

DOI: 10.31793/1680-1466.2021.26-3.271

Роль вітаміну D-авто-/ паракринної системи в розвитку метаболічного запального процесу в тканині печінки за експериментального цукрового діабету 2-го типу

І.О. Шиманський¹,
А.О. Мазанова¹,
О.О. Лісаковська¹,
Д.О. Лабудзинський¹,
О.О. Макарова¹,
Ю.І. Комісаренко²,
М.М. Великий¹

¹Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України

²Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця

Резюме. На сьогодні дефіцит вітаміну D₃ (холекальциферолу) та порушення сигналювання через рецептор вітаміну D (vitamin D receptor, VDR) вважають одними із факторів ризику розвитку гепатопатії на тлі цукрового діабету 2-го типу (ЦД2). Протизапальна і гепатопротекторна дія вітаміну D₃ і в цілому наукове обґрунтування можливості його ефективного застосування в клініці ЦД2 активно висвітлюється в літературі, однак конкретні механізми залишаються недостатньо з'ясованими. **Мета** — дослідження впливу вітаміну D₃ на рівень експресії мРНК ключових компонентів вітаміну D-авто-/паракринної системи та цитокінового шляху фактора некрозу пухлини-альфа/транскрипційного фактора NF-κB (tumor necrosis factor alpha/nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, TNF-α/NF-κB) у тканині печінки за експериментального ЦД2. **Матеріал і методи.** У щурів-самців лінії Вістар викликали ЦД2 шляхом поєднання високожирової дієти та низької дози стрептозо-тоцину (25 мг/кг). Вимірювання вмісту триацилгліцеролів, холестеролу, вищих жирних кислот, загальних ліпідів та загального холестеролу в сироватці крові проводили стандартними біохімічними методами. Вміст 25(OH)D визначали методом імуноензимного аналізу. Аналіз експресії мРНК генів *RelA*, *Ikb*, *Tnf-α*, *Cyp27a1*, *Cyp2r1*, *Cyp27b1* та *Vdr* проводили методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) у реальному часі. **Результати.** Експериментальний ЦД2 супроводжувався дефіцитом вітаміну D в організмі піддослідних тварин та розвитком діабетичної гепатопатії, свідченням чого є підвищення активності аланінамінотрансферази, а також акумулювання холестеролу, триацилгліцеролів і вищих жирних кислот у крові тварин. Показано зниження вмісту мРНК ключових компонентів вітаміну D-авто-/паракринної системи в печінці діабетичних тварин, що призводило до порушення сигналювання через VDR та активування цитокінового шляху TNF-α/NF-κB. Введення вітаміну D₃

© І.О. Шиманський, А.О. Мазанова, О.О. Лісаковська, Д.О. Лабудзинський,
О.О. Макарова, Ю.І. Комісаренко, М.М. Великий

Оригінальні дослідження

в дозі 800 МО/кг протягом 30 діб тваринам із ЦД2 істотно нормалізувало експресію *Vdr* та ензимів метаболічного перетворення вітаміну D у тканині печінки та знижувало експресію прозапальних факторів — NF-κB та TNF-α. **Висновки.** Застосування вітаміну D₃ в комплексній терапії ЦД2 потенційно може чинити гепатопротекторний ефект шляхом нормалізування функціонального стану вітаміну D-авто-/паракринної системи печінки та модулювання прозапальних процесів, залежних від ядерного фактора κB.

Ключові слова: цукровий діабет 2-го типу, діабетична гепатопатія, прозапальні цитокіни, вітаміну D-авто-/паракринна система, вітаміну D₃, гепатопротекторний ефект.

На сьогодні дефіцит вітаміну D набув статусу пандемії з вираженими клінічними ефектами [1]. Його поширеність варіюється в залежності від географічного положення, сезону та етнічної приналежності. Попри певні відмінності в лабораторних методах, які використовуються для визначення порогової величини забезпеченості вітаміном D та його дефіциту в різних країнах, очевидним є факт, що практично в усьому світі реєструються субоптимальні рівні 25-гідроксиколекальциферолу (25(OH)D) — маркеру рівня вітаміну D в організмі, у будь-якій із вікових груп [2].

Впродовж багатьох років вітаміну D вважався регулятором мінерального обміну в організмі людини й тварин, але наукові досягнення останніх років дозволили розширити уявлення про його фізіологічну роль [2]. У низці досліджень продемонстровано, що гормонально активна форма вітаміну D — кальцитріол (calcitriol, 1α, 25(OH)₂D) здатна регулювати процеси диференціювання та проліферації, а також контролювати ангиогенез і апоптотичну загибель клітин [3]. Беручи до уваги плейотропні ефекти вітаміну D, його дефіцит сьогодні пов'язують із ризиком розвитку ряду захворювань різної етіології (автоімунні, онкологічні та серцево-судинні). Зокрема, вітаміну D-недостатність/дефіцит вважається одним із факторів ризику розвитку ЦД2 і метаболічного синдрому, що сприяє збільшенню інсулінорезистентності та зниженню секреції інсуліну [4].

Одним з ускладнень ЦД2 є розвиток неалкогольної жирової хвороби печінки [5], викликаной надмірним надходженням вільних жирних кислот, результатом чого є виникнення так званого жирового запалення в гепатоцитах, що індукує зміни гістологічної структури печінки продуктами переокисного окислення та дисфункцію мітохондрій [6]. Своєю чергою,

порушення нормального функціонування гепатоцитів може призводити до виникнення дефіциту гормонально активних форм вітаміну D в організмі через недостатню активність ензимів його гідроксилювання, зокрема, мітохондрійної вітаміну D 25-гідроксилази (vitamin D 25-hydroxylase, CYP27A1) та мікросомної вітаміну D 25-гідроксилази (vitamin D 25-hydroxylase, CYP2R1), відповідальних за утворення 25-гідроксिवітаміну D [7].

Одним із потенційних механізмів розвитку неалкогольної жирової хвороби печінки за ЦД2 вважають надмірну активацію макрофагів печінки, їх перехід у прозапальний стан, що викликає активування фактора некрозу пухлини α (tumor necrosis factor alpha, TNF-α) та ядерного фактора транскрипції κB (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, NF-κB) [8]. З іншого боку, відомо, що VDR може зв'язуватись з β субодиницею кінази інгібітора NF-κB (inhibitor of nuclear factor kappa B kinase subunit beta, IKKβ) та блокувати TNF-α-індуковану його активацію [9]. Таким чином, компенсований рівень вітаміну D в організмі активує вітаміну D-ендокринну систему за ЦД2 та може запобігти розвитку неалкогольної жирової хвороби печінки шляхом пригнічення утворення прозапальних факторів.

Метою даної роботи було дослідити зміни транскрипції ключових компонентів вітаміну D-ендокринної системи та модуляторів запалення — TNF-α, NF-κB та IκB, які опосередковують розвиток глікемічної гепатопатії, на тлі експериментального ЦД2 та коригувальний вплив вітаміну D₃.

Матеріал і методи

У дослідженнях використовували щурів-самців лінії Wistar вагою 230±12 г. Для моделювання ЦД2, тварин протягом 60 діб утримували

на дієті (54% корму віварію, 25% жиру, 20% фруктози та 1% жовчі) з подальшою внутрішньоочеревинною ін'єкцією стрептозотоцину (25 мг/кг). Через два тижні розвитку діабету тваринам перорально вводили олійний розчин вітаміну D₃ (cholecalciferol; «Sigma», США) у дозі 800 МО (20 мкг)/кг упродовж 30 діб. Контрольні тварини упродовж всього експерименту отримували стандартний корм віварію.

На 105 добу експерименту проводили тестування толерантності до дії інсуліну. Після вимірювання початкового (базального) рівня глюкози натщесерце (0 хв) тваринам внутрішньоочеревинно вводили розчин 0,7 Од/кг інсуліну, через 30, 45, 60, 90 та 120 хв відбирали проби крові та визначали концентрацію глюкози.

Після декапітації тварин із використанням ефірного наркозу швидко відбирали кров для приготування сироватки та вилучали печінку для подальшого проведення ПЛР [10]. Визначення активностей аланінамінотрансферази та аспаратамінотрансферази в сироватці крові проводили за методом Райтмана-Френкеля з використанням стандартних наборів («Філісіт-Діагностика», Україна) згідно з інструкцією виробника. Вміст загального протеїну в сироватці крові визначали методом Лоурі. Загальні ліпіди, триацилгліцероли, вільні жирні кислоти та холестерол досліджували, використовуючи стандартні набори реагентів «Biolatest» («Erba Lachema», Чеська Республіка) згідно з інструкцією виробника. Вміст 25-гідроксिवітаміну D визначали з використанням імуноензимної тест-системи за методом, описаним раніше [11].

Визначення експресії генів у тканині печінки проводили методом кількісної ПЛР у реальному часі з використанням набору «Maxima SYBR Green/ROX qPCR Master Mix (2X)» («Thermo Fisher Scientific», США) згідно інструкції виробника. Тотальну РНК отримували з використанням набору «innuPREP RNA Mini Kit 2.0» («Analytik Jena», Німеччина). Концентрацію РНК вимірювали за допомогою спектрофотометру/флуориметру DS-11 («DeNovix Inc.», США). Синтез кДНК проводили з використанням набору «Maxima H Minus First Strand cDNA Synthesis Kit» («Thermo Fisher Scientific»,

США) згідно з інструкцією виробника. Температура відпалу праймерів +58 °С, кількість циклів – 50. Специфічні праймери створювали з використанням on-line програмного забезпечення «Primer Blast» на платформі NCBI (табл. 1). В якості референса було використано ген гліцеральдегід-3-фосфат дегідрогенази (Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, *Gapdh*).

Таблиця 1. Перелік праймерів для проведення кількісної ПЛР у реальному часі

Table 1. List of primers for quantitative real-time PCR

Ген інтересу Gene of interest	Послідовність праймерів The sequence of primers
<i>RelA (NF-κB)</i>	сенс / sense 5'-GTACTTGCCAGACACAGACGA-3' антисенс / antisense 5'-CTCGGGAAGGCACAGCAATA-3'
<i>Ikb</i>	сенс / sense 5'-TGAAGTGTGGGGCTGATGTC-3' антисенс / antisense 5'-AGGGCAACTCATCTTCCGTG-3'
<i>Tnf-α</i>	сенс / sense 5'-TCAGCGAGGACACCAAGG-3' антисенс / antisense 5'-CTCTGCCAGTTCCACATCTC-3'
<i>Cyp27a1</i>	сенс / sense 5'-TCGACACATCCTGATTGGAAGG-3' антисенс / antisense 5'-TCTCATGCGGCTCAACACAG-3'
<i>Cyp2r1</i>	сенс / sense 5'-CCTTCTGCTACTACTCGTGC-3' антисенс / antisense 5'-GCATGGTCTATCTCGCCAAA-3'
<i>Cyp27b1</i>	сенс / sense 5'-TGGGTGCTGGGAACCTAACC-3' антисенс / antisense 5'-TCGCAGACTGATTCCACCTC-3'
<i>Vdr</i>	сенс / sense 5'-TCATCCCTACTGTGTCCCGT-3' антисенс / antisense 5'-TGAGTGCTCCTTGTTCTGTCG-3'
<i>Gapdh</i>	сенс / sense 5'-TGAACGGGAAGCTCACTGG-3' антисенс / antisense 5'-TCCACCACCCTGTTGCTGTA-3'

Для виведення тварин з експерименту використовували легкий ефірний наркоз, дотримуючись вимог «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних і наукових цілей» (Страсбург, 1986 р.), Директиви 2010/63/EU Європейського Парламенту і Ради від 22 вересня 2010 р. «Про захист тварин, які використовуються в наукових дослідженнях» та «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001 р.). Етика всіх експериментальних процедур із тваринами була затверджена Комісією з біологічної

Оригінальні дослідження

безпеки та біоетики Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України (протокол № 3 від 21 травня 2021).

Обробку даних проводили загальноприйнятими методами варіаційної статистики з вираховуванням середнього значення (M) й стандартної похибки середнього ($\pm m$). Для визначення вірогідності відмінностей між отриманими величинами вибірок використовували однофакторний дисперсійний аналіз (one-way ANOVA) з поправкою Бонферроні. Вірогідними вважали відмінності при $p \leq 0,05$. Опрацювання і статистичну обробку результатів проводили з використанням програми Origin Lab 8.5.

Результати та обговорення

Як відомо, ключову роль у розвитку каскаду метаболічних порушень за ЦД2 відіграє інсулінорезистентність [12], одним із наслідків якої є порушення ліпідного обміну, що сприяє збільшенню маси тіла. Поєднання інсулінорезистентності з дисфункцією β -клітин острівців Лангерганса підшлункової залози є важливим етапом переходу предіабетичного стану в ЦД2 [13]. Як видно з **табл. 2** після утримання тварин на високожировій дієті протягом 60 діб та подальшої ін'єкції стрептозотоцину спостерігалася стійка тенденція до зниження маси тіла, що найбільш імовірно пов'язано з порушенням вуглеводного і білкового обміну внаслідок розвитку ЦД2, що прогресує і яке підтверджується зростанням у 3 рази концентрації глюкози в сироватці крові. Значна гіперглікемія свідчить про декомпенсацію інсулінорезистентності периферичних тканин із підвищеною секрецією інсуліну β -клітинами, які вижили.

Інтраперитонеальний тест толерантності до екзогенного інсуліну показав, що в діабетичних тварин базальний рівень глюкози в крові після нічного голодування був вірогідно підвищений в усі інтервали часу після введення інсуліну (**рис. 1**). Концентрація глюкози в крові щурів із ЦД2 під дією інсуліну досягала мінімальних значень через 120 хв (7,50 ммоль/л), у контрольній групі — через 45 хв (2,63 ммоль/л).

Відомо, що інтенсивне надходження вищих жирних кислот із жирової тканини внаслідок

Таблиця 2. Біохімічні параметри сироватки крові щурів за ЦД2 і при введенні вітаміну D₃ (M \pm m, n=7)

Table 2. Biochemical parameters of rat serum in type 2 diabetes (T2D) and after D₃ administration (M \pm m, n=7)

Показники Indicators	Контроль Control	ЦД2 T2D	ЦД2+D ₃ T2D+D ₃
Вага тварин (г) Body weight, g	384,8 \pm 12,2	360,9 \pm 12,7	368,3 \pm 10,2
Глюкоза (ммоль/л) Glucose, mmol/L	4,32 \pm 0,12	13,10 \pm 1,44*	11,00 \pm 0,61 [#]
Загальні ліпіди (г/л) Total lipids, g/L	1,30 \pm 0,25	3,51 \pm 0,50*	2,15 \pm 0,45 [#]
25(OH)D (нмоль/л) 25(OH)D, nmol/L	98 \pm 2,3	38,9 \pm 2,4*	73,4 \pm 1,2 [#]
Триацилгліцероли (ммоль/л) Triacylglycerols, mmol/L	1,05 \pm 0,04	4,30 \pm 0,93*	1,89 \pm 0,08 [#]
Загальний холестерол (ммоль/л) Total cholesterol, mmol/L	2,89 \pm 0,42	11,2 \pm 1,75*	8,3 \pm 0,73 [#]
Вищі жирні кислоти (мМ) Higher fatty acids, mM	0,52 \pm 0,03	1,03 \pm 0,07*	0,78 \pm 0,06 [#]
Загальний протеїн (г/л) Total protein, g/L	72,0 \pm 3,1	66,2 \pm 2,5*	70,1 \pm 3,2
Аланінамінотрансфераза (МО/л) Alanine aminotransferase, IU/L	21,5 \pm 2,3	30,4 \pm 2,0*	23,7 \pm 2,1 [#]
Аспаратамінотрансфераза (МО/л) Aspartate aminotransferase, IU/L	60,8 \pm 3,4	63,0 \pm 3,1	57,5 \pm 3,7

Примітка: * — $p \leq 0,05$ вірогідна різниця з контролем; [#] — $p \leq 0,05$ вірогідна різниця з ЦД2.

Note: * — $p \leq 0,05$ significant difference vs. control; [#] — $p \leq 0,05$ significant difference vs. T2D.

активування ліполізу супроводжується більш вираженою інсулінорезистентністю та погіршенням перебігу ЦД2 [14]. Високі концентрації вищих жирних кислот у сироватці крові призводять до активування протеїнкінази С тета (protein kinase C theta, PKC- θ) і фосфорилювання субстрату інсулінового рецептора-1 (insulin receptor substrate 1, IRS-1), наслідком чого є розвиток гіперглікемії та оксидативний стрес, що сприяють виснаженню пулу інсуліну в β -клітинах підшлункової залози та індукують їх загибель. Крім того, у розвитку інсулінорезистентності за ЦД2 також бере участь TNF- α , який через NF- κ B-залежний сигнальний шлях активує супресор цитокинових сигнальних протеїнів (suppressor of cytokine

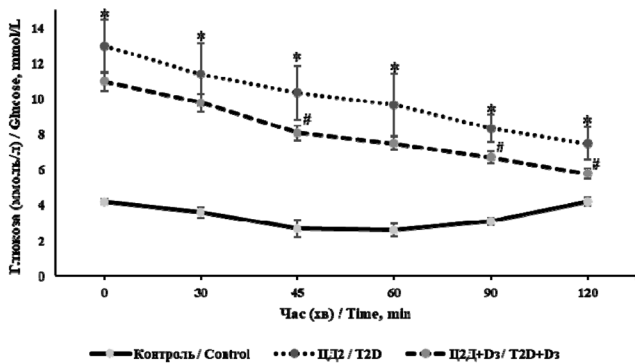


Рис. 1. Динаміка глікемії під час інтраперитонеального тесту толерантності до інсуліну в щурів за ЦД2 і при введенні вітаміну D₃ (M±m, n=7)

Примітка: * — $p \leq 0,05$ вірогідна різниця з контролем; # — $p \leq 0,05$ вірогідна різниця з ЦД2.

Fig. 1. Dynamics of glycemia during intraperitoneal insulin tolerance test in rats with T2D and after D₃ administration (M±m, n=7)

Note: * — $p \leq 0,05$ significant difference vs. control; # — $p \leq 0,05$ significant difference vs. T2D.

signaling proteins, SOCS), призводячи до інгібування передачі сигналу через IRS1 [15, 16].

Нами показано, що в тварин із ЦД2 у 2,7 раза збільшувався вміст загальних ліпідів, майже в 2 рази — вищих жирних кислот і в 4 рази — триацилгліцеролів. Ці зміни ліпідного обміну головним чином обумовлені стимулюванням ліполізу в жировій тканині, викликаного інсулінорезистентністю, та вторинним посиленням синтезу триацилгліцеролів у печінці. Рівень загального холестерину в плазмі крові діабетичних тварин також суттєво підвищувався в 3,9 раза порівняно з контрольною групою (див. табл. 2).

Раніше було показано, що розвиток експериментального цукрового діабету супроводжується суттєвим порушенням вуглеводного обміну в печінці [17]. Виявлені нами порушення вуглеводного і ліпідного обміну в тварин із ЦД2 супроводжувались активацією катаболізму протеїнів, свідченням чого є зменшення рівня загального протеїну в сироватці крові (див. табл. 2). Однією з причин цього може бути дисфункція печінки в тварин з експериментальним ЦД2, що підтверджується підвищенням активності аланінамінотрансферази на 41% порівняно з контрольною групою (див. табл. 2).

Терапія вітаміном D₃ (800 МО/кг, 30 діб) призводила до зниження базального рівня глюкози на 16%, часткового зниження рівня

загальних ліпідів, триацилгліцеролів, вищих жирних кислот і загального холестеролу в сироватці крові діабетичних щурів відповідно в 1,63, 2,27, 1,32 і 1,35 раза (див. табл. 2), ймовірно, опосередковано через виявлене підвищення чутливості периферичних тканин до інсуліну (див. рис. 1). Крім того, введення вітаміну D₃ частково нормалізувало активність аланінамінотрансферази в сироватці крові (див. табл. 2).

Конкретні молекулярні механізми реалізації встановлених терапевтичних ефектів вітаміну D₃ залишаються не до кінця зрозумілими. На сьогодні доведено здатність вітаміну безпосередньо посилювати синтез інсуліну і його вивільнення з β -клітин підшлункової залози, а також збільшувати експресію рецептора інсуліну в периферичних тканинах [18].

Дані літератури свідчать про можливе залучення прооксидантних процесів у розвиток неалкогольної жирової хвороби печінки, асоційованої з ЦД2, та антиоксидантну ефективність вітаміну D₃ [19]. Одну з ключових ролей у цих процесах займає NF- κ B [20], індуковані ЦД2 зміни активності якого можуть бути центральними молекулярно-клітинними подіями в розвитку дисфункції печінки. На сьогодні залишається не до кінця з'ясованими патологічні наслідки порушення експресії NF- κ B у тканині печінки за ЦД2 та роль сигнальної системи NF- κ B у механізмі реалізації гепатопротекторних ефектів вітаміну D₃.

З використанням методу ПЛР у реальному часі, нами було показано, що розвиток ЦД2 супроводжується надзвичайно вираженим зростанням вмісту мРНК *RelA* (p65 субодиниці NF- κ B), у печінці порівняно з контролем (рис. 2). Посилення активування класичного каскаду NF- κ B на транскрипційному рівні підтверджується також істотним зниженням у тканині печінки вмісту мРНК інгібітора ядерного фактора NF- κ B (nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor, alpha, *I κ B α*) в 3,3 раза.

Ці дані можуть свідчити про потенційне зростання транскрипційного активування NF- κ B та залежної від нього експресії індукцибельних генів, продукти яких можуть бути залучені до розвитку прооксидативних процесів у печінці. Введення вітаміну D₃ істотно пригнічувало синтез мРНК фосфорильованої

Оригінальні дослідження

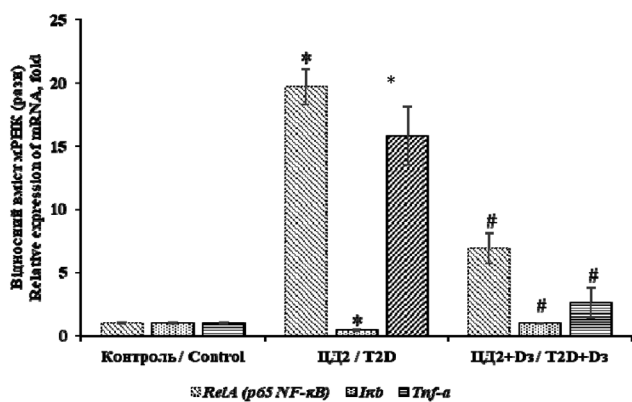


Рис. 2. Рівень мРНК *RelA* (*p65 NF-κB*), *Ikb* та *Tnf-α* в печінці щурів за ЦД2 та при введенні вітаміну D_3 ($M \pm m$, $n=6$)

Примітка: * — $p \leq 0,05$ вірогідна різниця з контролем; # — $p \leq 0,05$ вірогідна різниця з ЦД2.

Fig. 2. The level of *RelA* (*p65 NF-κB*), *Ikb* and *Tnf-α* mRNA in the liver of rats with T2D and after D_3 administration ($M \pm m$, $n=6$)

Note: * — $p \leq 0,05$ significant difference vs. control; # — $p \leq 0,05$ significant difference vs. T2D.

субодиниці $p65$ NF- κ B, з одночасним підвищенням рівня мРНК *Ikb* майже до контрольних значень. Ці дані чітко демонструють здатність холекальциферолу запобігати активуванню NF- κ B-залежних сигнальних шляхів за умов ЦД2.

Для з'ясування конкретних молекулярних механізмів зростання експресії NF- κ B було доцільно дослідити можливість залучення одного із прозапальних цитокінів — TNF- α , який, як показано, може продукуватись гепатоцитами [21].

Нами продемонстровано збільшення в печінці діабетичних щурів вмісту мРНК *Tnf-α* більш ніж у 15 разів порівняно з контролем, що корелює з виявленим підвищення синтезу мРНК $p65$ NF- κ B (див. рис. 2). Введення вітаміну D_3 призводило до зниження (у 5,3 раза) вмісту мРНК *Tnf-α* в тканині печінки, що узгоджується з його протизапальною дією та може бути додатковим чинником, який обумовлює інгібування експресії NF- κ B за діабету. Отримані результати вказують на те, що підвищення експресії TNF- α в діабетичних тварин може сприяти активуванню в тканині печінки NF- κ B опосередкованої транскрипційної системи.

Гормонально-активна форма вітаміну D ($1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$), як відомо, реалізує свої ефекти в клітині шляхом зв'язування зі своїм специфічним рецептором — VDR та подальшою міграцією утвореного комплексу в ядро клітини, де він здатен регулювати експресію більш ніж 500 різних

генів, зокрема й NF- κ B [22, 23]. Крім того, VDR, зв'язуючись із протеїном ІКК β , здатен пригнічувати TNF- α -індуковане активування цього фактора транскрипції [9]. В утворенні та катаболізмі кальцитріолу ключову роль відіграють ензими з родини цитохрому P450 — 25-гідроксивітамін D-1 альфа гідроксилаза (25-hydroxyvitamin D-1 alpha hydroxylase, CYP27B1) та 1,25-дигідроксивітамін D 24-гідроксилаза (1,25-dihydroxyvitamin D 24-hydroxylase, CYP24A1), порушення синтезу яких показано за низки патологічних станів [7, 24].

Ми продемонстрували, що інсулінорезистентність та гіперглікемія за експериментального ЦД2 супроводжуються зниженням вмісту 25(OH)D у сироватці крові у 2,4 раза порівняно з контролем, що вказує на розвиток у діабетичних тварин вираженого D-дефіциту (див. табл. 2). Введення вітаміну D_3 сприяло нормалізуванню вмісту 25(OH)D у сироватці крові майже до контрольних значень.

Однією з головних причин розвитку дефіциту вітаміну D за ЦД2 може бути порушення його гідроксилювання в печінці, за яке відповідають ензими з родини цитохрому P450 — мітохондрійна вітамін D 25-гідроксилаза (CYP27A1) та мікросомна вітамін D 25-гідроксилаза (CYP2R1). Встановлено, що рівень експресії мРНК *Cyp27a1* та *Cyp2r1* у печінці діабетичних щурів знижувався відповідно у 2 та 5 разів порівняно з контрольними тваринами (рис. 3). При цьому, найбільш вираженої зміни зазнавала експресія ізоформи *Cyp2r1*, як основного гідроксилюючого ензиму. При введенні вітаміну D_3 спостерігалось значне підвищення вмісту мРНК як *Cyp27a1*, так і *Cyp2r1* (до значень, що відповідно більш ніж у 4,5 та 2,7 раза перевищують показники контролю) порівняно з ЦД2.

Дослідження експресії ізоформи CYP27B1 печінки, яка відповідає за синтез D-гормону кальцитріолу ($1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$) продемонструвало 5,8-разове зниження рівня мРНК *Cyp27b1* (див. рис. 3). Порушення експресії *Cyp27b1*, швидше за все, є наслідком дефіциту вітаміну D та зниження синтезу 25(OH)D, що призводить до недостатнього утворення гормонально-активної форми вітаміну D у печінці діабетичних тварин. Введення холекальциферолу значно послаблювало (4,6-разове зростання рівня мРНК) індуковане за

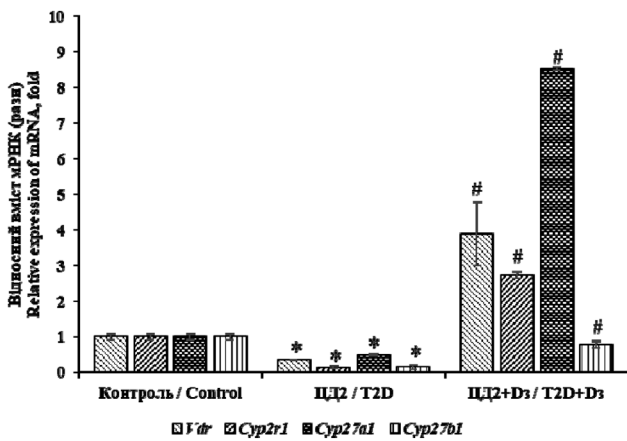


Рис. 3. Рівень мРНК ключових компонентів вітаміну D-авто-/пара-/ендокринної системи в печінці щурів за ЦД2 та при введенні вітаміну D₃ (M±m, n=6)

Примітка: * — $p \leq 0,05$ вірогідна різниця з контролем;
— $p \leq 0,05$ вірогідна різниця з ЦД2.

Fig. 3. The mRNA level of key components of the vitamin D-auto-/para-/endocrine system in the liver of rats with T2D and after D₃ administration (M±m, n=6)

Note: * — $p \leq 0,05$ significant difference vs. control; # — $p \leq 0,05$ significant difference vs. T2D.

ЦД2 порушення синтезу *Cyp27b1* у тканині печінки, що підтверджує зв'язок цих змін із порушеною біодоступністю вітаміну D.

Крім того, показано, що TNF- α -опосередковане активування NF- κ B здатне регулювати синтез низки ензимів із родини цитохрому P450, зокрема, CYP27B1, через пряме зв'язування NF- κ B з його промотором, що призводить до негативного регулювання гену *Cyp27b1* [25]. Оскільки ми продемонстрували, що за введення холекальциферолу тваринам із ЦД2 рівень мРНК *RelA* субодиниці NF- κ B суттєво знижується (див. рис. 2), можна припустити, що вітаміну D₃ здатен також опосередковано регулювати синтез компонентів вітаміну D-авто-/пара-/ендокринної системи шляхом модулювання продукції прозапальних цитокінів.

З огляду на розповсюдженість VDR у різних типах клітин і його ключову роль у забезпеченні гормональних ефектів 1 α ,25(OH)₂D, ми вивчали експресію VDR у тканині печінки. Встановлено, що за ЦД2 вміст мРНК *Vdr* значно (у 3 рази) знижувався в цій тканині, що може свідчити про істотне порушення VDR-опосередкованого сигналювання в чутливих до дії вітаміну D клітинах (див. рис. 3). Було виявлено виражений стимулювальний ефект вітаміну D₃ на експресію мРНК *Vdr*, яка досягала рівня в 4 рази вищого, ніж у контролі.

Відомо, що експресія гена рецептора вітаміну D регулюється низкою гормонів, зокрема паратиреоїдним (parathyroid hormone, PTH), ретиноївою кислотою (retinoic acid, RA) та глюкокортикоїдами (glucocorticoids, GC), однак основним і найбільш цікавим модулятором на сьогодні залишається 1 α ,25(OH)₂D [26]. Продемонстроване нами зниження експресії мРНК *Cyp27b1*, ензиму, відповідального за утворення кальцитріолу, свідчить про недостатність локального продукування 1 α ,25(OH)₂D у печінці тварин із ЦД2, наслідком чого може бути зниження *Vdr* та порушення сигналювання через 1 α ,25(OH)₂D-VDR комплекс. Не виключено також, що встановлене нами пригнічення експресії всіх досліджуваних компонентів вітаміну D-ендокринної системи печінки може обумовлюватись асоційованим із розвитком ЦД2 посиленням оксидативним ушкодженням та загибеллю гепатоцитів.

Висновки

Вперше встановлено, що дефіцит вітаміну D у тварин із ЦД2 зумовлюється порушенням у синтезі компонентів вітаміну D-ендокринної системи, яке виражається в пригніченні рівня експресії мРНК вітаміну D 25-гідроксилази (*Cyp27a1*, *Cyp27r1*), 25OH-D-1 α -гідроксилази (*Cyp27b1*) та рецептора вітаміну D (*Vdr*) у тканині печінки. Крім того, виявлено, що недостатня забезпеченість організму вітаміном D за умов ЦД2 супроводжується істотною індукцією експресії прозапального цитокіну *Tnf-a* та *RelA* (NF- κ B) з одночасним зниженням рівня експресії *Ikba* у тканині печінки, що потенційно може вказувати на активування NF- κ B-опосередкованої транскрипції генів, продукти яких залучені в ключових подіях запальної відповіді та ушкодження тканин. Введення вітаміну D₃ тваринам із експериментальним ЦД2, сприяло частковій нормалізації метаболічних процесів, зниженню рівня глікемії та гальмуванню розвитку інсулінорезистентності. Встановлено коригувальну дію вітаміну D₃ на стан вітаміну D-ендокринної системи та TNF- α /NF- κ B сигнальний шлях у клітинах печінки, що напевно реалізується на рівні транскрипційного регулювання експресії ключових генів даних систем.

Оригінальні дослідження

Список використаної літератури

- Holick MF. The vitamin D deficiency pandemic: Approaches for diagnosis, treatment and prevention. *Rev Endocr Metab Disord*. 2017 Jun;18(2):153-65.
- Umar M, Sastry KS, Chouchane AI. Role of vitamin D beyond the skeletal function: A review of the molecular and clinical studies. *Int J Mol Sci*. 2018 May 30;19(6):1618.
- Chang SW, Lee HC. Vitamin D and health – The missing vitamin in humans. *Pediatr Neonatol*. 2019 Jun;60(3):237-44.
- Al-Shoumer KA, Al-Essa TM. Is there a relationship between vitamin D with insulin resistance and diabetes mellitus? *World J Diabetes*. 2015 Jul 25;6(8):1057-64.
- Алудван МБ, Кобыляк НМ, Комісаренко ЮІ. Метаболічні предиктори та дефіцит вітаміну D у пацієнтів із цукровим діабетом 2-го типу. Міжнародний ендокринологічний журнал. 2019;15(6):459-68 (Aludwan MB, Kobylak NM, Komisarenko YuI. Metabolic predictors and vitamin D deficiency in patients with type 2 diabetes mellitus. *Mіznarodnij endokrinologіchnij žurnal*. 2019;15(6):459-68. Ukrainian).
- Mare R, Sporea I. Non-alcoholic fatty liver disease and type 2 diabetes. *Romanian Medical Journal*. 2020;67(S):34-6.
- Mazanov A, Shymanskyi I, Lisakovska O, Hajiyeva L, Komisarenko Y, Veliky M. Effects of cholecalciferol on key components of vitamin D-endo/para/autocrine system in experimental type 1 diabetes. *Int J Endocrinol*. 2018 Feb 6;2018:2494016.
- Tanase DM, Gosav EM, Costea CF, Ciocoiu M, Lacatusu CM, Maranduca MA, et al. The intricate relationship between type 2 diabetes mellitus (T2DM), insulin resistance (IR), and nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *J Diabetes Res*. 2020 Jul 31;2020:3920196.
- Chen Y, Zhang J, Ge X, Du J, Deb DK, Li YC. Vitamin D receptor inhibits nuclear factor κ B activation by interacting with I κ B kinase β protein. *J Biol Chem*. 2013 Jul 5;288(27):19450-8.
- Takahashi M, Makino S, Kikkawa T, Osumi N. Preparation of rat serum suitable for mammalian whole embryo culture. *J Vis Exp*. 2014 Aug 3;(90):e51969.
- Mazanov AO, Shymanskyi IO, Veliky MM. Development and validation of immunoenzyme test-system for determination of 25-hydroxyvitamin D in blood serum. *Biotechnologia Acta*. 2016;9(2):28-36.
- Abel ED, O'Shea KM, Ramasamy R. Insulin resistance: metabolic mechanisms and consequences in the heart. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2012 Sep;32(9):2068-76.
- Satin LS, Butler PC, Ha J, Sherman AS. Pulsatile insulin secretion, impaired glucose tolerance and type 2 diabetes. *Mol Aspects Med*. 2015 Apr;42:61-77.
- Issa CM. Vitamin D and type 2 diabetes mellitus. *Adv Exp Med Biol*. 2017;996:193-205.
- Bessone F, Razori MV, Roma MG. Molecular pathways of nonalcoholic fatty liver disease development and progression. *Cell Mol Life Sci*. 2019 Jan;76(1):99-128.
- Bathina S, Srinivas N, Das UN. Streptozotocin produces oxidative stress, inflammation and decreases BDNF concentrations to induce apoptosis of RIN5F cells and type 2 diabetes mellitus in Wistar rats. *Biochem Biophys Res Commun*. 2017 Apr 29;486(2):406-13.
- Сергійчук ЮТ, Тихоненко ТМ, Гузик ММ, Яніцька ЛВ, Кучеровська Т.М. Вплив сумісної дії нікотинаміду, ацетил-L-карнітину і α -ліпоєвої кислоти на окремі ланки обміну вуглеводів за експериментального діабету 2 типу. Біологічні Студії. 2014;8(3-4):41-52 (Sergiichuk IuT, Tykhonenko TM, Guzyk MM, Yanitska LV, Kuchmerovska TM. Effect of combined nicotinamide, acetyl-L-carnitine and α -lipoic acid action on separate links of carbohydrate metabolism under experimental type 2 diabetes. *Studia Biologica*. 2014;8(3-4):41-52. Ukrainian).
- Calle C, Maestro B, García-Arencibia M. Genomic actions of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on insulin receptor gene expression, insulin receptor number and insulin activity in the kidney, liver and adipose tissue of streptozotocin-induced diabetic rats. *BMC Mol Biol*. 2008 Jul 18;9:65.
- Iqbal S, Khan S, Naseem I. Antioxidant Role of vitamin D in mice with alloxan-induced diabetes. *Can J Diabetes*. 2018 Aug;42(4):412-8.
- Mitchell S, Vargas J, Hoffmann A. Signaling via the NF κ B system. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med*. 2016 May;8(3):227-41.
- Hayden MS, Ghosh S. Regulation of NF- κ B by TNF family cytokines. *Semin Immunol*. 2014 Jun;26(3):253-66.
- Haussler MR, Haussler CA, Bartik L, Whitfield GK, Hsieh JC, Slater S, et al. Vitamin D receptor: molecular signaling and actions of nutritional ligands in disease prevention. *Nutr Rev*. 2008 Oct;66(10 Suppl 2):S98-112.
- Wöbke TK, Sorg BL, Steinhilber D. Vitamin D in inflammatory diseases. *Front Physiol*. 2014 Jul 2;5:244.
- Хоменко АВ. Гідроксилювання холекальциферолу в гепатоцитах щурів за дії преднізолону. Український біохімічний журнал. 2013;85(3):90-5 (Khomenko AV. Cholecalciferol hydroxylation in rat hepatocytes under the influence of prednisolone. *Ukr Biokhim Zh* (1999). 2013 May-Jun;85(3):90-5. Ukrainian).
- Zordoky BN, El-Kadi AO. Role of NF-kappaB in the regulation of cytochrome P450 enzymes. *Curr Drug Metab*. 2009 Feb;10(2):164-78.
- Pike JW, Meyer MB. The vitamin D receptor: new paradigms for the regulation of gene expression by 1,25-dihydroxyvitamin D(3). *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2010 Jun;39(2):255-69.

The role of vitamin D-auto-/paracrine system in the development of metabolic inflammation of liver tissue in experimental type 2 diabetes

I.O. Shymanskyi¹, A.O. Mazanova¹, O.O. Lisakovska¹, D.O. Labudzynskyi¹, O.O. Makarova¹, Yu.I. Komisarenko², M.M. Veliky¹

¹ O.V. Palladin Institute of Biochemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine

² O.O. Bogomolets National Medical University

Abstract. Today, vitamin D₃ deficiency (cholecalciferol) and impaired signaling through vitamin D receptors are considered one of the risk factors for hepatopathy development on the background of type 2 diabetes (T2D). The anti-inflammatory and hepatoprotective effects of vitamin D₃ and in general, a scientific justification for the possibility of its effective use in the clinic of T2D are actively highlighted in the literature, but the specific mechanisms remain insufficiently clarified. **The aim** is to study the effect of vitamin D₃ on the mRNA expression level of key components of the hepatocellular vitamin D-auto-/paracrine system and the cytokine pathway tumor necrosis factor alpha/nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (TNF- α /NF- κ B) in experimental T2D. **Material and methods.** T2D was induced in male Wistar rats by a combination of a high-fat diet and a low dose of streptozotocin (25 mg/kg). Measurements of triacylglycerols, cholesterol, higher fatty acids, total lipids and total serum cholesterol were performed by standard biochemical methods. The content of 25(OH)D was determined by enzyme-linked immunosorbent assay. Analysis of mRNA expression of *RelA*, *I κ B*, *Tnf- α* , *Cyp27a1*, *Cyp2r1*, *Cyp27b1* and *Vdr* genes was performed by real-time quantitative polymerase chain reaction. **Results.** Experimental T2D was accompanied by vitamin D deficiency in the organism of experimental animals and the development of diabetic hepatopathy, as evidenced by increased alanine aminotransferase activity and also by the accumulation of cholesterol, triacylglycerols

and higher fatty acids in the blood of animals. A decrease in the mRNA content of key components of the vitamin D-auto-/paracrine system in the liver of diabetic animals led to disruption of signaling through vitamin D receptors and activation of the cytokine pathway TNF- α /NF- κ B. Administration of vitamin D₃ at a dose of 800 IU/kg for 30 days in animals with T2D significantly normalized the expression of vitamin D receptors and enzymes of metabolic conversion of vitamin D in liver tissue and reduced the expression of pro-inflammatory factors — NF- κ B and TNF- α . **Conclusion.** Potentially, vitamin D₃ used in the treatment of T2D may have a hepatoprotective effect by normalizing the functional state of vitamin D-auto-/paracrine system of the liver and modulating the pro-inflammatory processes dependent on nuclear factor κ B.

Keywords: type 2 diabetes, diabetic hepatopathy, pro-inflammatory cytokines, vitamin D-auto-/paracrine system, vitamin D₃, hepatoprotective effect.

Роль витамин D-ауто-/паракринной системы в развитии метаболического воспалительного процесса в ткани печени при экспериментальном сахарном диабете 2-го типа

И.А. Шиманский¹, А.А. Мазанова¹, О.А. Лисаковская¹,
Д.О. Лабудзинский¹, Е.А. Макарова¹,
Ю.И. Комиссаренко², Н.Н. Великий¹

¹Институт биохимии им. А.В. Палладина НАН Украины

²Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца

Резюме. На сегодня дефицит витамина D₃ (холекальциферола) и нарушение сигналинга через рецепторы витамина D считают одними из факторов риска развития гепатопатии на фоне сахарного диабета 2-го типа (СД2). Противовоспалительное и гепатопротекторное действие витамина D₃ и в целом научное обоснование возможности его эффективного применения в клинике СД2 активно освещается в литературе, однако конкретные механизмы остаются недостаточно выясненными. **Цель** — исследование влияния витамина D₃ на уровень экспрессии мРНК ключевых компонентов витамин D-ауто-/паракринной системы и цитокинового пути фактора некроза опухоли-альфа/транскрипционного фактора NF- κ B (tumor necrosis factor alpha/ nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, TNF- α /NF- κ B) в ткани печени при экспериментальном СД2. **Материал и методы.** У крыс-самцов линии Вистар вызывали СД2 путем объединения высокожировой диеты и низкой дозы стрептозотоцина (25 мг/кг). Измерение содержания триацилглицеролов, холестерина, высших жирных кислот, общих липидов и общего холестерина в сыворотке крови проводили стандартными биохимическими методами. Содержание 25(OH)D определяли методом иммуоэнзимного анализа. Анализ экспрессии мРНК генов *RelA*, *Ikb*, *Tnf- α* , *Cyp27a1*, *Cyp2r1*, *Cyp27b1* и *Vdr* проводили методом полимеразной цепной реакции в реальном времени. **Результаты.** Эксперимен-

тальный СД2 сопровождался дефицитом витамина D в организме подопытных животных и развитием диабетической гепатопатии, свидетельством чего является повышение активности аланинаминотрансферазы, а также аккумуляция холестерина, триацилглицеролов и высших жирных кислот в крови животных. Показано снижение содержания мРНК ключевых компонентов витамин D-ауто-/паракринной системы в печени диабетических животных, что приводило к нарушению сигналинга через рецепторы витамина D и активации цитокинового пути TNF- α /NF- κ B. Введение витамина D₃ в дозе 800 МЕ/кг в течение 30 суток животным с СД2 существенно нормализовало экспрессию рецепторов витамина D и энзимов метаболического преобразования витамина D в ткани печени, и снижало экспрессию провоспалительных факторов — NF- κ B и TNF- α . **Выводы.** Применение витамина D₃ в комплексной терапии СД2 потенциально может оказать гепатопротекторный эффект путем нормализации функционального состояния витамин D-ауто-/паракринной системы печени и моделирования провоспалительных процессов, зависимых от ядерного фактора κ B.

Ключевые слова: сахарный диабет 2-го типа, диабетическая гепатопатия, провоспалительные цитокины, витамин D-ауто-/паракринная система, витамин D₃, гепатопротекторный эффект.

Для цитування: Шиманський ІО, Мазанова АО, Лісаковська ОО, Лабудзинський ДО, Макарова ОО, Комісаренко ЮІ, Великий ММ. Роль вітамін D-ауто-/паракринної системи в розвитку метаболічного запального процесу в тканині печінки за експериментального цукрового діабету 2-го типу. Ендокринологія. 2021;26(3):271-280. DOI: 10.31793/1680-1466.2021.26-3.271.

Адреса для листування: Мазанова Анна Олександрівна, app.mazanova@gmail.com; Інститут біохімії ім. О.В. Палладина НАН України, вул. Леонтовича, 9, Київ 01054, Україна.

Відомості про авторів: Шиманський Ігор Олександрович, канд. біол. наук, старший науковий співробітник відділу біохімії вітамінів і коензимів, ORCID: 0000-0002-1507-8906; Мазанова Анна Олександрівна, канд. біол. наук, науковий співробітник відділу біохімії вітамінів і коензимів, ORCID: 0000-0002-3211-5094; Лісаковська Ольга Олександрівна, канд. біол. наук, науковий співробітник відділу біохімії вітамінів і коензимів, ORCID: 0000-0002-5844-1453; Лабудзинський Дмитро Олегович, канд. біол. наук, молодший науковий співробітник відділу біохімії вітамінів і коензимів, ORCID: 0000-0003-4389-6049; Макарова Олена Олександрівна, провідний інженер відділу біохімії вітамінів і коензимів, ORCID: 0000-0002-2568-896X; Комісаренко Юлія Ігорівна, д-р мед. наук, проф., завідувачка кафедри ендокринології, ORCID: 0000-0001-9912-4879; Великий Микола Миколайович, д-р біол. наук, проф., завідувач відділу біохімії вітамінів і коензимів, ORCID: 0000-0002-8125-308X.

Особистий внесок: Шиманський І.О. — розробка концепції дослідження, аналіз проблеми та отриманих результатів; Мазанова А.О., Лісаковська О.О., Лабудзинський Д.О. та Макарова О.О. — постановка експериментальної моделі, проведення досліджень, статистична обробка результатів; Комісаренко Ю.І. та Великий М.М. — редагування та оформлення статті.

Фінансування: робота виконана в рамках теми № 15 НАН України «Біохімічні механізми контролю системних міжклітинних взаємодій, регулювання сигнальних мереж та клітинних функцій за фізіологічних та патологічних станів» (№ 0117U004344).

Оригінальні дослідження

Декларація з етики: автори задекларували відсутність конфлікту інтересів і фінансових зобов'язань.

Стаття надійшла до редакції 18.06.2021 р.; перероблена 30.06.2021 р.; прийнята до друку 01.10.2021 р.; надрукована 20.10.2021 р.

For citation: Shymanskyi IO, Mazanova AO, Lisakovska OO, Labudzynski DO, Makarova OO, Komisarenko Yul, Veliky MM. The role of vitamin D-auto-/paracrine system in the development of metabolic inflammation of liver tissue in experimental type 2 diabetes. *Endokrynologia*. 2021;26(3):271-280. DOI: 10.31793/1680-1466.2021.26-3.271.

Correspondence address: Mazanova Anna, ann.mazanova@gmail.com; Palladin Institute of Biochemistry of the NAS of Ukraine, 9 Leontovicha Street, Kyiv 01054, Ukraine.

Information about the authors: Shymanskyi Ihor Oleksandrovych, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher at the Department of Biochemistry of Vitamins and Coenzymes, ORCID: 0000-0002-1507-8906; Mazanova Anna Oleksandrivna, Cand. Sci. (Biology), Researcher, Department of Biochemistry of Vitamins and Coenzymes, ORCID: 0000-0002-3211-5094; Lisakovska Olga Oleksandrivna, Cand. Sci. (Biology), Researcher, Department of Biochemistry of Vitamins and Coenzymes, ORCID: 0000-0002-5844-1453; Labudzynski Dmytro Olehovych, Cand. Sci. (Biology), Junior Researcher of the Department of Biochemistry of Vitamins and Coenzymes, ORCID: 0000-0003-4389-6049; Makarova Olena Oleksandrivna, Leading Engineer of the Department of Biochemistry of Vitamins and Coenzymes, ORCID: 0000-0002-2568-896X; Komisarenko Yuliya Ihorivna, Dr. Sci. (Medicine), Prof., Head of the Department of Endocrinology, ORCID: 0000-0001-9912-4879; Veliky Mykola Mykolayovych, Dr. Sci. (Biology), Prof., Head of the Department of Biochemistry of Vitamins and Coenzymes, ORCID: 0000-0002-8125-308X.

Personal contribution: Shymanskyi I.O. — development of the research concept, analysis of the problem and obtained results; Mazanova A.O., Lisakovska O.O., Labudzynski D.O. and Makarova O.O. — management of experimental model, conducting the research, statistical processing of results; Komisarenko Yu.I. and Veliky M.M. — editing and design of the article.

Funding: the work was supported by the budget funding No. 15 of the National Academy of Sciences of Ukraine «Biochemical mechanisms of control of systemic intercellular interactions, regulation of signaling networks and cellular functions in physiological and pathological conditions» (No. 0117U004344).

Declaration of ethics: The authors have declared no conflict of interest and financial obligations.

Article: received 18 June 2021; revised 30 June 2021; accepted 01 October 2021; published 20 October 2021.

Для цитування: Шиманский ИА, Мазанова АА, Лисаковская ОА, Лабудзинский ДО, Макарова ЕА, Комиссаренко ЮИ, Великий ММ. Роль витамин D-ауто-/паракринной системы в развитии метаболического воспалительного процесса в ткани печени при экспериментальном сахарном диабете 2-го типа. *Эндокринология*. 2021;26(3):271-280. DOI: 10.31793/1680-1466.2021.26-3.271.

Адрес для переписки: Мазанова Анна Александровна, ann.mazanova@gmail.com; Институт биохимии им. А.В. Палладина НАН Украины, ул. Леонтовича, 9, Киев 01054, Украина.

Сведения об авторах: Шиманский Игорь Александрович, канд. биол. наук, старший научный сотрудник отдела биохимии витаминов и коэнзимов, ORCID: 0000-0002-1507-8906; Мазанова Анна Александровна, канд. биол. наук, научный сотрудник отдела биохимии витаминов и коэнзимов, ORCID: 0000-0002-3211-5094; Лисаковская Ольга Александровна, канд. биол. наук, научный сотрудник отдела биохимии витаминов и коэнзимов, ORCID: 0000-0002-5844-1453; Лабудзинский Дмитрий Олегович, канд. биол. наук, младший научный сотрудник отдела биохимии витаминов и коэнзимов, ORCID: 0000-0003-4389-6049; Макарова Елена Александровна, ведущий инженер отдела биохимии витаминов и коэнзимов, ORCID: 0000-0002-2568-896X; Комиссаренко Юлия Игоревна, д-р мед. наук, проф., заведующая кафедрой эндокринологии, ORCID: 0000-0001-9912-4879; Великий Николай Николаевич, д-р биол. наук, проф., заведующий отделом биохимии витаминов и коэнзимов, ORCID: 0000-0002-8125-308X.

Личный вклад: Шиманский И.А. — разработка концепции исследования, анализ проблемы и полученных результатов; Мазанова А.А., Лисаковская О.А., Лабудзинский Д.О. и Макарова Е.А. — постановка экспериментальной модели, проведение исследований, статистическая обработка результатов; Комиссаренко Ю.И. и Великий М.М. — редактирование и оформление статьи.

Финансирование: работа выполнена в рамках темы № 15 НАН Украины «Биохимические механизмы контроля системных межклеточных взаимодействий, регулирования сигнальных сетей и клеточных функций при физиологических и патологических состояниях» (№ 0117U004344).

Декларация по этике: авторы задекларировали отсутствие конфликта интересов и финансовых обязательств.

Статья: поступила в редакцию 18.06.2021 г.; переработана 30.06.2021 г.; принята в печать 01.10.2021 г.; напечатана 20.10.2021 г.