів різних сортів дерену справжнього (*Cornus mas* L.) як спосіб зменшення нітративного стресу в еритроцитах крові за експериментального цукрового діабету

I. V. Brodyak<sup>1</sup>, A. A. Moroz<sup>1</sup>, A. Z. Kucharska<sup>2</sup>, N. O. Sybirna<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка, Україна, <sup>2</sup>Вроцлавський університет природничих наук, Польща

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

За цукрового діабету (ЦД) для запобігання розвитку оксидативно-нітративного стресу застосовують природні антиоксиданти (вітаміни, біофлавоноїди, антоціани тощо), які допомагають відновити функціональні порушення в клітинах і тканинах організму або запобігти їм.

**Мета роботи** – дослідити вплив екстрактів плодів різних сортів дерену, а також їхнього основного іридоїдного глікозиду – логанової кислоти на активність NO-синтази та рівень стабільних метаболітів оксиду нітрогену в еритроцитах периферичної крові щурів зі стрептозотозин-індукованим ЦД.

**Матеріали і методи.** Під час роботи використали екстракти плодів дерену справжнього сорту «Podolski» (BDPA 10462), стиглі плоди якого мають червоне забарвлення, сорти «Yantarnyi» (BDPA 14131) і «Flava» (BDPA 8795), стиглі плоди яких мають жовте забарвлення. Логанову кислоту екстрагували з жовтих плодів дерену сортів «Yantarnyi» і «Flava». Екстракти, що вивчали, тваринам вводили перорально впродовж 14 днів, починаючи з десятого дня після індукції ЦД. Дозування становило 20 мг/кг маси тіла.

**Результати.** Встановлено, що найбільш виражений ефект щодо нормалізації досліджуваних біомаркерів нітративного стресу (активність NO-синтази та її ізоформ, вміст нітрит- і нітрат-аніонів) в еритроцитах крові щурів із діабетом мав екстракт червоних плодів дерену справжнього. Екстракт жовтих плодів дерену пригнічує нітративний стрес, про що свідчить зниження активності індукційної ізоформи NO-синтази до значень, встановлених у контрольній групі тварин. Логанова кислота, навпаки, інгібувала конститутивну ізоформу NO-синтази. Крім того, екстракт жовтих плодів дерену та логанова кислота знижували рівень  $\text{NO}_3^-$  і збільшували вміст  $\text{NO}_2^-$  в еритроцитах щурів із ЦД.

**Висновки.** Нормалізація біомаркерів нітративного стресу в еритроцитах крові щурів зі стрептозотозин-індукованим діабетом вказує на антиоксидантні властивості екстрактів плодів дерену справжнього, зокрема сорту «Podolski», стиглі плоди якого містять значну кількість антоціанів.

**Ключові слова:** стрептозотозин-індукований цукровий діабет, еритроцити, синтаза оксиду нітрогену, нітрит- і нітрат-аніони, екстракти плодів дерену справжнього (*Cornus mas* L.).

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2024. Т. 17, № 2(45). С. 154-159

## Fruit extracts of various cornelian cherry (*Cornus mas* L.) cultivars as antioxidant therapy for alleviating nitrate stress in erythrocytes of blood in experimental diabetes mellitus

I. V. Brodyak, A. A. Moroz, A. Z. Kucharska, N. O. Sybirna

Natural antioxidants (vitamins, bioflavonoids, anthocyanins, etc.) are used to prevent the development of oxidative-nitrate stress in diabetes mellitus (DM), which helps to restore or avert functional disorders in the cells and tissues of the body.

**The aim of the study** is to investigate the effect of extracts of the fruit of different cultivars of the cornelian cherry, as well as their main iridoid glycoside – loganic acid, on the activity of NO-synthase and the content of stable metabolites of NO in blood erythrocytes of rats with streptozotocin-induced diabetes.

**Materials and methods.** In the work, we used the extract of the fruits of the cornelian cherry “Podolski” cultivar (BDPA 10462), the ripe fruits of which have a red color, and the extract of the “Yantarnyi” (BDPA 14131) and “Flava” (BDPA 8795) cultivars, the ripe fruits of which have a

### ARTICLE INFO

UDC 616.379-008.64-085.322:582.788]-092.9

DOI: 10.14739/2409-2932.2024.2.301202

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(2):154-159

**Keywords:** streptozotocin-induced diabetes mellitus, erythrocytes, nitric oxide synthase, nitrite anions, nitrate anions, extracts of fruits of cornelian cherry (*Cornus mas* L.).

\*E-mail: [iryna.brodyak@lnu.edu.ua](mailto:iryna.brodyak@lnu.edu.ua)

Received: 03.04.2024 // Revised: 29.04.2024 // Accepted: 09.05.2024

yellow color. Loganic acid was extracted from yellow fruits of the “Yantarnyi” and “Flava” cultivars of *Cornus mas* L. All studied extracts were administered to rats orally for 14 days from the 10th day after the induction of DM. The dose of administration was 20 mg/kg body weight.

**Results.** The extract of the red fruits is demonstrated the most pronounced effect in normalizing the biomarkers of nitrate stress (activity of NO-synthase and its isoforms, the content of nitrite and nitrate anions) in erythrocytes of rats with diabetes. The extract of the yellow fruits shows a positive effect on the suppression of nitrate stress, which has been indicated by a decrease in the activity of iNO-synthase to the values in the control group of animals. Loganic acid, on the contrary, inhibited the eNO-synthase. In addition, the extract of yellow fruits of cornelian cherry and loganic acid decreased the level of  $\text{NO}_3^-$  and increased the content of  $\text{NO}_2^-$  in erythrocytes of diabetic rats.

**Conclusions.** Biomarkers of nitrate stress in erythrocytes of rats with streptozotocin-induced diabetes indicated the antioxidant properties of fruit extracts of cornelian cherry, in particular the red fruits, which contain a large amount of anthocyanins.

**Keywords:** streptozotocin-induced diabetes mellitus, erythrocytes, nitric oxide synthase, nitrite anions, nitrate anions, extracts of fruits of cornelian cherry (*Cornus mas* L.).

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(2): 154-159**

Еритроцити, незважаючи на те, що є без'ядерними клітинами крові та позбавлені значної кількості органел, містять до 2650 різних білків [1]. Для цих клітин крові характерна експресія двох ізоформ синтази оксиду нітрогену (Nitric Oxide Synthase – NOS, EC 1.14.13.39) – ендотеліальної та індукційної (eNOS та iNOS відповідно) [2]. Продукт NOS реакції – оксид нітрогену (NO), що бере участь у регуляції вазодилатації, агрегації тромбоцитів, запалення, адаптації до гіпоксії та оксидативного стресу. Зважаючи на це, еритроцити стали перспективною терапевтичною мішенню у підтриманні гомеостазу NO [3].

Оксид нітрогену надзвичайно швидко ( $6-8 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$ ) реагує з оксигемоглобіном, утворюючи кінцеві продукти метаболізму – нітрати ( $\text{NO}_3^-$ ) і метгемоглобін. Окиснення NO до  $\text{NO}_3^-$  захищає еритроцити від респіраторного отруєння та нітрозативного стресу, проте при патологічних станах цей механізм знижує біодоступність NO. З цієї причини еритроцити спочатку вважали скаведжерами NO, а не його джерелом. Експериментально доведено, що еритроцити можуть не лише синтезувати, але й депонувати та транспортувати NO [4]. Альтернативно  $\text{NO}_2^-$  відновлюється дезоксигемоглобіном або ксантиноксидоредуктазою, а тому також є джерелом NO [3].

За патофізіологічних станів, включаючи цукровий діабет (ЦД), еритроцити зазнають функціональних змін, що полягають у зниженні експорту біоактивного NO та збільшеному утворенні активних форм Оксигену [5]. Оскільки ЦД належить до вільнорадикальних захворювань, антиоксиданти є надзвичайно корисними для зниження оксидативного стресу, дають змогу відновити структурно-функціональні порушення в еритроцитах або запобігти їм. Захист функцій еритроцитів необхідний не лише для цих клітин крові, але й майже для будь-якої тканини або органа в організмі [6].

Антиоксидантні властивості екстрактів плодів дерену справжнього (*Cornus mas* L.) ґрунтуються на здатності безпосередньо поглинати вільні радикали, регулювати опосередкований ензимами (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіонпероксидаза) і неензиматичний (відновлений глутатіон) антиоксидантний захист організму [7,8,9]. Біологічно активні речовини, що містяться в екстрактах

плодів дерену, можуть модулювати численні сигнальні шляхи (наприклад, кварцетин інгібує активності iNOS, ксантиноксидоредуктази), підтримуючи редокс-баланс на рівні організму [7,8,10,11].

### Мета роботи

Дослідити вплив екстрактів плодів різних сортів дерену, а також їхнього основного іридоїдного глікозиду – логанової кислоти на активність NO-синтази та рівень стабільних метаболітів оксиду нітрогену в еритроцитах периферичної крові щурів зі стрептозотоксин-індукованим ЦД.

### Матеріали і методи дослідження

Дослідження здійснили на самцях білих щурів лінії Wistar. Тварин утримували в стандартних умовах віварію, дотримуючись міжнародних норм щодо гуманного поводження з лабораторними тваринами та вимог ст. 26 Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження». Біоетичну експертизу дослідів, що здійснили на біологічному факультеті Львівського національного університету імені Івана Франка, оформлено як протокол № 43-03-2024 від 20.03.2024 р.

Тваринам забезпечували вільний доступ до стандартної їжі та води з 12-годинним циклом світло / темрява, із температурою в приміщенні  $22 \pm 2^\circ \text{C}$  та вологістю  $60 \pm 5\%$ .

Після двотижневого періоду адаптації ЦД індукований одноразовим внутрішньоочеревинним введенням стрептозотоксину, який розводили в 10 мМ цитратному буфері (рН 4,5). Дозування становило 55 мг на 1 кг маси тіла. Стрептозотоксин введено тваринам, які голодували впродовж ночі. Через 72 год після ін'єкції забирали зразки крові з хвостової вени і вимірювали рівень глюкози в крові глюкозооксидазним методом, використовуючи діагностичний набір «Філісіт» (Дніпро, Україна). Щурі з рівнем глюкози в крові понад 10–12 мМ залучені до експерименту. Контрольну групу сформували з інтактних тварин із рівнем глюкози 3,7–5,0 мМ.

Тварин поділили на п'ять експериментальних груп по 6 щурів у кожній. Перша група – контрольна. У другу групу залучили тварин зі стрептозотоксин-індукованим ЦД. Третю, четверту та п'яту групи сформували зі щурів

з експериментальним ЦД, яким вводили екстракт червоних плодів дерену справжнього, екстракт жовтих плодів дерену та логанову кислоту відповідно. Усі екстракти вводили тваринам перорально впродовж 14 днів, починаючи з десятого дня після індукції ЦД. Дозування становило 20 мг/кг маси тіла [7,8].

В останній день експерименту щурів усіх дослідних груп декапітували під ефірним наркозом і брали зразки крові.

Під час роботи використали екстракти плодів дерену справжнього сорту «Podolski» (BDPA 10462), стиглі плоди якого мають червоне забарвлення; сорти «Yantarnyi» (BDPA 14131) і «Flava» (BDPA 8795), стиглі плоди яких мають жовте забарвлення [7]. Логанову кислоту екстрагували з жовтих плодів дерену сортів «Yantarnyi» і «Flava» [8].

Для запобігання коагуляції кров забирали із додаванням гепарину у співвідношенні 1 : 100 (гепарин : кров). Для розділення й отримання еритроцитарної маси кров в об'ємі 2 мл піддавали центрифугуванню впродовж 15 хв зі швидкістю 3000 об/хв. Еритроцити тричі промивали холодним (+4 °C) фосфатно-сольовим буфером (137 мМ NaCl, 2,7 мМ KCl, 10 мМ Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> × 7H<sub>2</sub>O, 1,8 мМ KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; рН 7,4). Для гемолізу еритроцитів використовували дистильовану воду у співвідношенні 1 : 3.

Вміст NO<sub>2</sub><sup>-</sup> та NO<sub>3</sub><sup>-</sup> визначали у гемолізатах еритроцитів крові щурів після депротейнізування 96 % етанолом із подальшим центрифугуванням (5000 об/хв, 20 хв, +20 °C). Для визначення вмісту нітрат-аніонів у лунки мікропланшетів додавали по 70 мкл отриманого супернатанту, 70 мкл 50 мМ VCl<sub>3</sub> (для відновлення NO<sub>3</sub><sup>-</sup> до NO<sub>2</sub><sup>-</sup>), розчиненого в 1 М HCl, і 70 мкл реактиву Грісса (0,05 % N-(1-нафтил)-етиленадіамін та 1 % сульфаніламід у 12 % оцтової кислоти у співвідношенні 1 : 1). Для визначення вмісту нітрит-аніонів – 100 мкл супернатанту та 100 мкл реактиву Грісса. Отримані зразки інкубували за температури +37 °C впродовж 30 хв і за допомогою спектрофотометра (Epoch, Biotek, США) вимірювали оптичну густина за λ = 540 нм. Для обчислення результатів вимірювань використали калібрувальні криві, побудовані на основі стандартних розчинів NaNO<sub>2</sub> і NaNO<sub>3</sub> відповідно [12]. Результати наведено в пікомольх на міліграм білка (пмоль/мг білка). Концентрацію білка визначали за методом Лоурі [13].

Для визначення активності NO-синтази (NOS) до зразків додавали інкубаційну суміш (10 мМ HEPES буфер із 1 М MgCl<sub>2</sub>, 1 М CaCl<sub>2</sub>, 3 мМ L-аргініном, 0,1 мМ НАДФН). Реакцію в зразках зупиняли після 30 хв інкубації за +37 °C, додавши 96 % етанол у співвідношенні 1 : 3, та центрифугували 20 хв зі швидкістю 5000 об/хв і за температури +20 °C. Для підготовки аналітичних проб 100 мкл отриманого супернатанту та 100 мкл реактиву Грісса вносили у лунки мікропланшетів. Після цього суміш інкубували 30 хв за +37 °C та вимірювали оптичну густина за λ = 540 нм. Активність NOS виражали в пмоль новоутвореного NO<sub>2</sub><sup>-</sup> за 1 хв у розрахунку на 1 мг білка.

Для визначення активності індукбельної NOS (iNOS) використовували схожий метод (для вимірювання активності Ca<sup>2+</sup>-незалежної NOS до інкубаційної суміші додавали 1 М EDTA замість 1 М CaCl<sub>2</sub>). Для визначення активності конститутивної NOS (eNOS) віднімали активність iNOS від загальної активності NOS [14,15].

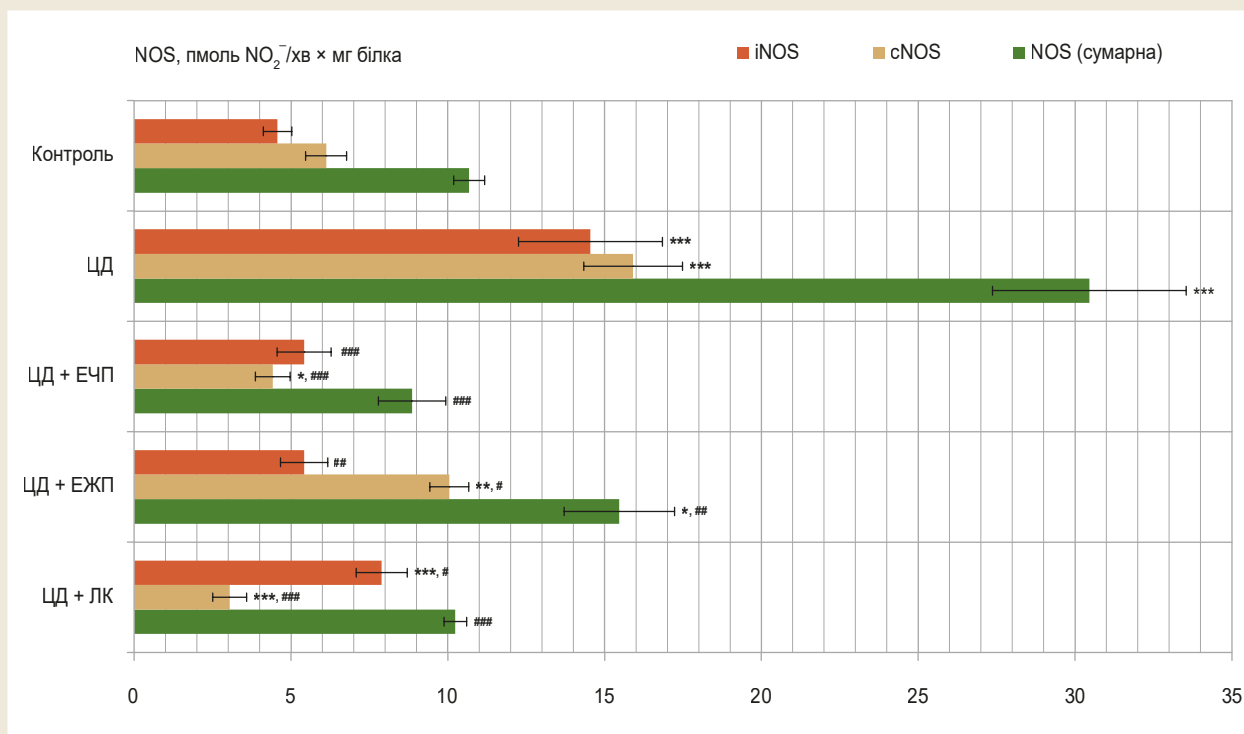
Основні статистичні показники обчислили на основі прямих кількісних даних, отриманих під час досліджень. Для оцінювання вірогідності різниці між статистичними характеристиками двох альтернативних наборів даних користувалися однофакторним дисперсійним аналізом (ANOVA 1), аналіз здійснили за допомогою програми Microsoft Excel 2023. Дані наведено як середні значення (M) ± стандартне відхилення (m). Різницю між групами вважали статистично значущою, якщо значення p ≥ 0,95 (рівень значущості p < 0,05), обраховане в програмі StatPlus.

## Результати

Встановили, що в еритроцитах щурів із ЦД активність NOS (сумарна) зросла у 2,9 раза порівняно з контрольною групою тварин (рис. 1). У діабетичних тварин, які перорально отримували екстракти плодів дерену справжнього, активність NOS в еритроцитах знижувалася. У разі введення екстракту червоних плодів зафіксовано зниження в 3,4 раза, жовтих плодів – вдвічі, логанової кислоти – втричі порівняно зі стрептозотоцин-індукованим діабетом (рис. 1).

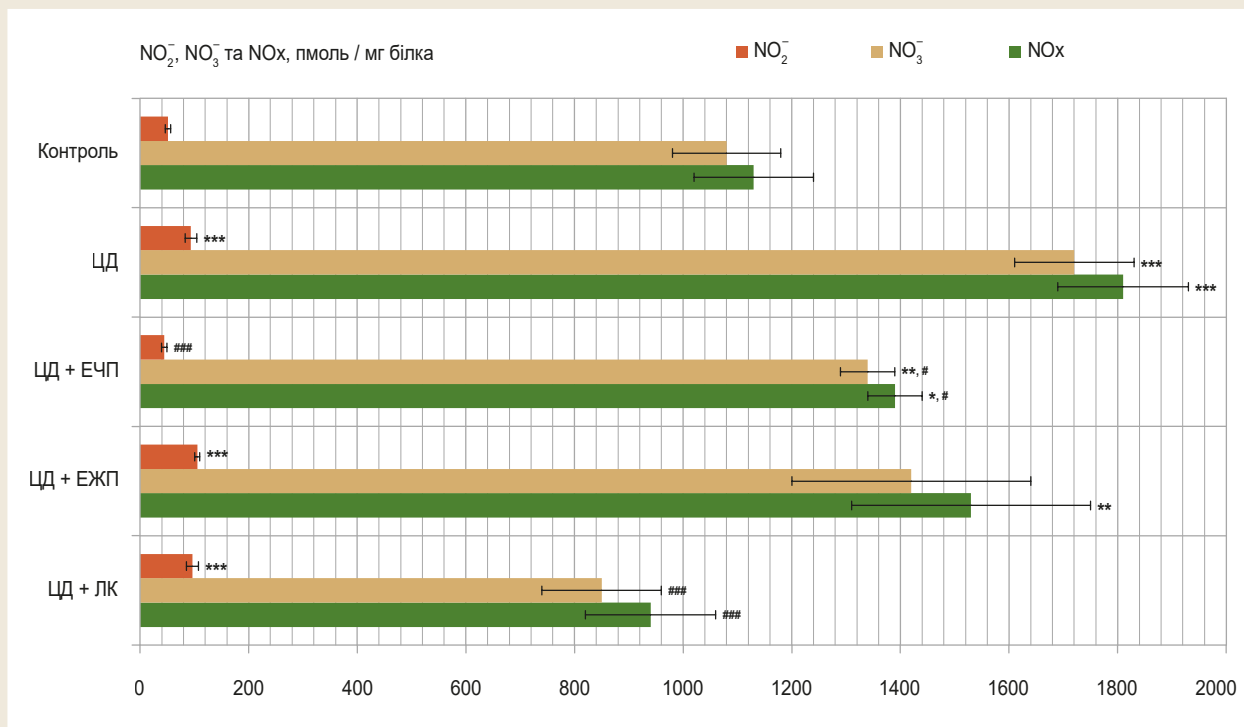
При впливі екстрактів на активність ізоформ NOS спостерігали зниження активності iNOS у 3,3 раза, eNOS – у 3,6 раза в щурів із діабетом, яким перорально вводили екстракт червоних плодів дерену, порівняно з тваринами з ЦД (рис. 1). Екстракт жовтих плодів також зумовлював достовірне зниження активності iNOS та eNOS у 2,7 та 1,6 раза відповідно в еритроцитах щурів порівняно з групою ЦД (рис. 1). У щурів із діабетом, яким вводили логанову кислоту, визначили вірогідне зниження активності iNOS та eNOS в еритроцитах у 1,8 та 5,2 раза відповідно порівняно з групою ЦД (рис. 1).

За діабету підвищується концентрація стабільних метаболітів оксиду нітрогену – аніонів NO<sub>2</sub><sup>-</sup> та NO<sub>3</sub><sup>-</sup> в еритроцитах (у 1,8 і 1,6 раза відповідно) порівняно з контрольною групою (загальне збільшення рівня метаболітів оксиду нітрогену (NOx) – у 1,6 раза, рис. 2). Введення екстракту червоних плодів дерену щурам із діабетом призвело до зниження в еритроцитах вмісту аніонів NO<sub>2</sub><sup>-</sup> (у 2,1 раза) та NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (в 1,3 раза), загального зниження рівня метаболітів NOx (в 1,3 раза) порівняно з групою щурів зі стрептозотоцин-індукованим ЦД (рис. 2). Водночас у щурів, яким вводили екстракт жовтих плодів дерену, виявлено зниження вмісту аніонів NO<sub>3</sub><sup>-</sup> на фоні зростання концентрації NO<sub>2</sub><sup>-</sup> порівняно з групою щурів зі стрептозотоцин-індукованим діабетом (рис. 2). Такі самі зміни виявлено і в разі впливу логанової кислоти – збільшення вмісту аніонів NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, зменшення вмісту аніонів NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (у 2,0 раза) і зниження рівня NOx (у 1,9 раза) (рис. 2).



**Рис. 1.** Вплив екстрактів червоних (ЕЧП) і жовтих (ЕЖП) плодів дерену справжнього та логанової кислоти (ЛК) на активність NO-синтази (NOS) еритроцитів периферичної крові щурів зі стрептозотоцин-індукованим діабетом ( $M \pm m$ ,  $n = 6-10$ ).

\*:  $p \geq 0,95$ ; \*\*:  $p \geq 0,99$ ; \*\*\*:  $p \geq 0,999$  – різниця достовірна порівняно з контрольною групою тварин;  
#:  $p \geq 0,95$ ; ##:  $p \geq 0,99$ ; ###:  $p \geq 0,999$  – різниця вірогідна порівняно з діабетичною групою тварин.



**Рис. 2.** Вміст стабільних метаболітів NO в еритроцитах крові щурів зі стрептозотоцин-індукованим ЦД за введення екстрактів червоних (ЕЧП) і жовтих (ЕЖП) плодів дерену справжнього та логанової кислоти (ЛК).

\*:  $p \geq 0,95$ ; \*\*:  $p \geq 0,99$ ; \*\*\*:  $p \geq 0,999$  – різниця достовірна порівняно з контрольною групою тварин;  
#:  $p \geq 0,95$ ; ##:  $p \geq 0,99$ ; ###:  $p \geq 0,999$  – різниця вірогідна порівняно з діабетичною групою тварин.

## Обговорення

Дослідили й проаналізували вплив екстрактів плодів різних сортів дерену на загальну активність NOS, а також на активність її конститутивної та індукційної ізоформ в еритроцитах щурів (рис. 1). Встановлено, що активність NOS в еритроцитах за діабетупідвищується, що зумовлено розвитком оксидативно-карбонільного стресу на рівні організму [3]. У всіх групах діабетичних тварин, що перорально отримували екстракти плодів різних сортів дерену справжнього, виявлено достовірне зниження активності NOS в еритроцитах. Екстракт червоних плодів дерену справжнього мав найкращий ефект серед досліджених екстрактів щодо нормалізації активності NOS. Така дія може бути зумовлена вмістом великої кількості антоціанів та, безумовно, комплексним впливом всіх інших компонентів екстракту [7,10]. В екстракті жовтих плодів немає антоціанів, але є більша кількість іридоїдів і більше флавонолів порівняно з червоними плодами [7]. Можливо, саме значний вміст іридоїдів і флавонолів зумовив сильніший ефект щодо зниження активності iNOS, ніж eNOS. Варто звернути увагу, що у разі введення екстракту жовтих плодів дерену справжнього діабетичним тваринам активність eNOS в еритроцитах підвищується порівняно з контрольною групою тварин. Високий вміст флавонолів міг спричинити такі зміни, адже відомо, що флавоноли активують eNOS на рівні посттрансляційної модифікації способом фосфорилування через шляхи мітоген-активованих протеїнкіназ у клітинах, індукованих глюкозою [16]. Здійснили порівняльний аналіз зміни активності ізоформ NOS у групі тварин, яким вводили логанову кислоту, із контрольної групою тварин. Встановили, що активність iNOS не знижувалася до значень у контролі ( $p \geq 0,999$ ), а активність eNOS нижча за контрольні показники ( $p \geq 0,999$ ).

Отже, введення екстрактів плодів різних сортів дерену має позитивний вплив на активність NOS в еритроцитах крові щурів зі стрептозотоцин-індукованим ЦД. Найвираженіший ефект щодо нормалізації досліджених показників мав екстракт червоних плодів дерену справжнього. Позитивний ефект щодо пригнічення нітративного стресу властивий екстракту жовтих плодів *S. mas*. Про це свідчить зниження активності індукційної ізоформи NOS до значень у контрольній групі тварин. Логанова кислота, навпаки, найбільше інгібувала конститутивну ізоформу NOS.

Основним стабільним метаболітом NO в еритроцитах зазвичай є  $\text{NO}_3^-$ . Виявлене підвищення концентрації нітрит- і нітрат-аніонів в еритроцитах за діабету є наслідком підвищення активності NOS та дисфункції ендотелію, що є типовою для цієї ендокринної патології. З іншого боку,  $\text{NO}_2^-$  може бути продуктом внутрішньоеритроцитарного метаболізму  $\text{NO}_3^-$ , і його концентрація теж варіює залежно від біохімічних змін, що відбуваються на різних етапах розвитку діабету [3]. За ЦД збільшення вмісту  $\text{NO}_2^-$  та  $\text{NO}_3^-$  зумовлене також інтенсивним окисненням оксиду нітрогену. Ці зміни пов'язані з різними аспектами патології ендотелію й

оксидативного стресу, що характерні для діабету. Крім того, значний вплив на синтез NO має асиметричний диметиларгінін, що змінює вміст  $\text{NO}_2^-$  і  $\text{NO}_3^-$  в еритроцитах під час діабету [3,17].

В еритроцитах щурів зі стрептозотоциновим діабетом, яким вводили екстракт червоних плодів дерену справжнього, вміст нітрит- і нітрат-аніонів достовірно знижується. Результати дослідження дали змогу встановити: екстракт червоних плодів дерену може коригувати вміст метаболітів NO в еритроцитах за діабету завдяки наявності в цих плодах антоціанів, іридоїдів і флавонолів. Ці біологічно активні речовини прямо (безпосередньо зв'язують вільні радикали [10]) та опосередковано (антигіперглікемічний та антиоксидантний ефекти досліджених екстрактів [7,8,10]) впливають на реакції перетворення метаболітів, що вивчали [18].

У щурів зі стрептозотоцин-індукованим діабетом, яким впродовж 14 днів перорально вводили екстракт жовтих плодів дерену та логанову кислоту, вміст  $\text{NO}_3^-$  зменшувався порівняно з діабетичними тваринами, проте концентрація  $\text{NO}_2^-$  підвищувалася порівняно з контролем. Оскільки обидва екстракти у значній кількості містять іридоїди, можливо, саме вони насамперед впливають на рівень метаболітів NO в еритроцитах. Одержані результати дають підстави стверджувати, що в разі введення екстрактів плодів дерену справжнього відбуваються зміни вмісту стабільних метаболітів NO.

## Висновки

1. Активність NO-синтази в еритроцитах знижується у всіх дослідних групах тварин, яким вводили екстракти плодів різних сортів дерену. Найбільш виражені ефекти мав екстракт червоних плодів дерену справжнього, нижчою ефективністю характеризувався екстракт жовтих плодів *Cornus mas* L. Логанова кислота найбільше впливала на зниження активності конститутивної ізоформи NOS.

2. Екстракт червоних плодів дерену знижує рівень стабільних метаболітів NO в еритроцитах, а екстракт жовтих плодів дерену та логанова кислота знижують рівень лише  $\text{NO}_3^-$  в еритроцитах щурів із цукровим діабетом.

3. Нормалізація біомаркерів нітративного стресу в еритроцитах крові щурів зі стрептозотоцин-індукованим діабетом вказує на антиоксидантні властивості екстрактів плодів дерену справжнього, зокрема сорту «Podolski», стиглі плоди якого містять значну кількість антоціанів.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

**Conflicts of interest:** authors have no conflict of interest to declare.

## Відомості про авторів:

Бродяк І. В., канд. біол. наук, доцент каф. біохімії, Львівський національний університет імені Івана Франка, Україна.

ORCID ID: 0000-0003-1157-2349

Мороз А. А., аспірантка 2 року денної форми навчання, каф. біохімії, Львівський національний університет імені Івана Франка, Україна.

ORCID ID: 0000-0001-5313-6778

Кучарська А. З., д-р біол. наук, професор каф. фруктових, овочевих та рослинних nutriцевичних технологій, Вроцлавський університет природничих наук, Польща.

ORCID ID: 0000-0002-2172-0408

Сибірна Н. О., д-р біол. наук, професор, зав. каф. біохімії, Львівський національний університет імені Івана Франка, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-9217-3931

#### Information about the authors:

Brodyak I. V., PhD, Associate Professor of the Department of Biochemistry, Ivan Franko National University of Lviv, Ukraine.

Moroz A. A., PhD-student of the Department of Biochemistry, Ivan Franko National University of Lviv, Ukraine.

Kucharska A. Z., PhD, DSc, Professor, Department of Fruit, Vegetable and Plant Nutraceutical Technology, Wrocław University of Environmental and Life Sciences, Poland.

Sybirna N. O., PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Biochemistry, Ivan Franko National University of Lviv, Ukraine.

#### References

- Bryk AH, Wisniewski JR. Quantitative analysis of human red blood cell proteome. *J Proteome Res.* 2017;16(8):2752-61. doi: [10.1021/acs.jproteome.7b00025](https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.7b00025)
- Cortese-Krott MM, Kelm M. Endothelial nitric oxide synthase in red blood cells: key to a new erythrocrine function? *Redox Biol.* 2014;2:251-8. doi: [10.1016/j.redox.2013.12.027](https://doi.org/10.1016/j.redox.2013.12.027)
- Gajecki D, Gawryś J, Szahidewicz-Krupska E, Doroszko A. Role of erythrocytes in nitric oxide metabolism and paracrine regulation of endothelial function. *Antioxidants.* 2022;11(5):943. doi: [10.3390/antiox11050943](https://doi.org/10.3390/antiox11050943)
- Helms CC, Gladwin MT, Kim-Shapiro DB. Erythrocytes and vascular function: oxygen and nitric oxide. *Front Physiol.* 2018;9:125. doi: [10.3389/fphys.2018.00125](https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00125)
- Yang J, Zheng X, Mahdi A, Zhou Z, Tratsiakovich Y, Jiao T, et al. Red blood cells in type 2 diabetes impair cardiac post-ischemic Recovery through an arginase-dependent modulation of nitric oxide synthase and reactive oxygen species. *JACC Basic Transl Sci.* 2018;3(4):450-63. doi: [10.1016/j.jacbts.2018.03.006](https://doi.org/10.1016/j.jacbts.2018.03.006)
- Jasenovec T, Radosinska D, Kollarova M, Balis P, Ferenczyova K, Kalocayova B, et al. Beneficial effect of quercetin on erythrocyte properties in type 2 diabetic rats. *Molecules.* 2021;26:4868. doi: [10.3390/molecules26164868](https://doi.org/10.3390/molecules26164868)
- Dzydzan O, Bila I, Kucharska AZ, Brodyak I, Sybirna N. 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;10(10):6459-72. doi: [10.1039/C9FO00515C](https://doi.org/10.1039/C9FO00515C)
- Dzydzan O, Brodyak I, Sokół-Łętowska A, Kucharska AZ, Sybirna N. 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 (Basel).* 2020;10(12):349. doi: [10.3390/life10120349](https://doi.org/10.3390/life10120349)
- Seniv MB, Dzydzan OV, Brodyak IV, Kucharska AZ, Sybirna NO. Antioxidant effect of extract of yellow fruits of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) in rats' leukocytes under streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Studia Biologica.* 2021;15(1):15-26. doi: [10.30970/sbi.1501.645](https://doi.org/10.30970/sbi.1501.645)
- Dzydzan O, Brodyak I, Strugała-Danak P, Strach A, Kucharska AZ, Gabrielska J, et al. Biological activity of extracts of red and yellow fruits of *Cornus mas* L. – an in vitro evaluation of antioxidant activity, inhibitory activity against  $\alpha$ -glucosidase, acetylcholinesterase, and binding capacity to human serum albumin. *Molecules.* 2022;27:2244. doi: [10.3390/molecules27072244](https://doi.org/10.3390/molecules27072244)
- Xu D, Hu M-J, Wang Y-Q, Cui Y-L. Antioxidant activities of quercetin and its complexes for medicinal application. *Molecules.* 2019;24(6):1123. doi: [10.3390/molecules24061123](https://doi.org/10.3390/molecules24061123)
- Miranda KM, Espey MG, Wink DA. A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide.* 2001;5(1):62-71. doi: [10.1006/niox.2000.0319](https://doi.org/10.1006/niox.2000.0319)
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chemistry.* 1951;193(1):265-75.
- Ferents IV, Brodyak IV, MY, Burda VA, Fedorovych AM, Sybirna NO. [The effect of agmatine on L-arginine metabolism in erythrocytes under streptozotocin-induced diabetes in rats]. *Ukr Biochem J.* 2012;84(3):55-62. Ukrainian. Available from: [http://ua.ukrbiochem-journal.org/wp-content/uploads/sites/3/2016/04/Ferents\\_84\\_3.pdf](http://ua.ukrbiochem-journal.org/wp-content/uploads/sites/3/2016/04/Ferents_84_3.pdf)
- Dawson J, Knowles RG. A microtiter-plate assay of human NOS isoforms. *Methods Mol Biology.* 1998;100:237-42. doi: [10.1385/1-59259-749-1:237](https://doi.org/10.1385/1-59259-749-1:237)
- Kim CE, Han S, Kim MH, Kim S-W. Flavonoids activate endothelial nitric oxide synthase by altering their phosphorylation via mitogen-activated protein kinase pathways in glucose-induced endothelial cells. *J Functional Foods.* 2015;17:676-84. doi: [10.1016/j.jff.2015.06.038](https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.038)
- Öztürk Z. Diabetes, oxidative stress and endothelial dysfunction. *Bezmialem Science.* 2019;7(1):52-7. doi: [10.14235/bas.galenos.2017.2145](https://doi.org/10.14235/bas.galenos.2017.2145)
- Klymenko S, Kucharska AZ, Sokół-Łętowska A, Piórecki N, Przybylska D, Grygorieva O. Iridoids, flavonoids, and antioxidant capacity of *Cornus mas*, *C. officinalis*, and *C. mas* × *C. officinalis* Fruits. *Biomolecules.* 2021;11(6):776. doi: [10.3390/biom11060776](https://doi.org/10.3390/biom11060776)