

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ІВАНО-ФРАНКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО МОЗ УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ПАРЦЕЙ ХРИСТИНА ЮРІЇВНА

УДК: 616-092.9+577.12+613.3

ДИСЕРТАЦІЯ
МЕТАБОЛІЧНІ ПРОЦЕСИ В ЕРИТРОЦИТАХ
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН ЗА УМОВ СПОЖИВАННЯ
ЕНЕРГЕТИЧНИХ НАПОЇВ

091 «Біологія»

09 «Біологія»

Подається на здобуття ступеня доктора філософії.

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ Христина ПАРЦЕЙ

Наукові керівники – **Ганна ЕРСТЕНЮК**, доктор біологічних наук, професор; **Петро ЛИХАЦЬКИЙ**, доктор біологічних наук, професор

Тернопіль – 2024

АНОТАЦІЯ

Парцей Х. Ю. Метаболічні процеси в еритроцитах експериментальних тварин за умов споживання енергетичних напоїв. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія» (09 «Біологія») – Івано-Франківський національний медичний університет, Івано-Франківськ, 2024.

Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, Тернопіль, 2024.

Дисертаційна робота присвячена вивченню метаболічних процесів у еритроцитах, зміни макро- та мікроелементного статусу організму експериментальних тварин за умов споживання енергетичних напоїв.

З метою оцінки відповіді організму щурів на введення енергетичних напоїв (ЕН) вивчено стан пероксидації ліпідів та білків еритроцитів за рівнем дієнових конюгатів і ТБК – активних продуктів та продуктів окиснювальної модифікації білків (альдегідо- і кетоніпохідних основного та нейтрального характеру), зміни антиоксидантної системи піддослідних тварин за оцінкою активності глутатіон-S-трансферази (Г-S-T), глутатіонпероксидази (ГП), глутатіонредуктази (ГР), супероксиддисмутази (СОД), каталази. Також вивчено порушення обміну вуглеводів за допомогою визначення концентрації глюкози, пірувату, лактату, активності лактатдегідрогенази (ЛДГ), глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г6ФДГ) та АТФ. У роботі досліджено рівень наступних регуляторних біоелементів: Магнію (Mg), Цинку (Zn), Купруму (Cu), Мангану (Mn), Феруму (Fe), Селену (Se). Порівняльний аналіз результатів досліджень проводився відносно показників визначених у групі інтактних тварин.

Проблема безпеки вживання енергетичних напоїв залишається однією з актуальних тем сучасності, що підтверджується значною зацікавленістю у ній з боку наукової спільноти і є предметом обговорення у різних

дослідженнях, які розглядають як позитивні, так і потенційно небезпечні аспекти споживання енергетичних напоїв. Упродовж останніх десятиліть ця проблема набула особливого значення через різке зростання вживання ЕН, особливо серед підлітків та людей молодого віку.

Дослідження показників периферичної ланки еритроциту щурів, котрі споживали енергетичний напій впродовж місяця, засвідчили порушення еритроцитарного балансу, що проявляється зниженням рівня еритроцитів у периферичній крові, найбільш істотні зміни спостерігались на 1-у, 10-у та 20-у доби після завершення вживання енергетика на 15 % ($p < 0,001$), 17 % ($p < 0,001$) та 14 % ($p < 0,05$) відповідно та збільшення на 30-ту добу на 7 % в порівнянні з інтактним контролем. Водночас дослідження вмісту загального гемоглобіну у крові щурів, котрі споживали енергетик, показали його зниження на 1-у, 10-у та 20-у доби по завершенню експерименту на 25 % ($p < 0,001$), 22 % ($p < 0,001$) та 7 % відповідно в порівнянні з інтактним контролем.

Причини зниження рівня гемоглобіну можна розглядати як порушення процесів біосинтезу, так і посиленого розпаду цього гемопротеїну. Зростання даного показника може бути наслідком адаптивної реакції-відповіді організму тварин на споживання енергетичного напою.

Для характеристики функціонального стану мембран еритроцитів нами проведено вивчення параметрів кислотної резистентності. Як свідчать отримані дані, за умов споживання енергетика, відбувались істотні зміни в популяції циркулюючих еритроцитів у крові. Зокрема, на 1-у добу після завершення прийому збільшувався рівень низькостійких еритроцитів на 77% ($p < 0,05$) на тлі зниження середньостійких – на 16 % ($p < 0,05$), еритроцитів підвищеної стійкості - на 42 % ($p < 0,001$) та високостійких – на 61 % ($p < 0,001$) в порівнянні з інтактним контролем.

Одержані дані свідчать про зміни в еритрограмі щурів, зокрема у віддалені періоди спостереження. Такі зміни можуть бути обумовлені

насамперед станом метаболічних процесів в еритроциті та порушенням структурних компонентів еритроцитарних мембран.

Для розуміння біохімічних механізмів адаптації та оцінки забезпечення тканин киснем інформативним є показник динаміки змін вмісту як загального гемоглобіну, так і лігандних форм. Проведені нами дослідження вказують на зниження рівня HbO_2 в дослідних групах упродовж всього періоду спостереження на 50 % ($p < 0,001$), 39 % ($p < 0,001$), 33 % ($p < 0,001$) та 45 % ($p < 0,001$) в порівнянні з інтактним контролем. Зниження вмісту оксигемоглобіну може бути зумовлене цілим рядом факторів: змінами морфо-функціонального стану еритроцитів, порушенням структури гемоглобіну і спорідненості гемоглобіну до кисню. Рівень HbO_2 великою мірою визначається наявністю дисгемоглобінів, таких як метгемоглобін, сульфгемоглобін, карбоксигемоглобін, що перешкоджають насиченню гемоглобіну киснем, зменшуючи рівень оксигемоглобіну в транспортованій крові і сприяють розвитку тканинної гіпоксії.

Результати дослідження вмісту метгемоглобіну під впливом споживання енергетика показали збільшення цього деривату в дослідних групах упродовж всього періоду спостереження в 4,8 ($p < 0,001$), 3,9 ($p < 0,001$), 4,2 ($p < 0,001$) та 3,8 ($p < 0,001$) рази відповідно на 1-у, 10-у, 20-у і 30-у доби в порівнянні з інтактним контролем.

Вивчення рівня сульфгемоглобіну у щурів, котрі споживали енергетичний напій протягом місяця, свідчать про збільшення його на 1-у, 10-у, 20-у та 30-у доби на 48 % ($p < 0,001$), 44 % ($p < 0,001$), 49 % ($p < 0,001$) та 37 % ($p < 0,001$) відповідно в порівнянні з інтактним контролем.

Дослідження рівня HbCO , вказують на достовірне зростання цього показника на 1-у, 20-ту та 30-ту доби в 5,9 ($p < 0,001$), 1,8 ($p < 0,001$) і 1,7 ($p < 0,001$) рази відповідно в порівнянні з інтактним контролем. Оскільки енергетики містять велику кількість вуглеводів, тому доцільно було визначити зміну рівня глікованого гемоглобіну, який є маркером порушення вуглеводного обміну. Отримані дані вказують на збільшення вмісту HbA_{1c} на

1-у, 10-у, 20-у та 30-у доби в 2,9 ($p < 0,001$), 2,6 ($p < 0,001$), 2,3 ($p < 0,001$) та 2,2 ($p < 0,001$) рази відповідно в порівнянні з інтактним контролем.

Отримані дані можуть вказувати на розвиток гіпоксії та підтверджувати порушення адаптаційних механізмів організму лабораторних щурів за умов впливу енергетичних напоїв.

За таких умов важливим є дослідження стану про- та антиоксидантних систем. Аналіз одержаних результатів вказує на активацію процесів вільнорадикального окиснення в еритроцитах експериментальних тварин, які споживали енергонапій, зокрема зростає рівень ДК і ТБК – АП. Накопичення продуктів ПОЛ можуть викликати ушкодження ліпідного матриксу біомембран, що призводить до порушення структурно-функціональної здатності мембран еритроцитів.

Поряд з цим спостерігалось підвищення рівня продуктів пероксидації білків на 1-у, 10-у, 20-у та 30-у доби рівня альдегідопохідних (356 нм) на 15 % ($p < 0,001$) 22 % ($p < 0,05$), 9 %, 7 % та кетоніпохідних нейтрального характеру (370 нм) на 27 % ($p < 0,05$), 29 % ($p < 0,05$), 24 % ($p < 0,05$) та 21 % відповідно, а також зростання рівня альдегідопохідних (430 нм) на 24 % ($p < 0,05$), 32 % ($p < 0,05$), 20 % ($p < 0,05$), 13 % та кетоніпохідних основного характеру (530 нм) на 25 % ($p < 0,001$), 35 % ($p < 0,001$) 22 % ($p < 0,001$) та 13 % ($p < 0,05$) відповідно порівняно з інтактним контролем.

Накопичення продуктів пероксидації білків та ліпідів у еритроцитах зумовлює активацію процесів ендогенної інтоксикації. Проведені біохімічні дослідження свідчать про інтенсифікацію процесів ендогенної інтоксикації, що супроводжується накопиченням МСМ у всіх дослідних групах, у порівнянні з інтактним контролем. Підтримання гомеостазу червонокривців зокрема, і організму в цілому, визначається станом антиоксидантного захисту еритроцитів. У зв'язку з цим, нами проведено вивчення активності супероксиддисмутази, каталази та ензимів глутатіонової системи.

Вивчення антиоксидантного захисту еритроцитів, які одними з перших реагують на різноманітні впливи, засвідчило збільшення активності КАТ та

СОД одразу після завершення споживання, що можна розглядати як адаптивний синтез цих антиоксидантних ензимів. Поряд із цим, встановлено зниження активності ензимів глутатіонової системи упродовж всього періоду спостереження та КАТ і СОД у пізні періоди експерименту, що може свідчити про виснаження антиоксидантного захисту еритроцитів після прийому енергонапою та розвиток оксидативного стресу. Для повноцінного функціонування антиоксидантного захисту еритроцитів важливе значення мають процеси енергозабезпечення цих клітин.

У результаті проведених досліджень встановлено підвищення рівня глюкози, пірувату, лактату, активності ЛДГ на 1-у, 10-у, 20-у та 30-у доби. Дослідження кінцевого метаболіту енергетичного обміну показали, що споживання енергонапою призводить до підвищення рівня АТФ в гемолізаті еритроцитів на 1-у, 10-у, 20-у та 30-у добу в 1,4, ($p < 0,001$), 1,3 ($p < 0,001$), 1,3 ($p < 0,001$) та 1,1 рази відповідно в порівнянні з інтактним контролем. Визначення активності Г6ФДГ в еритроцитах за умов споживання енергонапою засвідчило зниження цього показника, що в свою чергу зумовлює порушення синтезу НАДФН₂, що може спричинити до структурної дестабілізації еритроцитів та розвиток гемолізу.

Добре відомо, що метаболічні процеси контролюються макро- та мікроелементами, які виконують роль активаторів або інгібіторів ензимів, відіграють важливу роль в енергетичному обміні, процесах кровотворення, а також корегують інтенсивність процесів вільнорадикального окиснення.

Експериментальні дані дозволили встановити розвиток дисмікроелементозу в організмі дослідних тварин за умов споживання енергонапою, що в свою чергу має важливе значення для функціонування всіх метаболічних процесів як в еритроцитах, так і в організмі в цілому.

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше досліджено вплив енергетичного напою на функціонування еритроцитів, зокрема отримано нові

дані щодо змін у процесах білкової та ліпідної пероксидації. Виявлено, що за умов споживання енергонапою відбуваються порушення функціонування ензиматичної ланки антиоксидантного захисту, які підтверджуються змінами активності СОД, КАТ, ГП, ГР, GST.

Вперше виявлено, що за умов споживання енергонапою зростає інтенсивність ендогенної інтоксикації, яка супроводжується порушенням еритроцитарних мембран та кисневої ємності крові. На цьому тлі виявлено зміни концентрації загального гемоглобіну та лігандних форм, зокрема зростання метгемоглобіну, сульфгемоглобіну, карбоксигемоглобіну, що перешкоджають насиченню гемоглобіну киснем, зменшуючи рівень оксигемоглобіну в транспортованій крові і сприяють розвитку тканинної гіпоксії.

Новими є відомості стосовно рівня регуляторних біоелементів: Mg, Mn, Fe, Zn, Cu, Se в еритроцитах експериментальних тварин та активності металоензимів: ЛДГ, СОД, КАТ, ГП, ГР, GST, Г6ФДГ за умов споживання енергетичного напою.

Показано, що споживання енергонапою супроводжується накопиченням проміжних та кінцевих метаболітів вуглеводного обміну (АТФ, глюкози, фруктози, пірувату, лактату) в еритроцитах експериментальних тварин.

Практичне значення одержаних результатів. Отримані дані допоможуть поглибити знання про механізми впливу енергетичних напоїв на метаболічні процеси, що важливо для подальшого розвитку наукових досліджень та їхнього застосування у практиці та навчальному процесі.

Ключові слова: еритроцити, енергетичний напій, лабораторні щурі, гематологічні індекси, про- та антиоксидантна система, ендогенна інтоксикація, вуглеводний обмін, макро- та мікроелементи.

ABSTRACT

Partsei Kh. Yu. Metabolic processes in erythrocytes of experimental animals under conditions of energy drinks consumption. – Qualification scientific work on the rights of the manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in the specialty 091 "Biology" (09 "Biology"). – Ivano-Frankivsk National Medical University, Ivano-Frankivsk, 2024.

Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Ternopil, 2024.

The dissertation is devoted to the study of metabolic processes in erythrocytes, changes in macro- and microelement status of experimental animals under conditions of energy drinks consumption.

In order to assess the response of the rat organism to the administration of energy drinks, we studied the state of lipid and erythrocyte protein peroxidation by the level of diene conjugates and TBA – active products and products of oxidative modification of proteins (aldehyde and ketone derivatives of basic and neutral nature), Changes in the antioxidant system of experimental animals by assessing the activity of glutathione S-transferase (G-S-T), glutathione peroxidase (GP), glutathione reductase (GR), superoxide dismutase (SOD), and catalase. We also studied carbohydrate metabolism disorders by determining the concentration of glucose, pyruvate, lactate, lactate dehydrogenase (LDH), glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6FDH) and ATP. The levels of the following regulatory bioelements were studied: Magnesium (Mg), Zinc (Zn), Copper (Cu), Manganese (Mn), Iron (Fe), and Selenium (Se). The comparative analysis of the results of the study was carried out in relation to the indicators determined in the group of intact animals.

The problem of energy drink safety remains one of the most pressing issues of our time, as evidenced by the significant interest in it from the scientific community and is the subject of discussion in various studies that consider both positive and potentially dangerous aspects of energy drink consumption. In recent

decades, this problem has become particularly important due to the sharp increase in energy drink consumption, especially among adolescents and young adults.

The study of the peripheral erythron of rats that consumed the energy drink for a month showed a violation of erythrocyte balance, which is manifested by a decrease in the level of red blood cells in the peripheral blood, the most significant changes were observed on days 1, 10, and 20 after the end of energy drink consumption by 15 % ($p < 0.001$), 17 % ($p < 0.001$), and 14 % ($p < 0.05$), respectively, and an increase on day 30 by 7 % compared to intact controls. At the same time, the study of the total hemoglobin content in the blood of rats consuming energy drink showed its decrease on the 1st, 10th and 20th day after the experiment by 25 % ($p < 0.001$), 22 % ($p < 0.001$) and 7 % respectively, compared to the intact control.

The reasons for the decrease in hemoglobin level can be considered as a violation of the processes of biosynthesis and increased decay of this hemoprotein. The increase in this indicator may be a consequence of the adaptive response of the animal body to the consumption of an energy drink.

To characterize the functional state of erythrocyte membranes, we studied the parameters of acid resistance. According to the data obtained, under conditions of energy consumption, significant changes occurred in the population of circulating red blood cells in the blood. In particular, on the 1st day after the end of the intake, the level of low-resistant erythrocytes increased by 77 % ($p < 0.05$) against the background of a decrease in medium-resistant erythrocytes by 16 % ($p < 0.05$), erythrocytes of increased resistance by 42 % ($p < 0.001$) and highly resistant by 61 % ($p < 0.001$) compared to intact control.

The data obtained indicate changes in the erythrogram of rats, in particular in the long-term observation periods. Such changes may be due primarily to the state of metabolic processes in the erythrocyte and disruption of the structural components of erythrocyte membranes.

To understand the biochemical mechanisms of adaptation and to assess the supply of oxygen to tissues, the dynamics of changes in the content of both total hemoglobin and ligand forms is informative. Our studies indicate a decrease in the level of HbO_2 in the experimental groups during the entire observation period by

50 % ($p < 0.001$), 39 % ($p < 0.001$), 33 % ($p < 0.001$) and 45 % ($p < 0.001$) compared with intact controls. The decrease in oxyhemoglobin content can be caused by a number of factors: changes in the morphological and functional state of red blood cells, disorders of hemoglobin structure and hemoglobin affinity for oxygen. The HbO₂ level is largely determined by the presence of dyshemoglobins, such as methemoglobin, sulfhemoglobin, carboxyhemoglobin, which prevent hemoglobin from being saturated with oxygen, reducing the level of oxyhemoglobin in the transported blood and contributing to the development of tissue hypoxia.

The results of the study of methemoglobin content under the influence of energy drink consumption showed an increase in this derivative in the experimental groups during the entire observation period by 4.8 ($p < 0.001$), 3.9 ($p < 0.001$), 4.2 ($p < 0.001$) and 3.8 ($p < 0.001$) times, respectively, on days 1, 10, 20 and 30 compared to intact controls.

The study of sulfhemoglobin levels in rats that consumed the energy drink for a month showed an increase in it on days 1, 10, 20 and 30 by 48 % ($p < 0.001$), 44 % ($p < 0.001$), 49 % ($p < 0.001$) and 37 % ($p < 0.001$), respectively, compared to the intact control.

Studies of HbCO levels indicate a significant increase in this indicator on the 1st, 20th and 30th day by 5.9 ($p < 0.001$), 1.8 ($p < 0.001$) and 1.7 ($p < 0.001$) times, respectively, compared to intact control. Since energy drinks contain a large amount of carbohydrates, it was advisable to determine the change in the level of glycated hemoglobin, which is a marker of carbohydrate metabolism disorders. The data obtained indicate an increase in HbA_{1c} on the 1st, 10th, 20th and 30th day by 2.9 ($p < 0.001$), 2.6 ($p < 0.001$), 2.3 ($p < 0.001$) and 2.2 ($p < 0.001$) times, respectively, compared to intact control.

The data obtained may indicate the development of hypoxia and confirm the disruption of adaptive mechanisms of the body of laboratory rats under the influence of energy drinks.

Under such conditions, it is important to study the state of pro- and antioxidant systems. The analysis of the obtained results indicates the activation of free radical oxidation processes in the erythrocytes of experimental animals that consumed the energy drink, in particular, the level of DC and TBA – AP increased.

The accumulation of lipid peroxidation products can lead to damage to the lipid matrix of biomembranes, which in turn causes a violation of the structural and functional capacity of erythrocyte cell membranes.

Along with this, there was an increase in the level of protein peroxidation products on the 1st, 10th, 20th and 30th days of the level of aldehyde derivatives (356 nm) by 15 % ($p<0.001$), 22 % ($p<0.05$), 9 %, 7 % and neutral ketone derivatives (370 nm) by 27 % ($p<0.05$), 29 % ($p<0.05$), 24 % ($p<0.05$) and 21 %, respectively, as well as an increase in the level of aldehyde derivatives (430 nm) by 24 % ($p<0.05$), 32 % ($p<0.05$), 20 % ($p<0.05$), 13% and ketone derivatives of basic character (530 nm) by 25 % ($p<0.001$), 35 % ($p<0.001$), 22 % ($p<0.001$) and 13 % ($p<0.05$), respectively, compared to intact control.

The accumulation of peroxidation products of proteins and lipids in erythrocytes causes the activation of endogenous intoxication. The biochemical studies conducted indicate an intensification of endogenous intoxication processes, accompanied by the accumulation of MM in all experimental groups, compared to intact control. The maintenance of homeostasis of red blood cells in particular, and the body as a whole, is determined by the state of antioxidant protection of red blood cells. In this regard, we studied the activity of superoxide dismutase, catalase and enzymes of the glutathione system.

The study of the antioxidant defense of erythrocytes, which are among the first to respond to various influences, showed an increase in the activity of CAT and SOD immediately after consumption, which can be considered as an adaptive synthesis of these antioxidant enzymes. At the same time, a decrease in the activity of the enzymes of the glutathione system during the entire observation period and of CAT and SOD in the later periods of the experiment was found, which may indicate the depletion of antioxidant defense of erythrocytes after ingestion of the energy drink and the development of oxidative stress. For the full functioning of the antioxidant defense of erythrocytes, the processes of energy supply of these cells are important.

The studies revealed an increase in glucose, pyruvate, lactate, and LDH activity on days 1st, 10th, 20th, and 30th. Studies of the final metabolite of energy metabolism showed that energy drink consumption leads to an increase in the level

of ATP in erythrocyte hemolysate on the 1st, 10th, 20th and 30th day by 1.4, ($p < 0.001$), 1.3 ($p < 0.001$), 1.3 ($p < 0.001$) and 1.1 times, respectively, compared to intact control. The determination of G6FDG activity in erythrocytes under conditions of energy drink consumption showed a decrease in this indicator, which in turn causes a violation of NADPH₂ synthesis, which can lead to structural destabilization of erythrocytes and the development of hemolysis.

It is well known that metabolic processes are controlled by macro- and microelements, which act as activators or inhibitors of enzymes, play an important role in energy metabolism, hematopoiesis, and also adjust the intensity of free radical oxidation processes.

Experimental data allowed us to establish the development of dysmicroelementosis in the body of experimental animals under conditions of energy drink consumption, which in turn is important for the functioning of all metabolic processes both in erythrocytes and in the body as a whole.

Scientific novelty of the results obtained. For the first time, the effect of an energy drink on the functioning of red blood cells was studied, in particular, new data on changes in the processes of protein and lipid peroxidation were obtained. It was found that energy drink consumption causes disruption of the functioning of the enzymatic link of antioxidant defense, which is confirmed by changes in the activity of SOD, CAT, GP, GR, GSH.

For the first time, it was found that energy drink consumption increases the intensity of endogenous intoxication, which is accompanied by impaired erythrocyte membranes and blood oxygen capacity. Against this background, changes in the concentration of total hemoglobin and ligand forms were found, in particular, an increase in methemoglobin, sulfhemoglobin, and carboxyhemoglobin, which prevent hemoglobin from being saturated with oxygen, reducing the level of oxyhemoglobin in the transported blood and contributing to the development of tissue hypoxia.

New information is available on the level of regulatory bioelements: Mg, Mn, Fe, Zn, Cu, Se in the erythrocytes of experimental animals and the activity of metalloenzymes: LDH, SOD, CAT, GP, GR, GT, G6FDH under conditions of energy drink consumption.

It has been shown that energy drink consumption is accompanied by the accumulation of intermediate and final metabolites of carbohydrate metabolism (ATP, glucose, fructose, pyruvate, lactate) in the erythrocytes of experimental animals.

Practical significance of the results. The data obtained will help to deepen knowledge of the mechanisms of energy drinks' impact on metabolic processes, which is important for the further development of scientific research and its application in practice and education.

Key words: red blood cells, energy drink, laboratory rats, hematological indices, pro- and antioxidant system, endogenous intoxication, carbohydrate metabolism, macro- and microelements.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Парцей ХЮ, Артиш МБ, Литвинюк НІ, Слободян ЗО, Ерстенюк АМ. Стан еритроцитарних мембран та гематологічні індекси щурів за умов споживання енергетичного напою. Український журнал медицини, біології та спорту. 2017;5:188-91. <https://doi.org/10.26693/jmbs02.05.188>. *(Особистий внесок здобувача – проведення експериментального дослідження, аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку; Артиш М. Б. брала участь у проведенні гематологічних досліджень; Литвинюк Н. І. брала участь у заборі матеріалу; Слободян З. О. брала участь у редагуванні статті; Ерстенюк А. М. – консультування щодо формування мети і завдань дослідження, допомога у формулюванні висновків).*
2. Парцей ХЮ, Ерстенюк ГМ. Активність глутатіонової системи еритроцитів за умов споживання енергетика. Sciences of Europe. 2022;92:3-7. <https://doi.org/10.5281/zenodo.6532820>. *(Особистий внесок здобувача –*

проведення експериментального дослідження, забір матеріалу, аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку; Ерстенюк А. М. – консультування щодо формування мети і завдань дослідження, допомога у формулюванні висновків).

3. Парцей ХЮ. Зміни показників вуглеводного обміну еритроцитів щурів за умов споживання енергонапою. *Medical and Clinical Chemistry*. 2022;2:61-7. <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2022.i2.13207>.

4. Partsei KYu, Ersteniuk HM, Shkurashivska SV, Kindrat IP, Senchiy VM. Status of pro- and antioxidant system of rats under conditions of energy drink consumption. *World of Medicine and Biology*. 2023;1(83):218-23. <https://doi.org/10.26724/2079-8334-2023-1-83-218-223>. *(Особистий внесок здобувача – проведення експериментального дослідження, забір матеріалу, аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку; Ersteniuk H. M. – консультування щодо формування мети і завдань дослідження; Shkurashivska S. V. брала участь у заборі матеріалу; Kindrat I. P. брала участь у редагуванні статті; Senchiy V. M. брав участь у формулюванні висновків).*

5. Парцей ХЮ, Лихацький ПГ. Стан еритроцитарних мембран та ендогенної інтоксикації еритроцитів за умов споживання енергетичного напою. *Medical and Clinical Chemistry*. 2024;1:35-39. <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2024.i1.14595>. *(Особистий внесок здобувача – проведення експериментального дослідження, забір матеріалу, аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку; Лихацький П. Г. – консультування щодо формування мети і завдань дослідження, допомога у формулюванні висновків).*

6. Парцей ХЮ, Ерстенюк ГМ. Дослідження форм гемоглобіну за умов споживання енергетичного напою. *The Animal Biology*. 2024;26(1):40-44. <https://doi.org/10.15407/animbior26.01.00> *(Особистий внесок здобувача – проведення експериментального дослідження, забір матеріалу, аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку; Ерстенюк Г. М. –*

консультування щодо формування мети і завдань дослідження, допомога у формулюванні висновків).

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

7. Парцей ХЮ, Олексин МБ, Литвинюк НІ, Слободян ЗО, Ерстенюк ГМ. Вміст мікро- та макроелементів в еритроцитах щурів під впливом енергетичних напоїв. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю “Бабенківські читання; 2015 жовт. 29-30; Івано-Франківськ. Івано-Франківськ: ІФНМУ; 2015, с. 87. *(Особистий внесок – проведення експериментального дослідження, забір матеріалу, аналіз отриманих даних, підготовка тез до друку; Олексин М. Б. брала участь у проведенні досліджень; Литвинюк Н. І. брала участь у заборі матеріалу; Слободян З. О. брала участь у редагуванні тез; Ерстенюк А. М. – консультування щодо формування мети і завдань дослідження, допомога у формулюванні висновків).*

8. Парцей ХЮ, Олексин МБ, Литвинюк НІ, Слободян ЗО, Николин АМ. Стан про- та антиоксидантної системи під впливом енергетичних напоїв. Матеріали 85-ої науково-практичної конференції студентів та молодих вчених із міжнародною участю “Інновації в медицині”; 2016 бер. 24-25; Івано-Франківськ. Івано-Франківськ: ІФНМУ; 2016, с. 249. *(Особистий внесок – проведення експериментального дослідження, забір матеріалу, аналіз отриманих даних, підготовка тез до друку; Олексин М. Б. брала участь у проведенні досліджень; Литвинюк Н. І. брала участь у заборі матеріалу; Слободян З. О. брала участь у редагуванні тез; Ерстенюк А. М. – консультування щодо формування мети і завдань дослідження, допомога у формулюванні висновків).*

9. Парцей ХЮ, Олексин МБ, Литвинюк НІ, Слободян ЗО, Николин АМ, Ерстенюк ГМ. Стан еритроцитарних мембран, про- та антиоксидантного захисту в експериментальних тварин за умов споживання енергетичних напоїв. Матеріали всеукраїнської науково-практичної конференції молодих

вчених “Медична наука в практику охорони здоров’я”; 2016 грудн.9; Полтава. Полтава; 2016, с. 102-3. *(Особистий внесок – проведення експериментального дослідження, забір матеріалу, аналіз отриманих даних, підготовка тез до друку; Олексин М. Б. брала участь у проведенні досліджень; Литвинюк Н. І. брала участь у заборі матеріалу; Слободян З. О. брала участь у редагуванні тез; Николин А. М. допомагав у формулюванні висновків; Ерстенюк Г. М. – консультування щодо формування мети і завдань дослідження).*

10. Парцей ХЮ, Артиш МБ, Токарик ГВ, Литвинюк НІ, Слободян ЗО, Ерстенюк АМ. Мікроелементи еритроцитів та печінки щурів під впливом енергетичних напоїв. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю “Бабенківські читання”; 2017 жовтня 26-27; Івано-Франківськ. Івано-Франківськ: ІФНМУ; 2017, с. 81. *(Особистий внесок – проведення експериментального дослідження, забір матеріалу, аналіз отриманих даних, підготовка тез до друку; Артиш М. Б. брала участь у проведенні досліджень; Токарик Г. В. допомагала у формулюванні висновків; Литвинюк Н. І. брала участь у заборі матеріалу; Слободян З. О. брала участь у редагуванні тез; Ерстенюк А. М. – консультування щодо формування мети і завдань дослідження).*

11. Парцей ХЮ, Артиш МБ, Литвинюк НІ, Слободян ЗО, Ерстенюк АМ. Стан еритроцитарних мембран та гематологічні індекси щурів за умов споживання енергетичного напою. Матеріали II міжнародної заочної науково-практичної конференції “Проблеми, досягнення та перспективи розвитку медико-біологічних і спортивних наук”; 2017 жовтня 30; Миколаїв. Миколаїв; 2017, с. 188-91. *(Особистий внесок – проведення експериментального дослідження, забір матеріалу, аналіз отриманих даних, підготовка тез до друку; Артиш М. Б. брала участь у проведенні досліджень; Литвинюк Н. І. брала участь у заборі матеріалу; Слободян З. О. брала участь у редагуванні тез; Ерстенюк А. М. – консультування щодо*

формування мети і завдань дослідження, допомога у формулюванні висновків).

12. Парцей ХЮ, Николин АМ, Олексин МБ, Литвинюк НІ, Слободян ЗО, Ерстенюк ГМ. Гематологічні показники у щурів під впливом ксенобіотиків. Матеріали науково-практичної конференції “Бюлетень XVI читання ім.В.В. Підвисоцького”; 2017 трав. 18-19; Одеса. Одеса; 2017, с. 265-7. *(Особистий внесок – проведення експериментального дослідження, забір матеріалу, аналіз отриманих даних, підготовка тез до друку; Артиш М. Б. брала участь у проведенні досліджень; Николин А. М. допомагав у формулюванні висновків; Олексин М. Б. брала участь у заборі матеріалу; Литвинюк Н. І. – консультування щодо дизайну дослідження; Слободян З. О. брала участь у редагуванні тез; Ерстенюк А. М. – консультування щодо формування мети і завдань дослідження).*

13. Парцей ХЮ, Артиш МБ, Токарик ГВ, Литвинюк НІ, Слободян ЗО, Ерстенюк АМ. Вміст мікроелементів та гематологічні індекси у щурів під впливом енергетичних напоїв. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю “Актуальні питання сучасної мікроелементології присвяченій пам’яті академіка Ю.І. Кундієва”; 2018 жовтня 4-5; Київ. Київ; 2018, с. 42-3. *(Особистий внесок – проведення експериментального дослідження, забір матеріалу, аналіз отриманих даних, підготовка тез до друку; Артиш М. Б. брала участь у проведенні досліджень; Токарик Г. В. – консультування щодо дизайну дослідження; Литвинюк Н. І. брала участь у заборі матеріалу; Слободян З. О. брала участь у редагуванні тез; Ерстенюк А. М. – консультування щодо формування мети і завдань дослідження, допомога у формулюванні висновків).*

14. Парцей ХЮ, Артиш МБ, Литвинюк НІ, Кіндрат ІП, Токарик ГВ, Ерстенюк ГМ. Вміст мікроелементів в еритроцитах щурів під впливом енергетичних напоїв. Матеріали науково-практичної конференції “Бюлетень XVIII читання ім.В.В. Підвисоцького”; 2019 травня 21-22; Одеса; Одеса; 2019, с.160-2. *(Особистий внесок – проведення експериментального*

дослідження, забір матеріалу, аналіз отриманих даних, підготовка тез до друку; Артиш М. Б. брала участь у проведенні досліджень; Литвинюк Н. І. – консультування щодо дизайну дослідження; Кіндрат І. П. брала участь у заборі матеріалу; Токарік Г. В. брала участь у редагуванні тез; Ерстенюк Г. М. – консультування щодо формування мети і завдань дослідження, допомога у формулюванні висновків).

15. Парцей ХЮ, Луцишин УТ, Романюк ТВ. Показники вуглеводного обміну в еритроцитах щурів під впливом енергетичного напою. Матеріали 90-ої науково-практичної конференції студентів та молодих вчених із міжнародною участю “Інновації в медицині та фармації”; 2021 березня 25-27; Івано-Франківськ. Івано-Франківськ: ІФНМУ; 2021, с. 10. *(Особистий внесок – проведення експериментального дослідження, забір матеріалу, аналіз отриманих даних, підготовка тез до друку; Луцишин У. Т. брала участь у проведенні досліджень; Романюк Т. В. – брала участь у заборі матеріалу).*

16. Парцей ХЮ, Ерстенюк ГМ. Стан прооксидантної системи в еритроцитах щурів внаслідок споживання енергонапою. Матеріали XII міжнародної науково-практичної конференції «International scientific innovations in human life»; 2022 червня 8-10; Манчестер, Великобританія. Манчестер, Великобританія; 2022, с. 56-9. *(Особистий внесок – проведення експериментального дослідження, забір матеріалу, аналіз отриманих даних, підготовка тез до друку; Ерстенюк Г. М. – консультування щодо формування мети і завдань дослідження, допомога у формулюванні висновків).*

17. Парцей ХЮ, Ерстенюк ГМ. Вплив енергонапою на антиоксидантну систему експериментальних щурів. Матеріали III міжнародної науково-практичної конференції «Modern research in world science»; 2022 червня 12-14; Львів. Львів; 2022, с. 118-20. *(Особистий внесок – проведення експериментального дослідження, забір матеріалу, аналіз отриманих даних, підготовка тез до друку; Ерстенюк Г. М. –*

консультування щодо формування мети і завдань дослідження, допомога у формулюванні висновків).

18. Парцей ХЮ, Ерстенюк ГМ. Вміст різних форм гемоглобіну в еритроцитах щурів за умов споживання енергонапою. Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Стан та тенденції розвитку науки, освіти та суспільства»; 2022 червн.7; Полтава. Полтава; 2022, с. 35-6. *(Особистий внесок – проведення експериментального дослідження, забір матеріалу, аналіз отриманих даних, підготовка тез до друку; Ерстенюк Г. М. – консультування щодо формування мети і завдань дослідження, допомога у формулюванні висновків).*

19. Парцей ХЮ, Ерстенюк ГМ. Активність ензимів вуглеводного обміну еритроцитів щурів за умов вживання енергонапою. Матеріали XIII міжнародної науково-практичної конференції «Modern directions of scientific research development»; 2022 червн. 15-17; Чикаго, США. Чикаго, США; 2022, с. 60-4. *(Особистий внесок – проведення експериментального дослідження, забір матеріалу, аналіз отриманих даних, підготовка тез до друку; Ерстенюк Г. М. – консультування щодо формування мети і завдань дослідження, допомога у формулюванні висновків).*

20. Парцей ХЮ, Ерстенюк ГМ. Динаміка показників ендогенної інтоксикації еритроцитів щурів за умов вживання енергонапою. Матеріали XXXV міжнародної науково-практичної конференції «Science, development and the latest development trends»; 2022 вересня с. 06-09; Франція, Париж. Франція, Париж; 2022, с. 56-8. *(Особистий внесок – проведення експериментального дослідження, забір матеріалу, аналіз отриманих даних, підготовка тез до друку; Ерстенюк Г. М. – консультування щодо формування мети і завдань дослідження, допомога у формулюванні висновків).*

21. Парцей ХЮ, Ерстенюк ГМ, Токарик ГВ, Слободян ЗО, Мойсеева УЮ. Вміст мікроелементів в еритроцитах за умов вживання енергонапою. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю

“Бабенківські читання”; 2023 жовтня 26-27; Івано-Франківськ. Івано-Франківськ: ІФНМУ: 2023, с. 67. (Особистий внесок – проведення експериментального дослідження, забір матеріалу, аналіз отриманих даних, підготовка тез до друку; Ерстенюк Г. М. – консультування щодо формування мети і завдань дослідження, допомога у формулюванні висновків; Токарник Г. В. брала участь у редагуванні тез; Слободян З. О. брала участь у проведенні досліджень; Мойсеєва У. Ю. брала участь у заборі матеріалу).

ЗМІСТ

| | |
|---|----|
| ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ..... | 24 |
| ВСТУП..... | 25 |
| РОЗДІЛ 1 МЕТАБОЛІЧНІ ПРОЦЕСИ В ЕРИТРОЦИТАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН ЗА УМОВ СПОЖИВАННЯ ЕНЕРГЕТИЧНИХ НАПОЇВ (ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД) | 33 |
| 1.1 Енергетичні напої: історія виникнення та їх склад | 33 |
| 1.2 Особливості метаболізму в еритроцитах за умов норми та при патологічних станах | 51 |
| 1.3 Роль макро- та мікроелементів у метаболічних процесах в еритроцитах | 58 |
| РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ..... | 64 |
| 2.1 Дизайн дослідження..... | 64 |
| 2.2 Гематологічні методи дослідження | 66 |
| 2.3 Біохімічні методи дослідження | 69 |
| 2.3.1 Методики визначення антиоксидантного захисту еритроцита..... | 69 |
| 2.3.2 Методики визначення продуктів пероксидації ліпідів та білків..... | 71 |
| 2.3.3 Методики визначення основних показників вуглеводного обміну в еритроцитах..... | 72 |
| 2.3.4 Визначення вмісту АТФ..... | 74 |
| 2.4 Біофізичні методи дослідження..... | 74 |
| 2.5 Статистичні методи дослідження..... | 76 |
| РОЗДІЛ 3 ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ ЕНЕРГЕТИЧНОГО НАПОЮ НА СИСТЕМУ ЕРИТРОНУ..... | 77 |
| 3.1 Гематологічні індекси периферичної крові щурів за умов споживання енергетичного напою..... | 77 |
| 3.2 Параметри кислотних еритрограм за умов споживання енергетика..... | 83 |

| | |
|---|-----|
| | 22 |
| РОЗДІЛ 4 ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ ЕНЕРГЕТИЧНОГО НАПОЮ НА ЛІГАНДНІ ФОРМИ ГЕМОГЛОБІНУ..... | 86 |
| 4.1 Вивчення впливу енергетичного напою на рівень загального гемоглобіну та лігандні форми гемоглобіну..... | 86 |
| 4.2 Вивчення впливу енергетичного напою на рівень глікованого гемоглобіну | 94 |
| 4.3 Киснева ємність крові за умов впливу енергетичного напою..... | 96 |
| РОЗДІЛ 5 СТАН ПРО- ТА АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ЕРИТРОЦИТІВ ЗА УМОВ ВПЛИВУ ЕНЕРГЕТИЧНОГО НАПОЮ | 98 |
| 5.1 Окиснювальна модифікація білків та пероксидна модифікація ліпідів еритроцитів за умов споживання енергетичного напою..... | 98 |
| 5.2 Стан ендогенної інтоксикації еритроцитів за умов споживання енергетичного напою..... | 101 |
| 5.3 Активність антиоксидантного захисту еритроцитів за умов споживання енергетичного напою..... | 103 |
| РОЗДІЛ 6 ВПЛИВ ЕНЕРГЕТИЧНОГО НАПОЮ НА ВУГЛЕВОДНИЙ ОБМІН В ЕРИТРОЦИТАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН..... | 110 |
| 6.1 Дослідження метаболітів вуглеводного обміну за умов споживання енергетичного напою..... | 110 |
| 6.2 Активність лактатдегідрогенази та глюкозо-6-фосфатдегідрогенази еритроцитів за умов споживання енергетичного напою..... | 113 |
| РОЗДІЛ 7 ОЦІНКА БІОЕЛЕМЕНТНОГО СТАТУСУ ЕРИТРОЦИТІВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН ЗА УМОВ СПОЖИВАННЯ ЕНЕРГЕТИЧНОГО НАПОЮ..... | 117 |
| 7.1 Вміст макро- та мікроелементів в еритроцитах експериментальних тварин за умов споживання енергетичного | |

| | |
|--|------------|
| | 23 |
| напою..... | 117 |
| РОЗДІЛ 8 АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ | |
| ДОСЛІДЖЕННЯ..... | 123 |
| ВИСНОВКИ..... | 143 |
| СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ..... | 146 |
| ДОДАТКИ..... | 180 |

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

| | |
|-------|------------------------------------|
| ААС | Атомно-абсорбційна спектроскопія |
| АОЗ | Антиоксидантний захист |
| АФК | Активні форми кисню |
| Г6ФДГ | Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа |
| GST | Глутатіонтрансфераза |
| ГП | Глутатіонпероксидаза |
| ГР | Глутатіонредуктаза |
| ДК | Дієнові кон'югати |
| ЕП | Еритроцитарний індекс інтоксикації |
| ЕН | Енергетичні напої |
| КАТ | Каталаза |
| ЛДГ | Лактатдегідрогеназа |
| МДА | Малоновий диальдегід |
| МЕ | Мікроелементи |
| МОЗ | Міністерство охорони здоров'я |
| МСМ | Молекули середньої маси |
| НДР | Науково-дослідна робота |
| ОМБ | Окисна модифікація білків |
| ПОБ | Перекисне окислення білків |
| ПОЛ | Перекисне окислення ліпідів |
| СОД | Супероксиддисмутаза |
| ЦНС | Центральна нервова система |
| Mg | Магній |
| Mn | Манган |
| Fe | Ферум |
| Zn | Цинк |
| Cu | Купрум |
| Se | Селен |

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Енергетичні напої є популярним продуктом серед різних вікових груп. Проте основні групи споживачів цих напоїв – спортсмени, підлітки та студенти, які сподіваються підвищити рівень енергії або компенсувати недостатній сон [120]. Насамперед, варто відзначити деякі потенційні переваги вживання енергетичних напоїв, такі як підвищення ефективності продуктивності праці та підняття настрою завдяки наявності кофеїну, женьшеню, таурину або інших природних джерел кофеїну, таких як гуарана [219]. Але, нажаль, зловживання ЕН може мати негативний вплив на здоров'я та значні наслідки для різних систем організму, викликаючи порушення роботи практично всіх органів. Цей вплив включає збільшення частоти серцевих скорочень, підвищення рівня дофаміну та адреналіну, що може призвести до розвитку гіпертонії, дегідратації, поліурії та порушень роботи шлунково-кишкового тракту [162, 226]. Дослідження електрокардіографічних та гемодинамічних показників показали, що внаслідок споживання енергетичних напоїв спостерігається підвищена агрегація тромбоцитів, підвищення пульсу та артеріального тиску, подовження QTc інтервалу, що підвищує ризик розвитку torsades de pointes – серйозних шлуночкових аритмій [184, 212]. Особливо вразливими до цих ефектів є люди похилого віку та ті, у кого вже є проблеми з артеріальним тиском. Ці ефекти пов'язують з ергогенними властивостями кофеїну, який є одним з основних компонентів у енергетичних напоях. Кофеїн стимулює центральну нервову систему, що може призвести до збільшення серцевого ритму та судинного тону, що, в свою чергу, підвищує пульс та артеріальний тиск [99]. Крім того, деякі дослідження показали, що внаслідок цього можуть виникати серцеві аритмії, зокрема шлункові. Аритмії, спазми судин та інші серцеві проблеми пов'язують з інгредієнтами енергетичних напоїв, такими як кофеїн та таурин, які можуть викликати збільшення згортання тромбоцитів та порушення

функції ендотелію [34]. Дослідження останніх років показали зв'язок між надмірним споживанням енергетичних напоїв і розширенням артерій, утворенням аневризми, розривом і розшаруванням великих артерій [96]. Також зафіксовано вплив частого вживання енергетичних напоїв на артеріальний тиск, частоту серцевих скорочень та рівень глюкози в крові у здорових дорослих, які займаються фізичними навантаженнями [245]. Ці випадки підкреслюють необхідність обережного споживання енергетичних напоїв та усвідомлення можливих небезпек для серцево-судинної системи [249].

Дослідження вказують на те, що споживання енергетичних напоїв може призводити до порушення кровообігу мозку і впливає на транспорт кисню та поживних речовин до мозку, що може негативно вплинути на його функціонування [100].

Встановлено зв'язок з більшим ризиком помірною та серйозною рівнів психологічного стресу, думок про самогубство та спроб самогубства [155]. Дослідження підлітків у віці 15-16 років показало сильну кореляцію між споживанням кофеїну та порушеннями поведінки [25, 126]. Хоча жінки загалом більш вразливі до проблем психічного здоров'я, дослідження показали, що цей зв'язок був сильніший у чоловіків, можливо через більш високе споживання ЕН серед молодих чоловіків. За даними ряду авторів ЕН [34, 127, 155] можуть спричинити розлади психіки.

Крім того, високий вміст цукру в енергетичних напоях може знижувати активність, різноманітність кишкової мікрофлори, що призводить до збільшеного ризику розвитку ожиріння та метаболічного синдрому [188]. Проведено дослідження, яке продемонструвало, що пероральне введення ЕН щурам протягом 12 тижнів призвело до різного ступеня ушкодження печінки та нирок. Це було очевидно за значним підвищенням рівня АСТ, АЛТ, лужної фосфатази, креатиніну, сечовини та сечової кислоти в крові [152]. Оксидативні ушкодження нирок у вигляді запалення, протеїнурії та гістопатологічних змін в нирковій тканині виникають внаслідок

оксидативного стресу, спричиненого стійкою гіперглікемією, що активує утворення перекисних радикалів [93].

Поряд з тим, виявлено значне збільшення концентрацій сечової кислоти та креатиніну в сироватці щурів, які отримували ЕН. Їх збільшення, зазвичай, пов'язують з порушенням функції нирок [125]. Деякі дослідження суперечать цим результатам. Зокрема, як зазначає Ебуехі О.А. та співавт. [35] споживання ЕН приводить до зростання рівня загального білка у плазмі та зниження рівня креатиніну, альбуміну та сечової кислоти. Однак інші дослідники не виявили значного зв'язку між споживанням кофеїну та рівнями сечовини та креатиніну у кроликів [208].

В результаті недавнього дослідження, проведеного на підлітках в Кореї, було встановлено, що регулярне споживання ЕН пов'язане з високою ймовірністю розвитку алергічних захворювань, таких як atopічний дерматит, астма та алергічний риніт [250]. Також показано, що споживання енергетичних напоїв призводить до підвищення вмісту глюкози в крові, тригліцеридів та HbA_{1c} [107, 199].

На збільшення рівня тригліцеридів у крові, а також вплив на рівень холестерину та розвиток інсулінорезистентності вказують Алталгі Т. та Гранері Л. [40, 98]. Кофеїн може впливати на апетит та шлунково-кишковий тракт, зменшуючи споживання їжі та спричиняючи розлади. Хосої та співавтори повідомляють, що кофеїн може пригнічувати апетит і, отже, зменшує споживання їжі, послаблюючи резистентність до лептину у нейронах шляхом інгібування стресу ендоплазматичного ретикулуму [116].

Отже, вплив енергетичних напоїв на організм може бути комплексним і залежати від дози, складу і специфіки самого напою [169]. Більшість наукових досліджень, які згадуються в літературі, розглядають вплив енергетичних напоїв на стан серцево-судинної системи, шлунково-кишкового тракту та нейрофізіологічні показники, але даних про їх вплив на гематологічні показники крові дуже мало [47, 125, 192].

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційна робота виконана відповідно до плану наукових досліджень Івано-Франківського національного медичного університету та Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України і є фрагментом міжкафедральних науково-дослідних робіт «Наукове обґрунтування та удосконалення діагностики і лікування ендокринопатій на основі вивчення пріоритетних етіопатогенетичних факторів та коморбідних станів» (№ держреєстрації 0120U0105103) без спеціального фінансування та «Експериментальне дослідження метаболічних порушень в організмі за дії екзогенних токсикантів при різних патологічних станах» (№ держреєстрації 0120U104148). Дисертантка була їх безпосереднім співвиконавцем та провела експериментальні дослідження стосовно впливу енергетичних напоїв на метаболічні процеси в еритроцитах експериментальних тварин.

Мета дослідження: дослідити вплив енергетичних напоїв на метаболічні процеси в еритроцитах та біоелементний статус експериментальних тварин.

Завдання дослідження:

- 1) дослідити вплив енергетичних напоїв на гематологічні індекси периферичної крові;
- 2) встановити ступінь резистентності еритроцитів за умов споживання енергетичних напоїв;
- 3) оцінити вплив енергетичних напоїв на лігандні форми гемоглобіну та кисневу ємність крові;
- 4) дослідити вплив енергетичних напоїв на стан ендогенної інтоксикації еритроцитів;
- 5) оцінити стан про- та антиоксидантних систем за умов споживання енергетичних напоїв;
- 6) вивчити основні показники вуглеводного обміну еритроцитів за умов споживання енергетичних напоїв;

7) провести порівняльний аналіз вмісту макро- та мікроелементів у еритроцитах експериментальних тварин за умов споживання енергетика;

Об'єкт дослідження – метаболічні процеси в еритроцитах експериментальних тварин (щурів лінії Вістар) на тлі споживання енергетичних напоїв.

Предмет дослідження – гематологічні індекси, біохімічні показники метаболізму вуглеводів, енергетичного обміну, про- та антиоксидантної систем, рівень регуляторних макро- та мікроелементів (Mg, Mn, Fe, Zn, Cu, Se) у еритроцитах за умов споживання енерготоніків.

Методи дослідження: гематологічні; біохімічні – визначення концентрації глюкози, фруктози, лактату, пірувату, АТФ, КРЕ, еритроцитарний індекс інтоксикації (ЕІІ), вміст молекул середньої маси (МСМ), продуктів окисної модифікації білків (ОМБ), дієнових кон'югатів (ДК), продуктів, що реагують на тіобарбітурову кислоту (ТБК-АП), загального білка; визначення активності металоензимів: ЛДГ, СОД, КАТ, ГП, ГР, GST, Г6ФДГ спектрофотометричним методом; біофізичні – визначення вмісту макро- та мікроелементів в еритроцитах за допомогою атомно-абсорбційного методу згідно з методикою Г. О. Бабенка; статистичний аналіз результатів.

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше досліджено вплив енергетичного напою на функціонування еритроцитів, зокрема отримано нові дані щодо змін у процесах білкової та ліпідної пероксидації. Виявлено, що за умов споживання енергонапою відбуваються порушення функціонування ензиматичної ланки антиоксидантного захисту, які підтверджуються змінами активності СОД, КАТ, ГП, ГР, GST.

Вперше виявлено, що за умов споживання енергонапою зростає інтенсивність ендогенної інтоксикації, яка супроводжується порушенням еритроцитарних мембран та кисневої ємності крові. На цьому тлі виявлено зміни концентрації загального гемоглобіну та лігандних форм, зокрема зростання метгемоглобіну, сульфгемоглобіну, карбоксигемоглобіну, що

перешкоджають насиченню гемоглобіну киснем, зменшуючи рівень оксигемоглобіну в транспортованій крові і сприяють розвитку тканинної гіпоксії.

Новими є відомості стосовно рівня регуляторних біоелементів: Mg, Mn, Fe, Zn, Cu, Se в еритроцитах експериментальних тварин та активності металоензимів: ЛДГ, СОД, КАТ, ГП, ГР, GST, Г6ФДГ за умов споживання енергетичного напою.

Показано, що споживання енергонапою супроводжується накопиченням проміжних та кінцевих метаболітів вуглеводного обміну (АТФ, глюкози, фруктози, пірувату, лактату) в еритроцитах експериментальних тварин.

Практичне значення одержаних результатів. Отримані дані допоможуть поглибити знання про механізми впливу енергетичних напоїв на метаболічні процеси, що важливо для подальшого розвитку наукових досліджень та їхнього застосування у практиці та навчальному процесі.

Результати дослідження впроваджені в практику наукових досліджень ДУ «Інститут медицини праці імені Ю. І. Кундієва Національної академії медичних наук України» і в навчальний процес на кафедрах біологічної та медичної хімії імені академіка Г. О. Бабенка Івано-Франківського національного медичного університету, медичної біохімії Тернопільського національного медичного університету імені Я. І. Горбачевського МОЗ України, біологічної хімії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

Особистий внесок здобувача. Автор особисто опрацював основні теоретичні та практичні аспекти роботи, провів аналіз джерел літератури, здійснив патентно-інформаційний пошук, провів експериментальні дослідження, здійснив статистичну обробку отриманих даних та оформив розділи дисертації. Постановка загальних завдань досліджень, інтерпретація отриманих експериментальних результатів, підготовка публікацій та обговорення висновків дисертаційної роботи відбувалися спільно з

науковими керівниками. Наукові праці, які були підготовлені до друку, аспірантка виконала самостійно та у співавторстві. У працях, які опубліковано у співавторстві, використано фактичний матеріал автора, узагальнення та висновки сформульовані спільно.

Апробація результатів дослідження. Основні положення та результати дисертаційної роботи оприлюднено на 87 науково-практичній конференції з міжнародною участю студентів та молодих вчених «Інновації в медицині» (Івано-Франківськ, 2018); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні питання сучасної мікроелементології присвяченій пам'яті академіка Ю.І. Кудієва» (Київ, 2018); науково-практичній конференції «Бюлетень XVIII читання ім. В. В. Подвисоцького» (Одеса, 2019); 90 науково-практичній конференції студентів та молодих вчених із міжнародною участю «Інновації в медицині та фармації» (Івано-Франківськ, 2021); XII міжнародній науково-практичній конференції «International scientific innovations in human life» (Манчестер, 2022); III міжнародній науково-практичній конференції «Modern research in world science» (Львів, 2022); міжнародній науково-практичній конференції «Стан та тенденції розвитку науки, освіти та суспільства» (Полтава, 2022); XIII міжнародній науково-практичній дистанційній конференції «Modern directions of scientific research development» (Чикаго, 2022); XXXV міжнародній науково-практичній конференції «Science, development and the latest development trends» (Париж, 2022); міжнародній науково-практичній конференції «Бабенківські читання» (Івано-Франківськ, 2023).

Публікації. За результатами дисертаційної роботи опубліковано 21 наукова праця, зокрема 6 статей у фахових наукових виданнях України (у тому числі одна – у виданні, віднесеному до наукометричної бази Web of Science); 15 тез у матеріалах наукових форумів та конференцій різного рівня.

Структура та об'єм дисертації. Дисертаційна робота викладена українською мовою на 190 сторінках друкованого тексту і складається з

таких розділів, як: анотація, вступ, огляд літератури, матеріали та методи дослідження, три розділи власних досліджень, аналіз та узагальнення результатів досліджень, висновки, список використаних джерел із 260 найменувань (з них 24 джерела латиницею), додатки. Роботу ілюстровано таблицями, рисунками та додатками. Список використаних джерел і додатки викладено на 44 сторінках.

РОЗДІЛ 1

МЕТАБОЛІЧНІ ПРОЦЕСИ В ЕРИТРОЦИТАХ

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН ЗА УМОВ СПОЖИВАННЯ

ЕНЕРГЕТИЧНИХ НАПОЇВ

1.1 Енергетичні напої: історія виникнення та їх склад

Споконвіку люди намагалися допомогти собі «швидкою підзарядкою». Ідея створення напою, який підвищує психоемоційну та фізичну активність людини, додає сил і допомагає зосередитися у важливі моменти, була реалізована ще декілька тисячоліть тому. Людство навчилося отримувати енергію та натхнення з рослин. Проте поява енергетичних напоїв в різних країнах відбувалася у різні періоди часу. Наприклад, у Німеччині це сталося в дванадцятому столітті, а ігумен Хільдегард фон Бінген вважається одним з перших, хто впровадив цей напій, який використовували для лікування хворих. Звичайно, на смак і своїми властивостями, які бадьорили, напої тих років не можна порівнювати з сучасними [236].

Своїм «другим життям» енергетики зобов'язані Сміт-Кляйну, англієць за походженням, який в 1938 році розробив свій перший енергетичний напій, Lukozade, для спортсменів Туманного альбіону, що майже призвело до отруєння їх. Пізніше Бічамон внісши деякі зміни до рецептури, знову випустив напій на ринок у великій кількості. Незважаючи на негативну репутацію, цей напій здобув широку популярність серед британців. Навіть у 1962 році в Японії, компанією Taisho Pharmaceuticals, за зразком саме цього напою був створений новий, що отримав назву Lipovitan D™. На сьогоднішній день Японія стала одним з найважливіших виробників на світовому ринку енергетичних напоїв, а зародження цієї індустрії в основному пов'язане з цією країною. У Європі енергетичні напої набули популярності пізніше, ніж у Японії. Першим, хто впровадив їх в європейському контексті, став австрійський підприємець Дітріх Матешец.

Під час відрядження до Гонконгу в 1982 році він спробував один з тонізуючих напоїв, які вже були популярні там. Це спровокувало у нього ідею створення першого в Європі підприємства, що займатиметься виробництвом енергетичних напоїв. У 1984 році ця ідея стала реальністю, і Матешець запусив свій продукт на ринок. Його напій отримав назву Red Bull та здобув величезну популярність серед споживачів, що незабаром викликало появу десятки напоїв з аналогічними властивостями. Зокрема Coca-Cola і Pepsi випустили свої власні версії енергетичних напоїв, такі як "Burn" і "Adrenaline Rush" [29].

У середині 2000-х років розпочався справжній світовий енергетичний бум. У 2006 році було зареєстровано майже 500 нових брендів по всьому світу, а в США за період з 2008 по 2012 роки вони збільшилися на 60%. У 2015 році обсяг продажів енергетичних напоїв склав близько 2,8 мільярда доларів США, а в 2020 році ця цифра зросла до 12 мільярдів доларів США. Прогнози також показують, що глобальний ринок енергетичних напоїв зростатиме експоненційно протягом останніх двох десятиліть. Очікується, що цей ринок зросте з 53,01 мільярда доларів у 2018 році до 86,01 мільярда доларів до 2026 року [122].

Сьогодні ЕН все швидше входять у повсякденне життя сучасної людини, а головними ринками збуту є Європа, Північна та Південна Америка, а також країни Азії. Виробництвом енергетиків зараз займаються не лише спеціалізовані підприємства, такі як Red Bull, але й провідні гравці безалкогольної індустрії, такі як Pepsi і Coca-Cola. За даними [122] станом на 2018, у світі існує понад 500 торгових найменувань енергетичних напоїв, які суттєво відрізняються за складом. На сьогоднішній день найвищі позиції в світовому рейтингу займають такі, як Red Bull, Burn, Non Stop Jaguar, Oronamin C, Real Gold, Sobe і Pocari Sweat [122].

Однак незалежно від марки, всі вони містять великі дози речовин і сполук, що мають стимулюючу та тонізуючу дію, такі як кофеїн, гуарана, таурин, женьшень, глюкуронолактон, L-карнітин, вітаміни групи В та інші.

Незважаючи на широке поширення, в науковій літературі відсутнє загальноприйняте визначення «енергетичних напоїв». Зазвичай виробники так називають безалкогольні напої, у рекламній кампанії безалкогольних напоїв, особливий акцент робиться на їхній здатності збадьорити центральну нервову систему людини, підвищити рівень енергії та концентрації, а також уникнути відчуття сонливості. Більшість енергетичних напоїв мають схожий набір основних компонентів, але різні виробники можуть використовувати різні комбінації і різні кількості цих компонентів. Крім того, вони можуть значно відрізнятись за вмістом. Склад енергетичних напоїв може включати природні речовини, однак найчастіше до їхнього вмісту входять штучні компоненти. Виробники різних торгових марок намагаються створити напої, які виділяються своїм унікальним смаком та ароматом та продовжують розробляти все нові і нові види цих напоїв. Також виробники випускають упаковки великого розміру, що зменшує вартість напою і його доступність, особливо для молоді, яка має невеликі доходи, та є причиною зростання обсягу продажів енергетиків.

На етапі створення ЕН були призначені для дорослих, проте на сьогоднішній день їх активно споживають діти, підлітки, молодь і літні люди. Згідно з інформацією Європейського агентства з безпеки харчових продуктів, лише 30% постійних споживачів енергетичних напоїв становлять дорослі особи старше 18 років, а 68% – це підлітки у віці від 10 до 18 років та 18% – це діти до 10 років [84, 94]. Вони стали не просто популярними напоями, але й частиною субкультури. Експерти Естонського підрозділу Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) опублікували дослідження у журналі *Frontiers in Public Health* (2014), згідно з яким в Європі одна третина дорослих, понад дві третини підлітків і кожна п'ята дитина споживають ЕН. Крім того, 70% молодих людей у віці від 18 до 29 років споживають ЕН з алкоголем або вживають напої, що містять як алкоголь, так і кофеїн [50].

Зазначимо, що енергетики офіційно заборонені у Франції, Данії, Норвегії та Туреччині. У цих країнах ЕН можна придбати тільки в аптеках,

оскільки вони розглядаються як ліки, і дози їх споживання регулюються дуже строго. Смертельна доза кофеїну для людини становить приблизно 10 грамів, що відповідає приблизно 150 баночкам ЕН. Нажаль, на сьогодні українському законодавстві немає визначення такого терміну, як «ЕН (енергетика, енерготоніка)» і в Україні не існує обмежувальних заходів щодо продажу цих напоїв.

Поряд із тим, ці напої широко вживаються представниками різних професій та занять у тому випадку, коли потрібна додаткова порція енергії, щоб встигнути зробити термінове завдання або багато справ за короткий проміжок часу, і при цьому почуватися бадьоро. Зокрема, в таких ситуаціях, як стресові стани (лікарі, працівники ІТ сфери), інтенсивні фізичні навантаження (спортсмени та військовослужбовці), ненормований робочий графік («трудоголіки», втомлені водії, охоронці), довгі подорожі, хронічне недосипання та напружений період навчання або складання іспитів (студенти), відпочинок в нічних клубах і кафе (активна молодь) [54, 228, 244]. Занепокоює той факт, що головними споживачами цих напоїв є діти, підлітки і активна молодь, адже саме вони мали б дати нації здорове потомство в майбутньому, але чи бути цьому?

З одного боку всі інгредієнти енергетичних напоїв, що використовувалися в давнину для створення настоїв, які збадьорюють, і сьогодні залишаються популярними в сучасному виробництві та є компонентами звичайної їжі і щодо них мали б бути відсутні жодні побоювань, які призводять до необхідності встановлення заборон і обмежень. Однак, навіть найпопулярніші ЕН не можуть похвалитися натуральними рослинними компонентами. То виникає питання, що ж входить до складу енергетиків? Надалі подано вміст речовин в найбільш поширених енергетичних напоях зазначених в перерахунку на 100 грамів продукту (інформація, яка була переписана з упакувань, не перевірялась на достовірність).

Red Bull:

- вода, сахароза, глюкоза, діоксид вуглецю;
- глюкуронолактон у кількості 0,24%;
- кофеїн у кількості 0,03% (75 мг);
- таурин у кількості 0,4%;
- вітаміни: В₃, В₅, В₆, В₁₂, В₈ у кількості, які не перевищують добову потребу;
- ароматизатори, барвники, регулятори кислотності.

За вмістом стимулюючих компонентів це напій мало відрізняється від чашки чорної кави з цукром.

Burn:

- вода, сахароза, діоксид вуглецю;
- глюкуронолактон;
- таурин у кількості 0,4%;
- кофеїн (не більше 350 мг/л);
- екстракт гуарани, теобромін;
- вітаміни: В₃ – 6,95 мг, В₅ – 1,70 мг, В₆ – 0,40 мг, В₁₂ – 0,38 мкг, В₈ у кількості, які не перевищують добову потребу;
- ароматизатори, барвники, регулятори кислотності.

Зважаючи на високий вміст кофеїну, посиленого теоброміном та екстрактом гуарани, його використання потребує особливої обережності.

Adrenaline Rush:

- вода, сахароза, двоокис вуглецю;
- D-рибоза (201мг, 100% від добової норми споживання);
- таурин (399 мг, 100% від добової норми споживання);
- натуральний кофеїн (разом з гуараною не більше 30 мг);
- екстракт гуарани;
- екстракт женьшеню (4,8 мг), мальтодекстрин;
- вітаміни: С, В₆, В₁₂, В₈ у кількості, які не перевищує добову потребу;
- ароматизатори, барвники, регулятори кислотності.

Напій містить невелику кількість кофеїну, а його стимулюючий ефект посилюється за рахунок женьшеню. Це можливо найбільш "м'який" серед енергетичних напоїв, проте це не означає, що його можна вживати у великих кількостях. Важливо звертати увагу на те, що в одній порції міститься добова норма таурину і рибози.

Отже, найбільш поширеними інгредієнтами є: сахароза, кофеїн, таурин, вітаміни групи В, рослинні екстракти, барвники та ароматизатори. Крім того, це сильно-газовані напої, які містять значну кількість карбонатної кислоти (H_2CO_3), що сприяє швидкому засвоєнню компонентів і швидкому прояву ефекту, однак в надмірній кількості порушує роботу шлунково-кишкового тракту. Основним інгредієнтом у більшості енергетичних напоїв найчастіше є кофеїн. Слід зазначити, чашка кави ємністю 240 мл містить 130 мг кофеїну, енергетичний напій Red Bull – 80 мг кофеїну, а Monster – від 115 до 184 мг. Зупинимось більш детально на кожному інгредієнту ЕН.

Кофеїн – це найпоширеніший психоактивний компонент енергетиків, який належить до класу хімічних сполук метилксантинів. На відміну від чаю чи кави, ЕН містять синтетичну форму кофеїну, який швидко поглинається зі шлунково-кишкового тракту і розподіляється по всіх тканинах, легко проникаючи через плацентарний бар'єр. Кількість кофеїну в енергетичних напоях значно варіює: від 30 мг до 130 мг на 100 мл продукту. Однак негативні ефекти кофеїну в енергетичних напоях компенсуються врахуванням того факту, що кава зазвичай п'ється гарячою, в менших кількостях і тривалий час. Крім того, кава містить антиоксиданти, які зменшують негативний вплив кофеїну на серцево-судинну та травну системи організму [57, 138]. Внаслідок прийому кофеїну людина відчуває збільшений приплив енергії та сил, стає бадьорою, має покращену реакцію і не відчуває втоми. Рекомендована безпечна доза щоденного вживання кофеїну становить до 400 мг на день. Ця доза рекомендується для здорових дорослих осіб молодого і середнього віку, за винятком жінок під час вагітності та годування груддю (для них безпечна доза ще не встановлена). Щодо дітей, існують

розбіжності в даних: у даний час розглядається зниження максимально допустимої дози для них [235].

Важливо відзначити деякі фізіологічні потенційно корисні ефекти кофеїну. По-перше, кофеїн є інгібітором фосфодіестерази, тому модифікує рівні внутрішньоклітинного цАМФ та стимулює обмін глюкози та ліполіз [109]. По-друге, помірне споживання кофеїну в рекомендованих дозах може зменшувати ризик розвитку хронічних захворювань печінки, таких як цироз і рак, шляхом пригнічення активності ензиму гамма-глутамілтрансферази (ГГТ). Третім важливим ефектом кофеїну є його здатність знижувати ризик розвитку хвороби Паркінсона, що може бути пов'язано з його захисним впливом на дофамінергічні клітини головного мозку від нейротоксинів [45].

Багато позитивних ефектів кофеїну можна пояснити його взаємодією з рецепторами аденозину в організмі. Аденозин, який є складовою частиною молекули аденозинтрифосфату (АТФ) та нуклеїнових кислот, впливає як нейромодулятор на деякі метаболічні процеси у центральній нервовій системі (ЦНС). Оскільки аденозин пригнічує активність ЦНС, зв'язуючись з рецепторами A_1 та A_3 , що призводить до зменшення виходу нейротрансмітерів, що викликає заспокоєння, зниження активності та сонливості. Кофеїн, як антагоніст рецепторів аденозину, блокує ці рецептори і сприяє збільшенню кількості нейротрансмітерів, таких як: адреналін, норадреналін, триптофан і дофамін у певних частинах мозку. Крім того, кофеїн може стимулювати вироблення серотоніну і гамааміномасляної кислоти (ГАМК). Ці біохімічні ефекти кофеїну покращують настрій і збільшують пізнавальні здібності [85]. Кофеїн є важливою складовою раціону багатьох спортсменів, оскільки помірні дози кофеїну можуть підвищити фізичну активність та поліпшити психічну та фізичну працездатність, покращити витривалість [103]. Він також тимчасово підвищує увагу, пам'ять і реакцію, зменшуючи відчуття втоми і сонливості [103]. Дослідження [175] також показують, що помірною одноразовою дозою кофеїну (200-350 мг) знижує частоту серцевих скорочень і підвищує

артеріальний тиск у дорослих, а також покращує самопочуття та активність. Поряд з тим показано, що кофеїн може знижувати ризик розвитку цукрового діабету 2-го типу шляхом впливу на метаболізм глюкози, що допомагає запобігти інсуліно-резистентності [45].

Літературні дані стосовно впливу ЕН на метаболічні процеси суперечливі. Ряд авторів [102, 172] стверджують, що споживання напоїв, які містять як цукор, так і кофеїн, веде до зростання частоти виникнення порушень, таких як ожиріння, цукровий діабет 2-го типу та серцево-судинні захворювання. Ці дані узгоджуються з раніше опублікованими результатами, які показували значні зміни рівня глюкози в крові після прийому енергетичних напоїв [174]. Збільшення рівня глюкози в крові призвело до гіперінсулінемії, що негативно впливає на весь метаболічний процес [150]. Ця стійка гіперглікемія вважається провокатором оксидативного стресу, який виникає в результаті утворення глікаційних кінцевих продуктів та денатурації різних макромолекул, генеруючи реактивні форми кисню [43]. Відомо [43], що вироблення АФК у обмеженому обсязі, є звичайною реакцією запалення. Однак, якщо їх утворення перевищує нормальну кількість, це призводить до порушення функції клітин і пошкодження тканин у різних органах [88, 161, 171]. У груп мишей, які отримували ЕН виявлено збільшену активацію запального цитокіну TNF- α порівняно з контролем. Це можна пояснити, на думку вчених [98, 206], взаємодією AGE-RAGE, яка відбувається в умовах гіперглікемії і характерно викликає вивільнення TNF- α .

Інше дослідження [213] також виявило, що вплив ЕН призводить до збільшення окислювального стресу у кроликів. Це було підтверджено значним зниженням активності *супероксиддисмутази, каталази і глутатіонпероксидази*, що є важливими антиоксидантами, які співпрацюють з неензимною системою антиоксидантів для захисту клітин від пошкоджень, спричинених вільними радикалами [213]. Супероксиддисмутаза нейтралізує високореактивний супероксидний аніон, перетворюючи його на перекис водню, який в свою чергу розкладається на воду та за участю каталази та

глутатіонпероксидази. Значне зниження рівнів цих ензимів у крові, особливо у кроликів, які отримували середню та високу дози ЕН, може бути зумовлене збільшенням утворення супероксидного радикалу під дією ЕН, що перевищує компенсаторні можливості антиоксидантних ензимів [213].

Дослідження Діаса та ін. показали, що вплив високих рівнів кофеїну на людські клітини також спричиняє прооксидантне середовище, що призводить до збільшення окислення білків, тоді як низькі рівні кофеїну не впливають на антиоксидантну потужність клітин [76]. Було показано, що кофеїн значно збільшує рівень азоту сечовини, що призводить до активації ксантиоксидази, яка в свою чергу стимулює окислення ксантину до сечової кислоти та утворення супероксидного аніону та H_2O_2 [259]. З іншого боку, кілька досліджень незалежно демонстрували антиоксидантні властивості багатьох компонентів ЕН, таких як таурин, женьшень, кофеїн і гуарана [259].

Незважаючи на те, що кофеїн має низьку токсичність, великі дози та регулярне споживання можуть викликати негативні ефекти, такі як: психомоторне збудження, роздратування, безсоння, тахікардія, аритмія, підвищений артеріальний тиск, нудота та блювання. Особливо важливо бути обережним у вживанні кофеїну під час вагітності, оскільки це може вплинути на формування нервової системи у дітей, проявляючись у вигляді капризності, роздратування, швидкої втоми та порушенням денного та нічного сну [190, 201]. Для осіб, які мають схильність до серцево-судинних захворювань, регулярне споживання кофеїнових енергетичних напоїв може призвести до серйозних проблем зі здоров'ям, таких як підвищений артеріальний тиск, прискорений серцевий ритм і у деяких випадках ризик розвитку аритмії [253]. Для літніх людей кофеїн може бути більш небезпечним, особливо для тих, хто має серцево-судинні та інші хронічні неінфекційні захворювання [63]. Особам, які страждають на такі стани, як епілепсія, збільшена роздратованість, безсоння, неконтрольована артеріальна гіпертензія, порушення серцевого ритму або глаукома, рекомендується утриматися від споживання кофеїну.

Поряд із тим, виявлено, що певна частина споживачів стає залежними від ЕН через адаптацію організму до кофеїну. Це може призводити до зменшення стимулюючого ефекту кофеїну при однаковій дозі через феномен звикання [149]. Частий прийом кофеїну знижує чутливість до інсуліну, що може пояснювати зростання рівня глюкози в крові після споживання енергетичних напоїв, яке було зафіксовано в деяких дослідженнях. Ці дослідження показали, що споживання кофеїну знижує чутливість до інсуліну залежно від дози, зі збільшенням інсуліну на 5,8% на кожен мг/кг кофеїну [39].

Учені попереджають про небезпеку отруєння кофеїном, особливо частіше у дітей, ніж у дорослих [50]. Зазвичай люди виявляють симптоми отруєння кофеїном при дозах рівних або більших навіть 200 мг. Серед симптомів відзначають тривогу, безсоння, розлади шлунково-кишкового тракту, судоми, збудження, тривогу та епізоди втоми [46, 153]. У людей, які споживають більше 300 мг кофеїну на день, можуть спостерігатися галюцинації [39]. Крім того, високий прийом кофеїну пов'язаний з гострими та хронічними щоденними головними болями за рахунок стимуляції проноцицептивного стану гіперексайтальності кори [83].

На рис.1.1 представлено позитивний і негативний вплив кофеїну на різні органи і системи організму в цілому [200]. Варто пам'ятати, що реакція на кофеїн може бути індивідуальною і залежати від особливостей організму та споживаних доз.

Гуарана – це інший популярний інгредієнт у складі ЕН, яка також є стимулюючою речовиною. Гуарана (*Paullinia cupana*) є ліаною, що росте в Амазонці, і відома своїми антиоксидантними властивостями, традиційним використанням в медицині та здатністю стимулювати організм [154, 252]. Головним компонентом гуарани, якому приписують корисні властивості, є кофеїн. Боби гуарани подібні до кавових бобів, однак вони містять приблизно в чотири рази більше кофеїну [163]. Так один грам гуарани

еквівалентний 40 мг кофеїну і це ще більше підвищує вміст кофеїну в енергетичному напої [38].

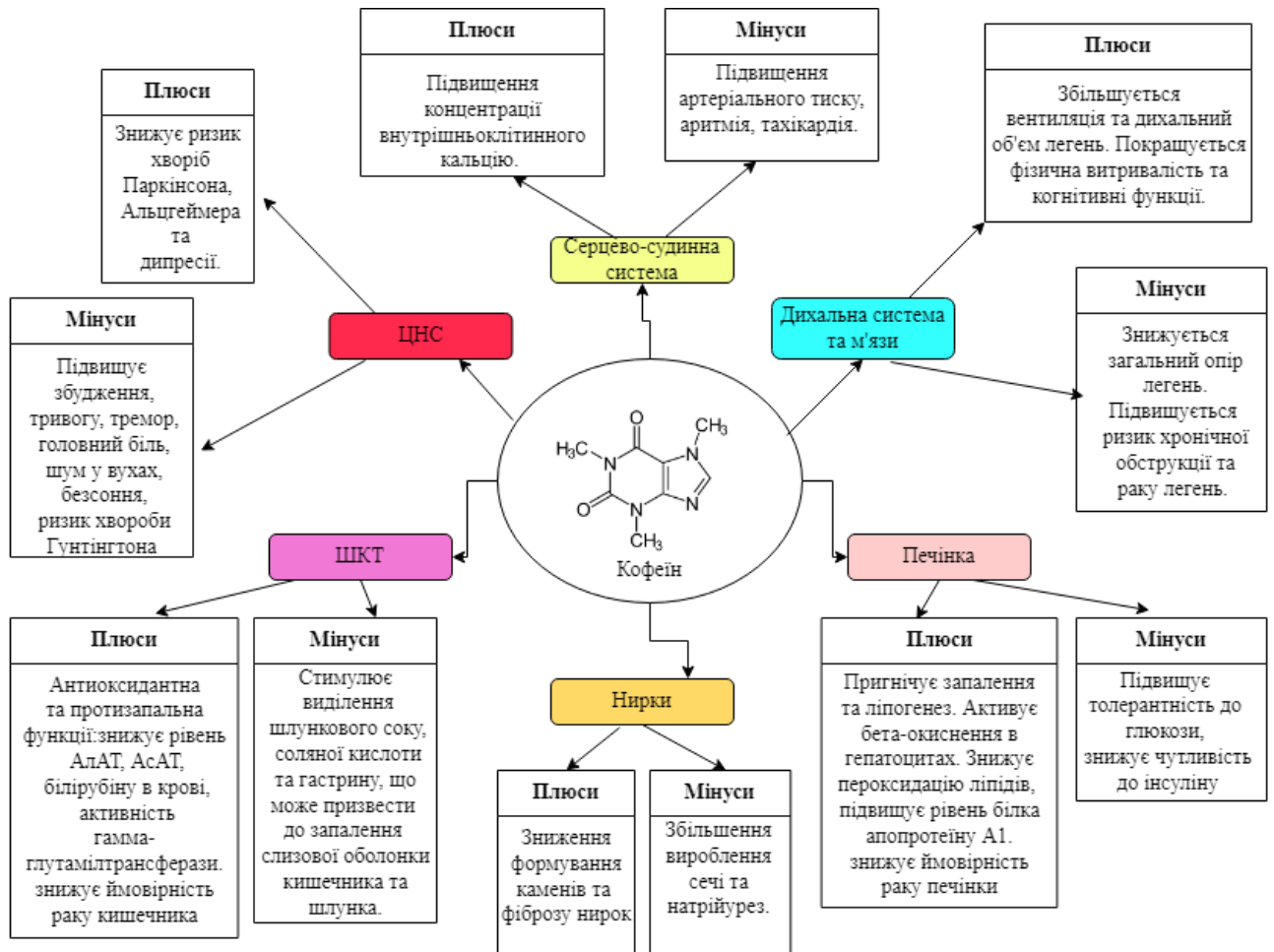


Рисунок 1.1 – Вплив кофеїну на організм людини модифіковано за Rodak K, Kokot I, Kratz EM, 2021 [200].

Залежно від способу приготування екстракту, гуарана може містити у 30 разів більше кофеїну, ніж какао і в 10 разів більше ніж чай з йерба-мате. Тому гуарана містить найвищу природну дозу кофеїну в світі. Деякі автори [144, 163] вказують на те, що гуарана має довготривалий ефект порівняно з кофеїном, який міститься у кавових зернах, завдяки повільному всмоктуванню в шлунково-кишковому тракті. Показано, що низькі дози насіння гуарани мають короткотривалий стимулюючий ефект у поєднанні з кофеїном і глюкозою, проте високі дози не мають тривалого ефекту [165].

Перші наукові дослідження щодо впливу гуарани на здоров'я людини з'явилися в 19 столітті, коли її порошок з насіння використовували для лікування головного болю, діареї та захворювань сечовивідних шляхів [222]. У тому ж столітті, німецький ботанік Теодор фон Марціус виявив і виділив кофеїн зі складу гуарани [163]. Багато досліджень було зосереджено на впливі кофеїну з гуарани на здоров'я, зокрема на його когнітивні та стимулюючі ефекти [220]. Виявлено такі біологічні ефекти гуарани, як покращення пізнавальної функції та антидепресивний ефект. Вона має ряд корисних властивостей, таких як: зниження проявів старіння, полегшення втоми, покращення життєвих сил, витривалості, концентрації та результативності спортсменів, зменшення ревматичних захворювань, запорів та проносу, сприяє схудненню та покращує апетит [238]. А також вона має антиоксидантні, протиракові, протимікробні та антидепресивні ефекти [75]. Гуарану також використовують як діуретик та знеболювальний засіб для лікування мігрені [144].

Дослідження також вказують, що гуарана проявляє гепатопротекторну дію та має профілактичний ефект на руйнування ДНК при ушкодженні печінки тетрахлорметаном (CCl_4) у щурів [130]. Вчені висувають припущення, що висока концентрація кофеїну, який міститься в порошок гуарани, сприяє спаровуванню самців мух в лабораторних умовах [72].

Інші науковці показали, що користь від гуарани для здоров'я людини походить від комплексного синергічного ефекту її різних компонентів, а не лише від самого кофеїну. Гуарана багата на катехіни, які є в зеленому чаї, і має функціональні властивості, що схожі на зелений чай [204].

Останнім часом гуарана привернула увагу фармацевтичної промисловості через її вплив на перебіг різних захворювань, включаючи онкологічні, серцево-судинні та діабет [221]. Відомо, що гуарана використовувалася для боротьби з втомою та депресією, які виникають при лікуванні раку [71].

На рис 1.2 показано ефекти гуарани на організм людини [238].

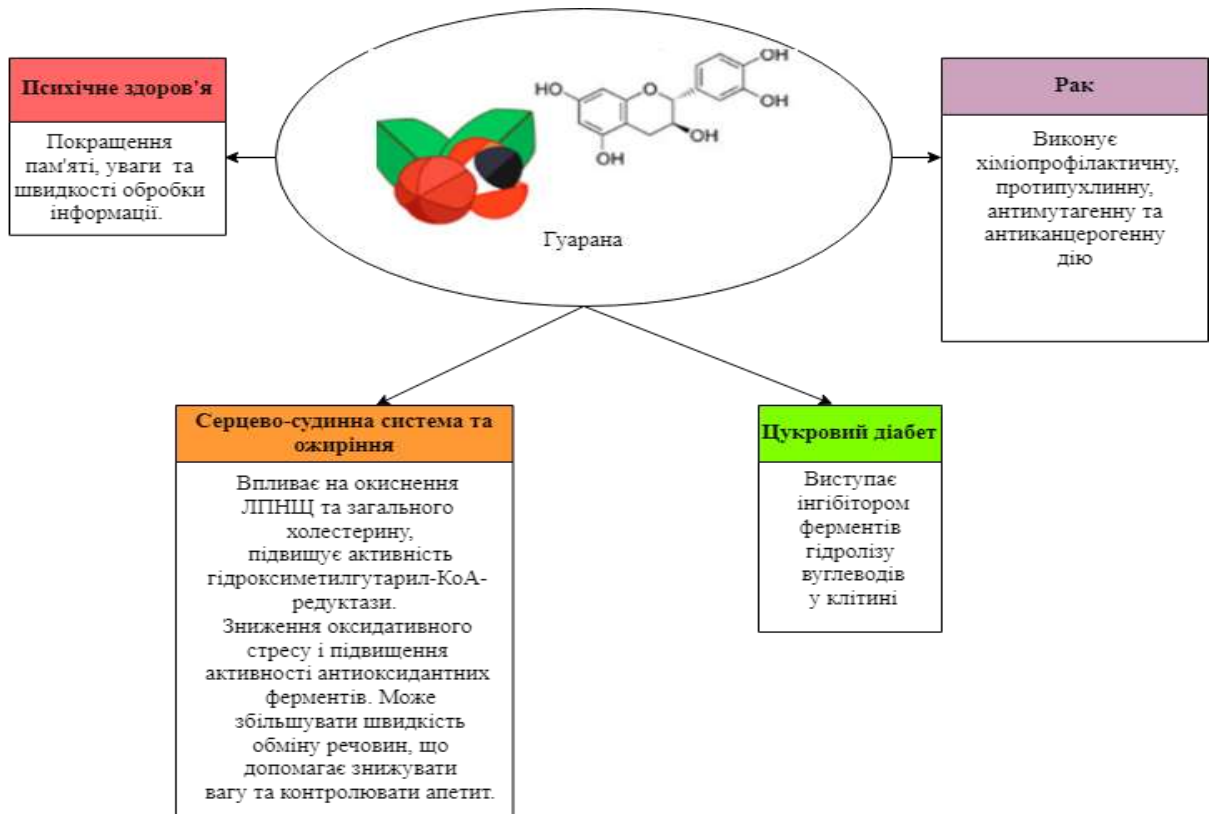


Рисунок 1.2 – Ефекти гуарани на організм людини модифіковано за Torres EAFS, Pinaffi-Langley AC da C, Figueira M de S, Cordeiro KS, Negrão LD, Soares MJ, et al, 2021 [238].

Отже, ЕН, які містять як гуарану, так і кофеїн, можуть мати подвійний стимулюючий ефект. Така комбінація стимуляторів може збільшити негативний вплив прийому енергетичних напоїв на організм людини. Нажаль, виробники багатьох популярних енергетичних напоїв часто додають рослинні продукти, такі як гуарана, незважаючи на відсутність досліджень взаємодії рослинних екстрактів з іншими дієтичними добавками, ліками та стимуляторами.

Таурин – умовно-незамінна непротеїногенна сірковмісна бета-амінокислота, яка не включається в білки під час трансляції. Організм людини може отримувати таурин із зовнішнього середовища, споживаючи м'ясо, морепродукти, молочні продукти та грудне молоко [137]. У дорослих людей, окрім прийому таурину з харчовими джерелами, він також синтезується з цистеїну (який сам є похідним від незамінної амінокислоти

метіоніну), за умови наявності вітаміну В₆. Проте, у немовлят активність синтезу таурину *de novo* дуже низька, тому харчовий прийом таурину є необхідним для нормального розвитку і дуже важливо вигодовувати їх грудним молоком [210].

Таурин, на відміну від кофеїну, виступає як інгібіторний нейромодулятор. Його антиоксидантні та протизапальні властивості свідчать про участь у кількох біологічних процесах, включаючи регулювання серцевого ритму, артеріального тиску, агрегації тромбоцитів, температури тіла, гостроти зору, стану тканин ока, розумової активності, проліферації клітин та регенерації тканин, метаболізму і синтезу жовчних кислот. Таурин також має мембраностабілізуючу дію, знижує рівень глюкози в крові та сприяє виведенню холестерину [56]. У дослідженнях на лабораторних щурах, довгострокове додавання таурину призводило до зниження рівня цукру в крові без будь-яких змін у харчуванні або фізичних навантаженнях [60]. Наукові дослідження свідчать, що таурин сприяє зниженню ваги, сприяє відновленню м'язів і покращує кисневий обмін в організмі. Вживання таурину може сприяти поліпшенню загального стану, зменшенню втоми та стресу, а також полегшенню м'язового болю. Він рекомендується для лікування епілепсії, цистичних фіброзів та діабету через його протизапальні властивості. Також використовується для лікування застійної серцевої недостатності [28, 48, 55, 61, 210].

Одна з основних функцій таурину в енергетиках полягає в його здатності зв'язувати й сприяти виведенню з організму водорозчинних метаболітів, які можуть бути потенційно токсичними [55]. Питання токсичності таурину залишається спірним, але його надмірне вживання в енергетичних напоях в поєднанні з кофеїном загрожує перезбудженню центральної нервової системи, підвищенню інтенсивності метаболізму та зниженню інгібіторних процесів. У разі передозування воно може викликати такі ефекти: болі у животі, загострення виразок, гастрит, аритмія, порушення серцевої активності та алергічні реакції. Таурин особливо небезпечний для

дітей та підлітків, оскільки він може спричинити тауринову токсичну енцефалопатію при дозі 3 г або більше [209].

На рис 1.3 представлено вплив таурину на різні органи і тканини [210].

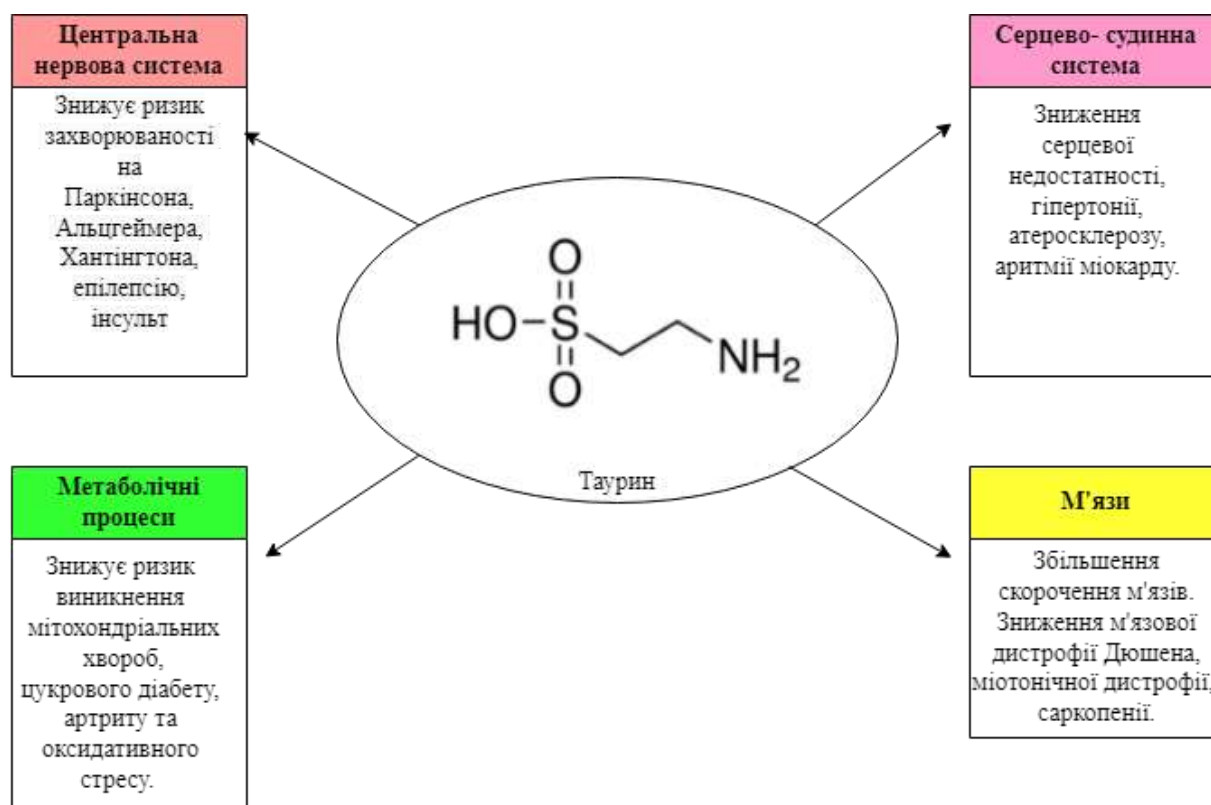


Рисунок 1.3 – Вплив таурину на організм людини модифіковано за Schaffer S, Kim HW, 2018 [210].

Женьшень, відомий як «король усіх трав», має довгу історію використання в традиційній медицині Східної Азії для лікування багатьох хвороб людства. За останні три десятиліття він став однією з найпопулярніших трав у всьому світі [256]. Він використовується в різних галузях, включаючи виробництво енергетичних напоїв, харчових добавок та лікарських препаратів.

Основні біоактивні речовини в женьшені – це гінсенозиди, які є тритерпеновими сапонінами. Однак терапевтичний ефект женьшеню не залежить виключно від гінсенозидів. Недавно було виявлено активний інгредієнт, відомий як гінтонін [64, 139]. Хоча більшість досліджень

женьшеню були спрямовані на гінсенозиди, ці речовини мають різноманітні фармакологічні властивості завдяки своїй стероїдній структурі. Вони можуть взаємодіяти з іонними каналами, мембранами клітин, зовнішніми і внутрішніми рецепторами, що призводить до змін на рівні транскрипції [108, 195]. Гінсенозиди проявляють протизапальну, антиоксидантну, протибактеріальну, противірусну та протигрибкову активність. Вони також мають потенційну терапевтичну ефективність при гіпертонії, стресі та різних неврологічних розладах, таких як хвороба Альцгеймера (ХА), хвороба Паркінсона (ХП) та хвороба Хантінгтона. Останні дослідження також виявили численні молекулярні мішені для женьшеню [65, 128, 129, 140, 215].

Необхідно зазначити, що при великих дозах та тривалому вживанні женьшеню, можуть виникати негативні наслідки. Деякі з них включають ранкову діарею, висипку на шкірі, нервовість, безсоння, гіпертонію, набряк, знижений апетит, депресію та гіпотонію [180]. Випадки з маніакальними епізодами, матковими кровотечами, гінекомастією, продовженням QT-інтервалу, фібриляцією передсердь з брадикардією, гострим гепатитом та іншими печінковими ушкодженнями також пов'язують з вживанням великих доз женьшеню [195].

Однак слід враховувати, що багато з цих небажаних ефектів спостерігаються при великих дозах або при тривалому вживанні женьшеню. На рис. 1.4 представлено ефекти женьшеню на різні органи і системи [234].

ЕН також містять дуже багато підсолоджувачів. Зокрема, **вуглеводи**, які містяться в енергетичних напоях, слугують джерелом швидкої енергії і представлені цукром, зазвичай від 21 г до 34 г на порцію. Наприклад, одна маленька пляшечка Red Bull міститься 27 г цукру, що відповідає приблизно 6,43 чайним ложкам. Вміст цукру переважно представлений у формі сахарози, глюкоуронолактону, глюкози або корн-сиропу з високим вмістом фруктози. Крім того, деякі марки використовують штучні підсолоджувачі. Відомо, що споживання надмірної кількості цукру і штучних підсолоджувачів є причиною багатьох проблем із здоров'ям.

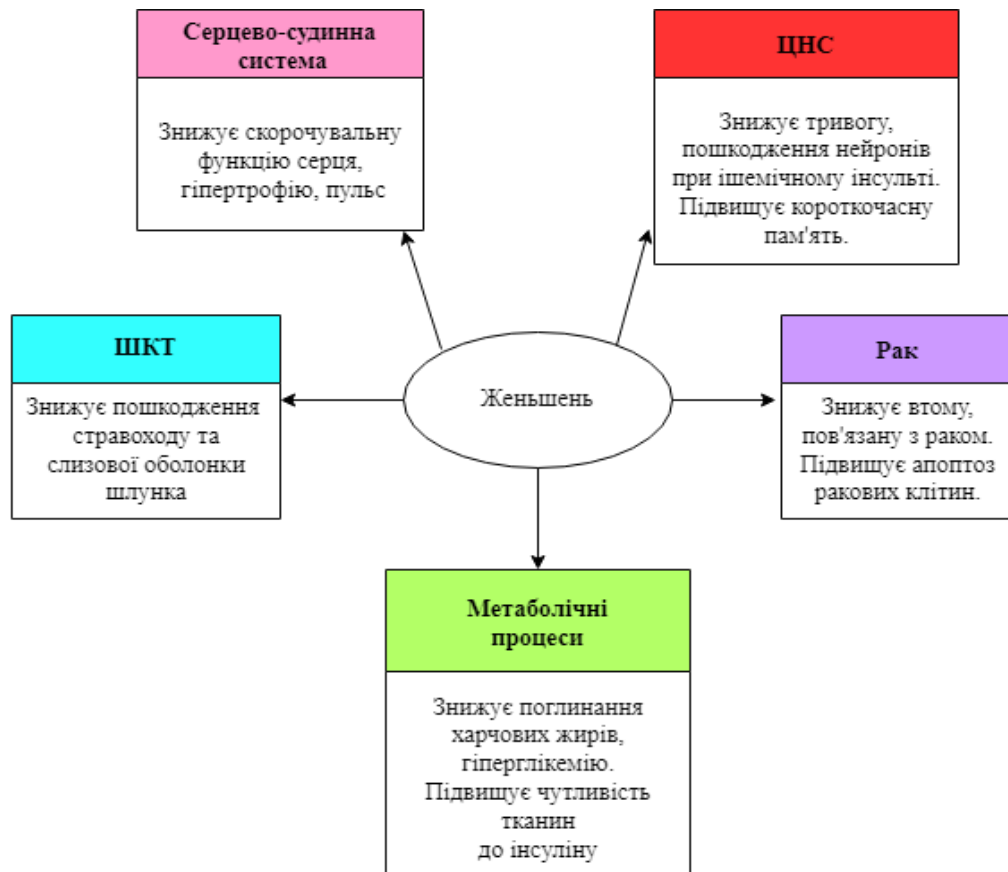


Рисунок 1.4 – Вплив женьшеню на організм людини модифіковано за Szczuka D, Nowak A, Zakłós-Szyda M, Kochan E, Szymańska G, Motyl I, et al, 2019 [234].

Після споживання енергетичних напоїв підвищується рівень цукру в крові, що призводить до виділення інсуліну бета-клітинами острівців Лангерганса підшлункової залози, який регулює рівень глюкози, знижуючи її концентрацію. Це може призводити до почуття втоми і роздратованості. У такий момент виникає бажання випити ще один енергетичний напій через те, що людина бажає відновити енергію за допомогою кофеїну та цукру. Проте варто зазначити, що цей механізм створює замкнене коло, оскільки споживання ЕН знову підвищує рівень цукру в крові та викликає нову відповідь інсуліну. У великих кількостях ЕН можуть викликати резистентність до інсуліну. Дослідження проведене науковцями [46]

показало, що цукор викликає ще більшу залежність, ніж кокаїн і може сприяти розвитку цукрового діабету.

Крім впливу на рівень глюкози в крові, при прийомі енергетичних напоїв спостерігається значне збільшення рівнів тригліцеридів і холестерину в сироватці тварин порівняно з контрольними тваринами [81]. Збільшена гіперглікемія і, внаслідок цього, гіперінсулінемія, що виникають внаслідок комбінації цукру і кофеїну, модифікують обмін ліпідів при споживанні енергетичних напоїв, активуючи гліколітичний шлях та блокуючи ліполіз через інгібіторний вплив інсуліну на гормон-чутливу ліпазу та призводить до збільшення маси тіла і підвищує ризик ожиріння [81]. Високий вміст цукру має негативний вплив на різні метаболічні процеси, пов'язані не тільки з глюкозою, ліпідами, кетоновими тілами але й з білками [49]. Споживання енергетичних напоїв також може сприяти затриманню солі та води в організмі людини і підвищенню артеріального тиску [149].

Крім того, цукор у енергетичних напоях зазвичай представлений **фруктозою**, яка має особливості метаболізму в організмі. Фруктоза метаболізується переважно в печінці та має менший вплив на м'язи та мозок. Також важливо відзначити, що велика кількість фруктози може бути шкідливою для печінки та може сприяти розвитку жирової інфільтрації печінки. Вона також може викликати інсулінорезистентність та впливати на функції підшлункової залози, що регулює рівень цукру в організмі. Крім того, фруктоза може сприяти накопиченню жиру в ділянці живота [90].

Глюкуронолактон синтезується в організмі, а також може потрапляти з їжею та напоями, такими як червоне вино та злакові культури. Ця речовина бере участь у перетворенні глюкози на глюкуронову та аскорбінову кислоти (вітамін С) шляхом утворення молекули УДФ-глюкози, а потім УДФ-глюкуронату. Він не має «енергетичних» властивостей, але саме УДФ-Д-глюкуронат сприяє дезактивації деяких чужорідних речовин та метаболітів лікарських препаратів, утворюючи з ними водорозчинні сполуки та прискорює їх виділення через нирки. Крім того, глюкуронолактон запобігає

виникненню втоми, покращує фізичну витривалість та збільшує загальну продуктивність людини [257].

Що стосується вітамінів, то всі традиційні бренди зазвичай додають їх у енергетики. Вітамінний комплекс (В₁, В₂, В₃, В₅, В₆, В₁₂, С) енергетичних напоїв впливає на розумову та фізичну активність людини [26, 112, 124, 160, 177, 186, 202, 232, 240, 242].

ЕН також містять додаткові компоненти, такі як натуральні або штучні ароматизатори та барвники, які надають напою свій власний смак, аромат та вигляд. Однак, їх вплив на організм також пов'язують з поведінковими проблемами, такими як синдром дефіциту уваги й гіперактивність, онкологічними та іншими захворюваннями.

Отже, принцип дії енергетичних напоїв наступний: речовини в їх складі допомагають організму вивільнити енергію, при цьому не будучи енергетичною сировиною. Як і більшість видів нездорової їжі, один ЕН катастрофічно не вплине на організм людини. Однак регулярне вживання, щоденне чи щотижневе, може мати сумні наслідки: виснаження організму та порушення роботи різних органів і систем, передбачити які, на жаль, неможливо, оскільки це все індивідуально.

Таким чином, хоча споживання енергетичних напоїв може забезпечити тимчасовий енергетичний заряд через вміст цукру та кофеїну, варто бути усвідомленим щодо можливих наслідків високого споживання фруктози та інших компонентів цих напоїв.

1.2 Особливості метаболізму в еритроцитах за умов норми та при патологічних станах

Еритроцити утворюються в кістковому мозку шляхом диференціації гематопоетичних стовбурових клітин. Вони проходять через етапи, починаючи з наявності ядра, але згодом ядро втрачається, ендоплазматична сітка розщеплюється, і утворюються ретикулоцити, які незабаром

перетворюються в зрілі еритроцити. Зовні вони мають форму двостороннього увігнутого диска [179, 223]. Середня тривалість життя цих клітин у людини становить 120 днів, а в щурів – 8 днів [6].

Червоні кров'яні клітини виконують низку важливих фізіологічних функцій, і найважливішою з них є транспорт газів, зокрема кисню з легень до тканин і вуглекислого газу у зворотньому напрямку. Цей процес відіграє ключову роль у забезпеченні організму достатньою кількістю кисню для нормального функціонування, а також виведення вуглекислого газу, що утворюється в результаті обміну речовин [189]. Крім цього, вони відіграють роль системного регулятора кислотно-лужного балансу [134]. Оскільки основна функція еритроцитів полягає у транспорті кисню, вони піддаються оксидативному стресу, особливо через утворення радикалів у реакціях Фентона і Габера-Вейса [70]. Оксидативний стрес є обмежуючим фактором для тривалості їхнього життя, оскільки вони не можуть синтезувати нові білки у кровотоці через відсутність ядер і органел [70]. Тому оксидативні пошкодження, які виникають в еритроцитах, мають критичне значення для їхнього повноцінного функціонування і процесу старіння. Крім того, пряме пошкодження їхньої цілісності, що проявляється у гемолізі, є важливим фактором у розвитку різних патологічних станів.

Метаболізм еритроцитів є складним процесом, який включає гліколіз, або шлях Ембдена-Мейергофа, як основний шлях отримання енергії з глюкози [114]. Глюкоза надходить до еритроцитів за допомогою глюкозного транспортера GLUT1, і цей процес не залежить від інсуліну. Концентрація глюкози всередині еритроцитів прямо залежить від її концентрації у плазмі крові. Утворений АТФ використовується АТФ-азами для перекачування іонів проти градієнтів концентраційних, для фосфорилування мембранних білків і ліпідів і, що дуже важливо, для фосфорилування глюкози з метою отримання додаткового АТФ в гліколітичному шляху [69].

Утворення великих кількостей 2,3-дифосфогліцерату (2,3-ДФГ) в еритроцитах відбувається за допомогою відгалуженого шляху, який

відходить від основного гліколітичного шляху після утворення 1,3-дифосфогліцерату (1,3-ДФГ) та повертається до нього з утворенням 3-фосфогліцерату (3-ФГ). Шлях включає утворення 2,3-ДФГ з 1,3-ДФГ, за яким настає дефосфорилування 2,3-ДФГ до 3-фосфогліцерату (3-ФГ). Обидві реакції каталізуються тим самим ферментом при фізіологічних значеннях рН. При вищому рН фермент діє як мутаза, переміщуючи фосфат з позиції 1 на позицію 2 у молекулі 1,3-ДФГ, а при низькому рН він діє як фосфатаза, перетворюючи 2,3-ДФГ на 3-ФГ (рис. 1.5) [114].

Оскільки 2,3-ДФГ обходить один із етапів утворення АТФ у гліколізі, його утворення здійснюється за рахунок АТФ. Отже, при високих рН може призвести до зменшення утворення АТФ, тоді як низьке значення рН спричиняє збільшення утворення АТФ шляхом розкладу 2,3-ДФГ. Він впливає на стан гемоглобіну, впливаючи на його спорідненість до кисню. 2,3-ДФГ також взаємодіє з мембранними білками і цитоскелетом червоних кров'яних клітин, що може впливати на структуру та функцію мембрани, а також на газообмін [69].

У фізіологічних умовах більшість глюкози метаболізується в еритроцитах за допомогою анаеробного гліколізу. Однак існує ще один важливий метаболічний шлях, відомий як пентозофосфатний шлях (ПФШ). Певна кількість глюкози-6-фосфату (Г-6-Ф), що утворюється під час фосфорилування глюкози у гексокіназній реакції, включається у ПФШ. Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа (Г6ФДГ) каталізує окиснення Г-6-Ф до 6-фосфоглюконолактону, одночасно відновлюючи нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат (НАДФ) до НАДФН₂, який підтримує глутатіон у відновленій формі. Глутатіон є важливим для знешкодження перекису водню, захисту SH-груп білків, протидії перекисному окисленню ліпідів, білків та забезпечує процеси детоксикації.

ПФШ також відіграє важливу роль для еритроцитів, утворюючи рибозо-5-фосфат, необхідний для утворення фосфорибозилпірофосфату –

важливого субстрату для синтезу аденінових нуклеотидів, необхідних для синтезу АТФ (рис. 1.5) [69].

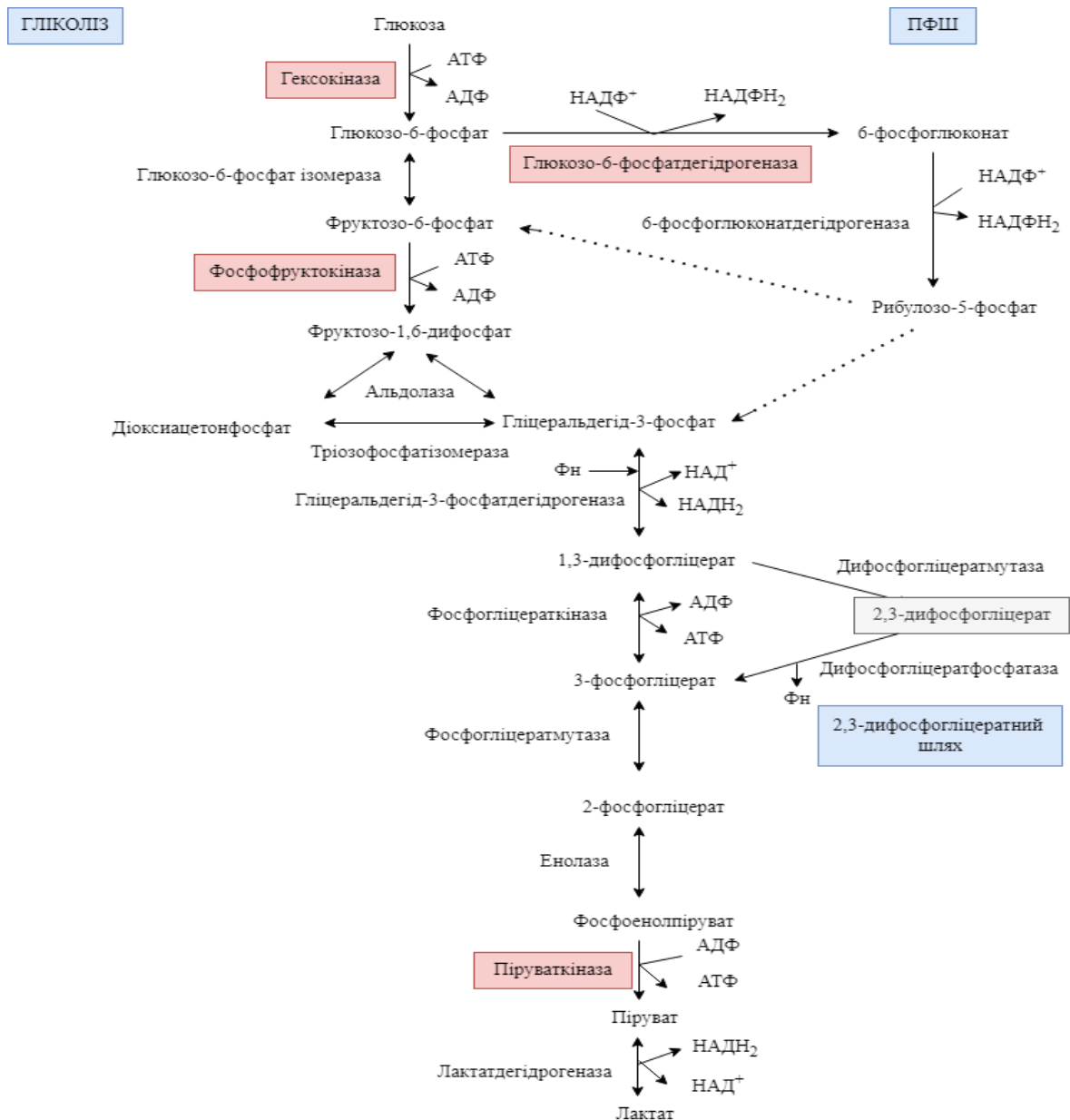


Рисунок 1.5 – Схема поєднання гліколізу, ПФШ і 2,3-ДФГ-шляху модифіковано за D'Alessandro A, Anastasiadi AT, Tzounakas VL, Nemkov T, Reisz JA, Kriebardis AG, et al, 2023 [69].

Недостатність Г6ФДГ ніколи не буває повною, оскільки це призвело б до летального результату. Тому в більшості випадків, у фізіологічному стані, наслідки недостатності Г6ФДГ не помітні. Синтез НАДФН₂ є достатнім, щоб

підтримувати життєздатність еритроцитів з незначним скороченням тривалості їх життя. Однак, якщо на клітини діє зовнішній окислювальний стрес, ГбФДГ – дефіцитні еритроцити не здатні підвищити вироблення НАДФН₂ так, як це відбувається за умов норми. У результаті відбувається швидке спустошення відновленого глутатіону, порушення структури гемоглобіну та інших білків, і, врешті-решт, еритроцит стає жертвою макрофагів або повністю гемолізується [145].

Еритроцити одні з перших клітин, які реагують на гіперглікемію. При підвищених концентраціях глюкози в еритроцитах кисень реагує з іонами заліза, що призводить до утворення реактивних форм кисню. Хоча в еритроцитах є системи антиоксидантного захисту та гліоксалази, але виникає велика ймовірність розвитку оксидативного і карбонільного стресу, які взаємопосилуються. Наприклад, унаслідок неензимативної глікації супероксиддисмутази, вона стає неактивною; гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогеназа, після окиснення або нітрозилування SH-груп у її активному центрі, втрачає здатність зв'язувати субстрат [133]. Інгібування даного ензиму може порушити енергетичне забезпечення клітини, що особливо критично для еритроцитів, оскільки гліколіз є єдиним джерелом енергії для них. Таким чином, модифікація та інгібування гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогенази значно сприяють карбонільному стресу в еритроцитах [133].

Ензим тріозофосфатізомераза каталізує перетворення дигідроксиацетонфосфату (ДАОФ) в гліцеральдегід-3-фосфат (Г-3-Ф). Відсутність даного ензиму або зниження його активності призводить до накопичення ДАОФ, який може виступати як глікаційний агент [241]. Недостатність даного ензиму є аутосомно-рецесивним захворюванням і найважчою формою гліколітичних ензимопатій. Характеризується гемолітичною анемією, нейрологічними порушеннями, інфекціями та ослабленням м'язів, що може впливати на дихальну систему та роботу серця.

Недостатність піруваткінази є найпоширенішим вродженим дефектом ензиму гліколізу та однією з найбільш поширених причин спадкової

гемолітичної анемії [82]. Еритроцити, не маючи ядра та органел, майже повністю залежать від гліколізу для вироблення енергії. Завдяки обмеженню швидкості одного з двох етапів утворення АТФ в гліколізі, піруваткіназа радикально змінює функцію, метаболізм і тривалість життя еритроцитів [203]. Зокрема, піруваткіназа каталізує утворення АТФ шляхом перетворення фосфоенолпірувату в піруват, що становить 50% всього АТФ, що утворюється в еритроцитах [97]. У пацієнтів з дефіцитом піруваткінази спостерігається зниження рівня АТФ, що впливає на процеси, необхідні для нормального функціонування клітини, такі як підтримання іонних насосів, збереження гомеостазу мембрани та синтез глутатіону [70]. Зниження рівня АТФ призводить до сповільнення роботи натрій-калієвих насосів та виходу калію з клітини. З іншого боку, підвищення активності піруваткінази в контексті гемоглобінопатій, які впливають на редокс- та енергетичний метаболізм еритроцитів (наприклад, Вітіліго), може бути запропоновано як потенційна стратегія для запобігання втрати життєздатності еритроцитів та непередчасного видалення їх з кровотоку [193].

Лактатдегідрогеназа (ЛДГ) ЕС 1.1.1.27 – важливий цинкзалежний ензим, який належить до класу оксидоредуктаз. Основним завданням цього ензиму є участь в анаеробному метаболізмі глюкози, підтримці балансу НАД/НАДН та біоенергетичних потреб клітини в умовах обмеженого доступу кисню або його відсутності. В еритроцитах піруват не піддається подальшому метаболізму через відсутність мітохондрій, а лишається у цитоплазмі, де перетворюється у лактат. У цій реакції НАДН₂ окислюється до НАД⁺. Наявність високих внутрішньоклітинних концентрацій НАД⁺ є необхідним для проведення підготовчої фази гліколізу [27].

Лактат – важливий метаболіт, що утворюється в результаті анаеробного розпаду глюкози та вивільняється в кров при гіпоксії або фізичних вправах, і було показано, що він справляє гемореологічні ефекти [52]. Якщо еритроцити в умовах *in vitro* піддаються високій концентрації лактату, це призводить до зниження їх здатності до деформації. В умовах *in vivo*

жорсткість еритроцитів під час м'язових вправ виявляється лише тоді, коли концентрація циркулюючого лактату зростає понад 4 ммоль/л, що відповідає рівню початкового ацидозу [52].

Щодо обміну ліпідів, то відомо, що еритроцити не здатні синтезувати фосфоліпиди *de novo*, оскільки вони не мають апарату Гольджі та ендоплазматичного ретикулулу [254]. Замість цього, вони використовують цикл Ланда для відновлення окислених мембран. Цей процес активується за фізіологічних умов, наприклад під час фізичного навантаження [173, 207], а також при патологічних станах, які збільшують схильність до осмотичного стресу [33, 111]. Сформульована [33, 111, 173, 207] концепція, що будь-які стресові стани, які спричиняють гостре або хронічне збільшення утворення еритроцитів *de novo*, впливають на сигнальні шляхи, що регулюють проліферацію та диференціацію еритроїдних клітин-попередників. Дані процеси можуть бути залежними від різних факторів, включаючи гормони, цитокіни та інші сигнальні молекули, які модулюють діяльність прекурсорних клітин. Новоутворені еритроцити, які формуються внаслідок стресового еритропоезу, можуть відрізнитися за своїми властивостями від еритроцитів, що циркулюють за нормальних умов. Знання механізмів стресового еритропоезу та властивостей цих новоутворених еритроцитів має велике значення для розуміння процесів адаптації організму до стресових умов, зокрема у хворих з хронічними гемолітичними станами [51].

Метаболізм білків у клітинах з ядром, зазвичай, відбувається протягом декількох годин до кількох днів, що є значно коротшим періодом, ніж кілька місяців, протягом яких ті самі білки залишаються функціональними в еритроцитах.

Питання функціонування еритроцитів у кровообігу за умов стресу, незважаючи на природу стресових чинників, залишається недостатньо вивченим і зрозумілим явищем [123].

1.3 Роль макро- та мікроелементів у метаболічних процесах в еритроцитах

Макро- та мікроелементи впливають на різні аспекти метаболізму еритроцитів, включаючи структуру мембран, регуляцію обміну іонів та функцію ензимів. Вони є важливими для забезпечення нормальної функції еритроцитів і їх відповідності фізіологічним вимогам [260].

Калій (K) є важливим макроелементом, який відіграє ключову роль у підтримці внутрішньоклітинного осмотичного тиску і збалансованості електролітів у еритроцитах. Він впливає на обмін іонів та регулює функцію мембран еритроцитів [198].

Натрій (Na) також відіграє важливу роль у функціонуванні еритроцитів. Основним механізмом, що забезпечує нормальний рівень натрію у внутрішньому середовищі еритроцитів, є активність натрій-калієвої помпи, яка регулює розподіл іонів натрію (Na^+) і калію (K^+) крізь клітинну мембрану. Натрій допомагає підтримувати внутрішній осмотичний баланс у еритроцитах шляхом контролю рівня внутрішньоклітинного натрію, що дозволяє еритроцитам зберігати свою форму і стабільність. Він регулює рН еритроцитів, створюючи оптимальне середовище для нормального функціонування ензимів і біохімічних процесів. Натрій приймає участь у формуванні мембранного потенціалу еритроцитів, що впливає на їх електричну активність і здатність змінювати свою форму. Крім того, натрій співпрацює з іншими іонами, такими як калій і хлориди, для забезпечення нормального транспорту кисню еритроцитами [251, 166]. Збалансований рівень натрію є важливим для нормального функціонування еритроцитів і підтримки гематологічного балансу в організмі.

Кальцій (Ca) активує ензим кальпаїн, кальційзалежну протеазу, яка контролює процеси клітинного циклу, включаючи реплікацію ДНК. Активує кальційзалежні фосфоліпази, які розщеплюють фосфоліпіди у мембрані еритроцитів, що регулює склад та функціональні властивості мембрани,

включаючи рухливість, проникність та структуру [187]. Кальцій впливає на активність ензимів протеїнази та фосфатази, що контролюють функціонування еритроцитів, включаючи в'язкість, агрегацію, деформацію та електролітний баланс [53]. Кальцій є ключовим фактором у збуджувальних процесах, відповідаючи за контроль руху іонів через мембрани. Зокрема, впливає на активність Na^+/K^+ -АТФ-ази, регулюючи обмін натрію та калію між еритроцитом та оточуючим середовищем [36]. Кальцій зв'язується з білками, такими як спектрин, які забезпечують структурну цілісність еритроцитів, що допомагає підтримувати стійкість мембрани та запобігає її руйнуванню або деформації [258]. Поряд із тим, він впливає на гемоліз еритроцитів. Зокрема, висока концентрація кальцію сприяє пошкодженню мембрани і спричиняє гемоліз, тоді як низька – захищає еритроцити від гемолізу [58].

Магній (Mg) виступає активатором багатьох ензимів, які відповідають за фосфорилування та дефосфорилування різних молекул у еритроцитах. Наприклад, активує аденілатциклазу, яка каталізує утворення циклічного 3',5'-аденозинмонофосфату (цАМФ), важливого внутрішньоклітинного месенджера [196]. Впливає на активність кальцієвих каналів та транспортерів, що регулюють проникнення та виведення кальцію з клітини, що важливо для підтримання оптимального рівня кальцію у внутрішньоклітинному середовищі еритроцитів [136]. Магній є необхідним для фосфорилування АТФ, впливає на активність ензимів, які забезпечують синтез та розпад АТФ у еритроцитах. Це важливо для підтримки енергетичного метаболізму та нормальної функції клітин [104, 227]. Він також регулює активність ензимів, які беруть участь у окисно-відновних процесах в еритроцитах, таких як глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа та глутатіонпероксидаза. Mg допомагає регулювати рівновагу між окисненими та відновленими формами сполук, що є важливим для підтримки клітинного гомеостазу та захисту від окислювального стресу [164]. Його концентрація у

червоних кров'яних клітинах знижується по мірі старіння клітин, незважаючи на внутрішній напрямок магнієвого електрохімічного градієнту.

Цинк (Zn) є активатором еритропоєтину, гормону, який стимулює утворення еритроцитів, та сприяє зростанню їх кількості в організмі [62]. Він є необхідним для функціонування таких ензимів, як ДНК-полімераза та РНК-лігаза, які забезпечують нормальний обмін нуклеїнових кислот у клітинах – попередниках еритроцитів [77]. Цинк також впливає на стійкість мембран еритроцитів і забезпечує їх нормальну функцію, входить до складу ряду антиоксидантних ензимів, таких як супероксиддисмутаза (SOD) та металотіонеїн, які захищають еритроцити від пошкоджень [227, 255].

Ферум (Fe) має вплив на регуляцію генетичної експресії в еритроцитах. Зокрема, взаємодіє з факторами транскрипції, такими як гепатичний ядерний фактор-1 (HNF-1) і еритроїдний Крюппелеподібний фактор (Erythroid Kruppel-like Factor, EKLF), що регулюють синтез гемоглобіну та інші важливі компоненти еритроцитів [91, 246] і відповідає за перенесення кисню з легенів до тканин організму [167]. Залізо може піддаватися окисненню до Fe^{3+} , але при цьому утворюються активні форми кисню, які сприяють окислювальному стресу [156]. Однак, в еритроцитах є системи захисту, які регулюють оксидативний стан і забезпечують збереження функціональної активності. Це антиоксиданти, такі як: вітамін С та ензими. Один з таких механізмів полягає в активності ензиму глутатіонредуктази, який використовує глутатіон для відновлення окисленого заліза, що забезпечує належний стан еритроцитів і допомагає зберегти їх функціональну активність. Каталаза та супероксиддисмутаза, зокрема, нейтралізують вільні радикали та запобігають пошкодженням клітинних компонентів [78, 92, 157, 227]. Таким чином, залізо в еритроцитах виконує різноманітні функції, включаючи транспорт та зберігання кисню, регуляцію оксидативного стану, захист від окислювального стресу та регуляцію генетичної експресії. Його належний рівень та метаболічна активність є важливими для забезпечення нормальної функції еритроцитів і здоров'я організму.

Купрум (Cu) забезпечує необхідні біохімічні процеси, що відбуваються в еритроцитах. В організмі мідь переважно знаходиться у формі Cu^{2+} , хоча також може бути присутня у формі Cu^{1+} [67, 227]. Вона виконує схожі функції, що й залізо, які сприяють нормальному функціонуванню еритроцитів [237]. Одна з головних ролей міді в еритроцитах полягає в її впливі на синтез гемоглобіну, вона входить до складу ензимів, що беруть участь у цьому процесі, і допомагає забезпечити належну кількість та якість еритроцитів [113]. Крім того, мідь взаємодіє з іншими мікроелементами, зокрема залізом та цинком, і впливає на їхню рівновагу в еритроцитах [159]. Також мідь має вплив на регуляцію оксидативного стану еритроцитів, є складовою частиною антиоксидантних ензимів, таких як супероксиддисмутаза і каталаза, які захищають еритроцити від ушкоджень, спричинених вільними радикалами та окислювальним стресом [141]. Мідь допомагає підтримувати баланс між окислювальними та антиоксидантними процесами в еритроцитах, що сприяє їхній нормальній функції та стійкості [158]. Отже, мідь виконує важливі ролі у метаболізмі еритроцитів, забезпечуючи належний синтез гемоглобіну, підтримуючи баланс заліза та цинку, а також регулюючи оксидативний стан.

Селен (Se) в еритроцитах знаходиться переважно у вигляді селенопротеїнів, які включають глутатіонпероксидазу (GPx) та транселеназу [243]. GPx є одним з основних антиоксидантних ензимів, що захищають еритроцити від пошкодження, спричиненого вільними радикалами. Транселеназа – селенопротеїн, яка присутня в еритроцитах, приймає участь у обміні амінокислот, зокрема метіоніну, та допомагає зберігати оптимальні рівні селену, що є важливим для забезпечення функціонування еритроцитів. Селен впливає на мембранні властивості еритроцитів, змінюючи їх структуру та функцію, шляхом взаємодії з фосфоліпідами, що впливає на проникність мембрани, її гнучкість та здатність до взаємодії з іншими клітинами [86, 227].

Манган (Mn) є необхідним каталізатором у процесі синтезу гемоглобіну [105], також бере участь у регуляції оксидативного стану еритроцитів. Він є

складовою частиною антиоксидантних систем, зокрема супероксиддисмутази, що захищають еритроцити від ушкоджень, спричинених вільними радикалами та окислювальним стресом [151, 227]. Марганець може модифікувати фосфоліпідний склад мембран, змінюючи співвідношення між різними типами фосфоліпідів, їх розміщення та організацію у мембрані. Це може мати вплив на активність мембранних ензимів, регулювати проникність мембрани для іонів та інших молекул, а також впливати на зв'язування та транспорт різних речовин, таких як кисень, іони та інші метаболіти. Він також може взаємодіяти з білками, що знаходяться на поверхні мембрани еритроцитів, зокрема з транспортерами марганцю (наприклад, DMT1) і трансфериновим рецептором. Ця взаємодія може регулювати проникнення марганцю у еритроцити і його розподіл усередині них [44].

Кобальт (Co) є необхідним кофактором для ензиму, що забезпечує синтез вітаміну B₁₂ (кобаламіну), і допомагає забезпечити його відповідну біологічну активність. Він є необхідним для нормального росту, дозрівання та функціонування еритроцитів [41, 68, 142].

Макро- та мікроелементи в еритроцитах взаємодіють та регулюють різні метаболічні шляхи, що забезпечують належну функцію та оптимальний обмін речовин. Вони сприяють синтезу та стабільності гемоглобіну, впливають на осмотичний тиск та електрофізіологічні властивості еритроцитів. Крім того, вони регулюють транспорт кисню, зв'язування та вивільнення іонів, та підтримують стабільність мембран. Загалом, ці елементи відіграють важливу роль у забезпеченні ефективного метаболізму та нормального функціонування еритроцитів.

Таким чином, підводячи підсумок огляду літератури слід відмітити, що ЕН набувають все більшої популярності в усьому світі, зокрема серед молоді. Багатьма дослідниками вивчено і показано, що надмірне вживання цих напоїв викликає порушення практично у всіх органах і системах, зокрема в роботі серцево-судинної, м'язової, нервової та статевої систем, а також з

боку роботи ШКТ, печінки, нирок і ін. Поряд з цим, у науковій літературі зустрічаються поодинокі дані стосовно впливу ЕН на еритроцити, які одними з перших реагують на різноманітні впливи.

Саме тому, вивчення впливу ЕН на метаболічні процеси в еритроцитах експериментальних тварин залишається актуальним. Подальші дослідження, можуть бути корисними для розуміння повного спектру ефектів споживання енергетичних напоїв на організм людини. Проведений аналіз літературних джерел спонукав нас обрати для дослідження ЕН «Burn».

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Дизайн дослідження

Під час виконання дисертаційної роботи нами було проведено експериментальні дослідження на білих щурах лінії Вістар масою 150-220 г, які перебували в умовах віварію ІФНМУ. Під час проведення біохімічних досліджень було дотримано відповідних етичних і законодавчих норм та вимог щодо утримання тварин, їх харчування та проведення маніпуляцій: Європейської конвенції про гуманне ставлення до лабораторних тварин (Страсбург, 18.03.1986) [106]; «Про заходи щодо подальшого вдосконалення організації форм роботи з використанням експериментальних тварин» та положення «Загальних принципів експериментів на тваринах», ухваленого Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001 р.); згідно з Законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» 2010 р. [4].

Тварини перебували в клітках по 5 особин за відповідних умов освітлення, температурного режиму та стандартного раціону харчування, при вільному доступі до води та їжі. Протягом експерименту у віварії дотримувалася постійна температура, а за тваринами забезпечували належний догляд. Усі дослідження проводилися у проміжку від 10⁰⁰ до 12⁰⁰ години, щоб уникнути впливу добових ритмів фізіологічних і біохімічних процесів на результати експерименту. Щурів, у кількості 84 тварини, було поділено на 5 груп:

- **Інтакtnий контроль** (28 тварин) – практично здорові щури, які знаходились на стандартному раціоні віварію і вживали тільки питну воду.
- **I групу** (14 тварин) – щури, які отримували енергетик упродовж 30 діб експерименту і забір матеріалу проведено на 1-у добу по завершенню прийому енергетичного напою;

- **II групу** (14 тварин) – щури, які отримували енергетик упродовж 30 діб експерименту і забір матеріалу проведено на 10-у добу по завершенню прийому енергетичного напою;
- **III групу** (14 тварин) – щури, які отримували енергетик упродовж 30 діб експерименту і забір матеріалу проведено на 20-у добу по завершенню прийому енергетичного напою;
- **IV групу** (14 тварин) – щури, які отримували енергетик упродовж 30 діб експерименту і забір матеріалу проведено на 30-у добу по завершенню прийому енергетичного напою;

Введення безалкогольного енергетичного напою “Burn” в організм здійснювався щодобово (per os) упродовж 30 діб з використанням поїлок. Тварини знаходилися в індивідуальних клітках на час споживання енергетичного напою. Розрахунок необхідної кількості напою для введення на одного щура проводили, виходячи з перерахунку на 1 кг маси тіла з врахуванням коефіцієнту видової специфічності для щурів. Тварин зважували перед початком експерименту та кожного тижня на кожному із його етапів.

Забір матеріалу (кров) проводили в умовах наркозу (внутрішньом’язево тіопентал натрію, 60 мг/кг) шляхом декапітації на 1-у, 10-у, 20-у, 30-у доби по завершенню експерименту. Для проведення досліджень використовували еритроцити, які відділяли від плазми шляхом центрифугування при 3500 об/хв упродовж 10 хв. Для дослідження готували 1% гемолізат, додаючи до 0,1 мл еритроцитарної маси 4 мл дистильованої води і через 2-3 хв 5 мл фосфатного буферу 1/15М (рН 6,7-6,8), об’єм рідини доводили до 10 мл дистильованою водою [79].

Експериментальну частину роботи виконано на базі «Центру Біоелементології» Івано-Франківського національного медичного університету МОЗ України (атестат акредитації – № 037/19 від 13.06.2019 р.).

2.2 Гематологічні методи дослідження

Визначення основних гематологічних показників проводили за допомогою автоматичного гематологічного аналізатора (Orphée Mythic 18, Швейцарія). Зразки крові вносили до пробірок (Terumo Europe NV, Бельгія), які містили антикоагулянт ЕДТА-К2. Не пізніше, ніж через 2 год після забору крові проводили такі гематологічні дослідження:

- визначення кількості еритроцитів $\times 10^{12}/\text{л}$;
- концентрацію гемоглобіну, г/л;
- середній вміст гемоглобіну в еритроциті, пг;
- середній об'єм еритроциту, фл;
- показник гематокриту, %;
- середню концентрацію гемоглобіну в еритроциті, г/л;
- визначення кількості лейкоцитів $\times 10^9/\text{л}$;
- визначення кількості лімфоцитів $\times 10^9/\text{л}$;
- визначення кількості моноцитів, еозинофілів, базофілів $\times 10^9/\text{л}$;
- визначення кількості гранулоцитів $\times 10^9/\text{л}$;
- визначення кольорового показника за формулою 2.1:

$$\text{КП} = \frac{3 \cdot \text{концентрація гемоглобіну}}{\text{кількість еритроцитів}} \cdot 100; \quad (2.1)$$

- визначення кисневої ємності крові проводили за методом, описаним Лауером [79].

В основі визначення *еритроцитарного індексу інтоксикації* лежить уявлення про еритроцит, як сорбент, тобто здатність еритроцитарної мембрани поглинати та пропускати забарвлені речовини [10].

Кількість поглинутого барвника (у %) вираховували за формулою 2.2:

$$A = 100 - \frac{C \cdot 100}{B}, \quad (2.2)$$

де А – кількість поглинутого барвника у %;

В – оптична щільність вихідного розчину метиленової синьки;

C – оптична щільність розчину барвника після інкубації з еритроцитарною масою;

100 – відсоток щільності мембрани в нормі.

Концентрацію *молекул середньої маси (МСМ)* в гемолізаті визначали із використанням скринінг-методу в модифікації Габрієляна НІ, який базується на осадженні грубодисперсних білків під впливом трихлороцтової кислоти, а потім проводилася їх фотометрія при визначені довжини хвиль 254 нм та 280 нм [12].

За допомогою визначення *кислотної резистентності еритроцитів* кінетичним методом оцінювали функційний стан плазматичних мембран еритроцитів. Суть методу полягає у визначенні динаміки клітин, які гемолізуються під впливом слабкої кислоти протягом певного часового інтервалу. Різницю між E_{630} на мінімумі ΔE і E_{630} після закінчення гемолізу приймали за 100 % гемолізованих еритроцитів. Відсотковий розподіл еритроцитів за стійкістю зображали у вигляді еритрограми – кривої залежності (%) гемолізованих еритроцитів від часу гемолізу [14].

Визначення *лігандних форм гемоглобіну*, зокрема вмісту *сульфгемоглобіну* (C_{SHb}), *метгемоглобіну* (C_{MetHb}), *оксигемоглобіну* (C_{HbO_2}) та *карбоксигемоглобіну* (C_{HbCO}) проводили за методиками, описаними Сухомлиновим БФ і співавт. відповідно до максимальних значень поглинання кожної форми ліганду і відповідних спектрофотометричних рівнянь. 2.3, 2.4, 2.5 та 2.6 наведених нижче [79]:

$$C_{SHb} = \frac{(D_3 - D_4) - 0,14 \cdot C_{HbO_2} - 0,43 \cdot C_{MetHb}}{6,25}, \text{ мекв/л} \quad (2.3)$$

$$C_{MetHb} = \frac{D_1 - D_2}{3,6}, \text{ мекв/л} \quad (2.4)$$

$$C_{HbO_2} = \frac{D_5}{11} - C_{MetHb}, \text{ мекв/л} \quad (2.5)$$

$$C_{HbCO} = \frac{D_1 - D_2 \times 0,719}{4,8}, \text{ мекв/л} \quad (2.6)$$

Для перерахунку концентрації у г/л в цільній крові використовували коефіцієнт 1,61. Перерахунок здійснювали за формулами 2.7, 2.8, 2.9 та 2.10:

$$C_{\text{SHb}} (\text{г/л}) = C_{\text{SHb}} (\text{мекв/л}) \times 1,61 \times 1000; \quad (2.7)$$

$$C_{\text{MetHb}} (\text{г/л}) = C_{\text{MetHb}} (\text{мекв/л}) \times 1,61 \times 1000; \quad (2.8)$$

$$C_{\text{HbO}_2} (\text{г/л}) = C_{\text{HbO}_2} (\text{мекв/л}) \times 1,61 \times 1000; \quad (2.9)$$

$$C_{\text{HbCO}} (\text{г/л}) = C_{\text{HbCO}} (\text{мекв/л}) \times 1,61 \times 1000. \quad (2.10)$$

Вміст *глікозильованого гемоглобіну (Hb_{A1c})* в гемолізаті крові щурів визначали за концентрацією 1-дезоксигуцерику (1(N-валіл)-фруктози з використанням стандартного набору «Реагент» (Дніпропетровськ, Україна), який виступає маркером вуглеводного обміну. Його концентрацію розраховували за формулою 2.11:

$$C_{\text{GHb}} = C_{\text{фру}} / C_{\text{Hb}}, \quad (2.11)$$

де C_{GHb} – концентрація *глікозильованого гемоглобіну*, ммоль фру/г гемоглобіну.

Вміст *фруктози* досліджували за допомогою тест-наборів – Філісіт-Діагностика, (Україна):

Результативну екстинцію дослідної проби фруктози розраховували за формулою 2.12:

$$E_{\text{д-фру}} = E_{\text{д}} - (E_{\text{x1}} + E_{\text{x2}}) \quad (2.12)$$

Результативну екстинцію калібрувальної проби фруктози розраховували за формулою 2.13:

$$E_{\text{к-фру}} = E_{\text{к}} - E_{\text{x2}} \quad (2.13)$$

Концентрацію фруктози у дослідній пробі розраховували за формулою 2.14:

$$C_{\text{фру}} = (E_{\text{д-фру}} / E_{\text{к-фру}}) \cdot 250, \quad (2.14)$$

де $C_{\text{фру}}$ – вміст фруктози у дослідній пробі, ммоль/л;

250 – вміст фруктози у калібрувальній пробі, ммоль/л;

$E_{\text{д}}$ – екстинція дослідної проби;

$E_{\text{к}}$ – екстинція калібрувальної проби;

$E_{\text{x1}}, E_{\text{x2}}$ – екстинції холостої проби №1, №2;

$E_{д-фру}$ – результативна екстинція дослідної проби;

$E_{к-фру}$ – результативна екстинція калібрувальної проби.

2.3 Біохімічні методи дослідження

2.3.1 Методики визначення антиоксидантного захисту еритроцита

Ензим *Глутатіон-S-трансфераза (Г-S-T)* [КФ 2.5.1.18] складається з мультифункціональних білків, які використовують відновлений глутатіон для захисту організму від оксидативного стресу шляхом відновлення гідропероксидів жирних кислот і нуклеотидів. Принцип методу базується на визначенні активності ензиму за зміною концентрації комплексу 1-хлоро-2,4-динітробензену (ХДНБ) з глутатіоном [132]. Активність Г-S-T розраховали за формулою 2.15:

$$A = (\Delta E \cdot V_{пр} \cdot 1000) / (e \cdot l \cdot n_{преп} \cdot a), \quad (2.15)$$

де A – специфічна активність, нмоль/хв мг білка;

ΔE – зміна оптичної густини за 1 хв.;

1000 – коефіцієнт переводу мкмолей в нмолі;

$V_{пр}$ – об'єм проби, в якій визначається швидкість реакції, в мл;

e – коефіцієнт молярного поглинання, $M^{-1}cm^{-1}$;

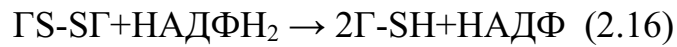
l – довжина оптичного шляху променя світла;

$n_{преп}$ – об'єм препарату (в мл), який додається в пробу;

a – концентрація білка в препараті, мг/мл.

Визначення активності *глутатіонпероксидази (ГП)* [КФ 1.11.1.9] з'ясовували за швидкістю в інкубаційній пробі зменшення вмісту НАДФН. Одиницею активності вважали кількість ензиму, необхідну для відновлення 1 мікромоль ГП за 1 хвилину. При розрахунках використовували коефіцієнт молярної екстинкції для НАДФН, що складав 6,22. Визначали екстинцію окисненого глутатіону при $\lambda=260$ нм та виражали активність ензиму в мкмоль окисненого глутатіону за 1 хв на мг білка [2].

Визначення активності *глутатіонредуктази* (ГР) [КФ 1.8.1.7] в гемолізаті базувалася на тому, що ензим каталізує процес відновлення окисненого глутатіону, схема 2.16 [2]:



У досліджуваній пробі визначали вміст НАДФН₂ за формулою 2.17:

$$A = 3\Delta E \cdot 1000 / 6,22 \cdot a, \quad (2.17)$$

де ΔE – екстинція фотометра;

a – рівень білка досліджуваної проби;

1000 – коефіцієнт переводу мкмоль в нмоль.

Активність ГР визначали в нмоль/хв×мг білка.

Принцип методу визначення активності *супероксиддисмутази* (СОД) [КФ 1.15.1.1]. Відновлення нітротетразолію здійснюється за допомогою супероксидних радикалів, що формуються у результаті реакції між феназинметасульфатом та його відновленою формою нікотинаміднуклеотиду. Утворення нітроформазану (продукту відновлення нітротетразолію) інгібується наявністю СОД. Активність СОД визначали за кількістю нітроформазану. Екстинцію проб вимірювали при $\lambda=540$ нм на спектрофотометрі LV/VIS ULAB модель 108/108 UV [2].

Активність ензиму визначали за формулою 2.18:

$$\% \text{ блокування} = \frac{E_{\text{к.пр.}} - E_{\text{д.пр.}}}{E_{\text{к.пр.}}} \cdot 100\%, \quad (2.18)$$

де, $E_{\text{к.пр.}}$ – екстинція контрольної проби, од. екст.;

$E_{\text{д.пр.}}$ – екстинція дослідної проби, од. екст.

Принцип методу визначення активності *каталази* [КФ 1.11.1.6] базувався на додаванні певної кількості перекису водню до проби, що містила ензим, та подальшому визначенні кількості незруйнованого перекису шляхом титрування перманганатом калію після певного часу. За каталазною активністю судили про антиоксидантний захист еритроцитів. Активність визначали у мг H₂O₂/мл [14].

2.3.2 Методики визначення продуктів пероксидації ліпідів та білків

Рівень пероксидації ліпідів оцінювали за накопиченням *дієнових кон'югатів (ДК)* ненасичених жирних кислот [147] та активних продуктів, що реагують на *тіобарбітуровою кислотою (ТБК-АП)* [147].

Принцип визначення *ТБК-АП*: при нагріванні в кислому середовищі частина продуктів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), що належить до класу ендоперекисів, розкладається, утворюючи малоновий альдегід (МДА), взаємодія молекули якого з двома молекулами ТБК приводять до формування забарвленого комплексу. Для розрахунку концентрації ТБК-активних продуктів використовували рівняння регресії 2.19:

$$C = 0,21 + 26,5 \cdot \Delta D, \quad (2.19)$$

де C – рівень ТБК-активних продуктів (у наномолях МДА на 1 моль гемолізату);

ΔD – показник $D_{535-580}$ у центрифугаті (в од. оптичної густини).

Принцип визначення *ДК*: під час екстракції жирних кислот використовували гептан-ізопропанольну суміш, застосовуючи подальший розподіл фаз та спектрофотометричне визначення ДК при $\lambda=232$ нм. У якості контролю використовували проби, які містять тільки екстрагуючу фазу.

Вміст *загального білка* в крові оцінювали з використанням набору від фірми "Сімко" (Україна). Виразали вміст загального білка у мг/мл та розраховували за формулою 2.20:

$$C_{\text{білка}} = (E_{\text{досл}} - E_{\text{ст}}) \cdot 50, \quad (2.20)$$

де $E_{\text{досл}}$ – поглинання досліджуваної проби;

$E_{\text{ст}}$ – поглинання стандартного зразка з концентрацією 50 мг/мл.

За вмістом продуктів *окисної модифікації білка (ОМБ)* визначали стан перекисного окислення білків [147]. Принцип методу полягає в взаємодії окисних амінокислотних залишків білків з 2,4-динітрофенілгідразином (2,4-ДНФГ), що призводить до утворення похідних 2,4-динітрофенілгідразону. Подальше дослідження здійснювалося за допомогою спектрофотометра

Specord M-40 реєстрували оптичну густину утворених динітрофенілгідразонів при $\lambda=356, 370, 430, 530$ (нм).

2.3.3 Методики визначення основних показників вуглеводного обміну в еритроцитах

Для визначення концентрації *глюкози* в біологічних рідинах використовували набір «Філісіт-Діагностика» (м. Дніпропетровськ). Глюкоза в присутності глюкозооксидази [КФ 1.1.3.4] окислюється до глюконової кислоти та перекису водню. У присутності пероксидази перекис водню реагує з фенолом та 4-амінофеназоном, утворюючи хінонімін червоно-фіолетового забарвлення, яке можна виміряти фотометрично. Розрахунок концентрації глюкози проводили за формулою 2.21:

$$C = 10,0 \cdot E_{\text{досл}} / E_{\text{калібр}} \cdot K_p, \quad (2.21)$$

де C – концентрація глюкози, ммоль/л;

$E_{\text{досл}}$ – екстинція дослідної проби;

$E_{\text{кал}}$ – екстинція калібрувальної проби;

10 – коефіцієнт перерахунку;

K_p – коефіцієнт розведення.

Визначення рівня *пірувату* в біологічних субстратах здійснювали за допомогою 2,4-динітрофенілгідразину (2,4-ДНФГ). У даному середовищі він утворює 2,4-динітрофенілгідразони піровиноградної кислоти, які мають коричнево-червоне забарвлення. Інтенсивність цього забарвлення пропорційна концентрації піровиноградної кислоти і може бути виміряна за допомогою колориметрії [11].

Концентрацію піровиноградної кислоти вираховують за формулою 2.22:

$$C_{\text{досл}} = \frac{C_{\text{ст}} \cdot E_{\text{досл}}}{E_{\text{ст}} \cdot a}, \quad (2.22)$$

$C_{\text{досл}}$ – вміст піровиноградної кислоти, ммоль/л;

$C_{\text{ст}}$ – вміст стандартного розчину піровиноградної кислоти ($C_{\text{ст}} = 2 \pm 0,1$ ммоль/л);

$E_{\text{досл}}$ – екстинція досліджуваної проби;

$E_{\text{ст}}$ – екстинція стандарту;

a – 0,1 мл гемолізату.

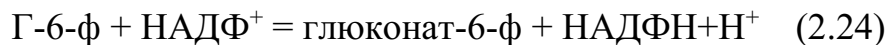
Визначення вмісту *лактату* в еритроцитах здійснювали за Балаховским ІС. Молочна кислота, у присутності сірчаної і фосфорної кислот та солей міді, перетворюється на оцтовий альдегід. Оцтовий альдегід взаємодіє з параоксидифенілом ($C_6H_5C_6H_4OH$), що призводить до утворення фіолетово-забарвлених продуктів [11]. Концентрацію лактату визначали за калібрувальною кривою.

Для визначення загальної *лактатдегідрогеназної (ЛДГ)* активності [КФ 1.1.1.27] використовували набір «Філісіт-Діагностика» (м. Дніпропетровськ, Україна). В ході роботи піруват перетворюється на лактат з одночасним окисненням НАДН. Швидкість зменшення абсорбції при довжині хвилі 340-365 нм, яка залежить від окиснення НАДН, прямопропорційна активності ЛДГ у пробі. Середнє значення зміни екстинкції протягом однієї хвилини ($\Delta E/\text{хв}$) у одиницях Од/л обчислювалося за формулою. 2.23:

$$A = [(E_2 - E_1) + (E_3 - E_2) / 2] \cdot 8095, \quad (2.23)$$

де, E – різниця полягає у зміні екстинкції з інтервалом однієї хвилини протягом трьох хвилин порівняно з дистильованою водою.

Для визначення *глюкозо-6-фосфатдегідрогеназної (Г6ФДГ)* активності еритроцитів [КФ 1.1.1.49] використовували набір «RANDOX» (Велика Британія). В ході роботи визначення активності Г6ФДГ здійснювали в пробі кінетичним методом за ступенем збільшення абсорбції при 340 нм в результаті перетворення $НАДФ^+$ в наступній реакції 2.24:



Середню зміну оптичної густини обчислювали за формулою 2.25:

$$\Delta A/\text{хв} = (A_2 - A_1)/5. \quad (2.25)$$

Розрахунок активності Г6ФДГ визначали за формулою 2.26:

$$A_{Г-6-фДГ\text{мЕ в еритроцитах/мл крові}} = (\Delta A \cdot 33650) / N, \quad (2.26)$$

де, 33650 – коефіцієнт перерахунку при $\lambda=340$ нм;

N – кількість червоних клітин поділено на 10^6 для кожного зразка.

2.3.4 Визначення вмісту АТФ

При гідролізі у кислому середовищі два останні залишки фосфатної кислоти в АТФ відщеплюються. Ці два фосфати формують лабільно зв'язаний фосфор. Порівняння вмісту неорганічного фосфору у пробах до та після гідролізу дозволяє отримати уявлення про кількість лабільно зв'язаного фосфору. Кількість фосфору визначають за кольоровою реакцією з молібдатом амонію у присутності аскорбінової кислоти (метод Фіске-Суббароу) [11]. АТФ розраховували у ммоль P_i /л за формулою 2.27:

$$C_{\text{ммоль}P_i/\text{л}} = \frac{(E_{\text{оп}} - E_{\text{к}}) \cdot \text{конц. } P_i \cdot 10^6}{E_{\text{ст}} \cdot 0,5}, \quad (2.27)$$

де, $E_{\text{оп}}$ – оптична густина дослідної проби;

$E_{\text{к}}$ – оптична густина контрольної проби;

$E_{\text{ст}}$ – оптична густина стандартної проби (середнє з трьох проб);

конц. P_i (фосфору) у пробі;

0,5 – об'єм гемолізату (мл);

10^6 – приведення до виразу у ммоль P_i /л.

2.4 Біофізичні методи дослідження

Визначення вмісту макро- та мікроелементів у еритроцитах щурів використовували метод атомно-абсорбційної спектрофотометрії з використанням спектрофотометрів С-115ПК та SHIMADZU AA-7000. Цей метод ґрунтується на розпиленні розчину мінералізату у повітряно-ацетиленовому полум'ї та вимірі резонансного поглинання атомів елементу за допомогою атомно-абсорбційного спектрофотометра. С-115ПК та SHIMADZU AA-7000.

Золу еритроцитів виготовляли згідно з методикою, розробленою Бабенком О. Г. та Гарбарцем Б. О. [216]. Пробу поміщали у порцелянові

тиглі з непошкодженим глазурованим шаром на внутрішній поверхні, щоб уникнути реакції карбонатів лужних металів із силікатами посудини. Наважки для озолення підсушували в термостаті при температурі 150°C, а потім вуглецювали у муфельній печі при 300°C. Мінералізацію здійснювали у муфелі при температурі 450 °C до повного випаровування золи домішок вугілля, використовуючи метод сухого озолення. Отриману золу забирали неметалевим шпателем та зберігали у малих щільнозакритих пробірках.

Принцип методу полягає у повному розкладанні органічних речовин шляхом спалення сирової проби або продукту в електропечах при контрольованому температурному режимі. Цей метод використовується для аналізу різних видів сировини і продуктів, за винятком тих, у яких вміст жиру становить 60 % і більше.

Підготовка проб для аналізу полягала в розчиненні 0,05 г золи в тиглі, яке проводилося під нагріванням у 10 % нітратній кислоті. Отриману розчинену масу переносили у мірну колбу об'ємом 25 см³ і доводили об'єм до мітки бідистильованою водою.

Проведення вимірювань: На атомно-абсорбційному спектрофотометрі C-115ПК та SHIMADZU AA-7000 визначали концентрацію елементів-металів Mg, Zn, Cu, Fe, Mn та Se з атомізацією в повітряно-ацетиленовому полум'ї.

Параметри для аналізу визначались з урахуванням даних, зазначених у літературі, а також результатів експериментальних досліджень. Комп'ютерна система приладу автоматично розраховувала концентрації макро- та мікроелементів у досліджуваних розчинах за допомогою вимірювань абсорбції. Визначали концентрацію елементів-металів Mg, Zn, Cu, Fe, Mn та Se з атомізацією в повітряно-ацетиленовому полум'ї при тиску 0,4 кг/см³ і 20 мм вод. ст.; температура полум'я 2250 °C, довжина хвилі: Mg – 285,2 нм, Zn – 213,9 нм, Cu – 324,7 нм, Fe – 248,3 нм, Mn – 279,5 нм та Se – 196 нм [216].

2.5 Статистичні методи дослідження

Після завершення експериментальної частини та аналізу результатів досліджень усі отримані кількісні дані були перевірені на відповідність нормальному розподілу за допомогою тестів Колмогорова-Смірнова та Ліліфорса. Всі дані відповідали нормальному розподілу за законом Гауса. Таким чином, для подальшої обробки даних та оцінки статистичної значимості різниці між групами порівняння були обрані параметричні методи, такі як середнє арифметичне (M), стандартна похибка (m) та t-тест Ст'юдента.

Статистичний аналіз цифрових даних проводився за допомогою комп'ютерних програм, таких як Excel пакету Microsoft Office 365 ProPlus та Statistica 8.0 (Statsoft, США). Результати вважалися значущими, якщо $p < 0,05$, оскільки при такому значенні ймовірність безпомилкового прогнозу складає 95 % (межа статистичної вагомості $p = 0,05$).

Прилади, використані для наукових досліджень, підлягали систематичному метрологічному контролю.

РОЗДІЛ 3

ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ ЕНЕРГЕТИЧНОГО НАПОЮ НА СИСТЕМУ ЕРИТРОНУ

3.1 Гематологічні індекси периферичної крові щурів за умов споживання енергетичного напою

Дослідження показників периферичної ланки еритроноу щурів, котрі споживали енергетичний напій впродовж місяця, засвідчили порушення еритроцитарного балансу, що проявляється зниженням рівня еритроцитів у периферичній крові (табл. 3.1).

Таблиця 3.1 – Гематологічні індекси крові за умов споживання енергетичного напою, (M ± m) (n=7)

| Групи тварин | Показники | | | | | |
|--------------------|--|---|-------------------------------|-------------------------|--|-----------------------------|
| | Кількість еритроцитів $\times 10^{12}/л$ | Середній вміст гемоглобіну в еритроциті, пг | Середній об'єм еритроциту, фл | Показник гематокриту, % | Середня концентрація гемоглобіну в еритроциті, г/л | Кольоровий показник, ум.од. |
| Інтактний контроль | 6,71± 0,20 | 16,39± 0,37 | 53,75± 1,15 | 38,48± 1,94 | 301,30± 5,72 | 0,52± 0,04 |
| 1-а доба | 5,71± 0,61** | 17,32± 0,41 | 55,32± 0,65 | 31,24± 3,09 | 312,73± 3,44** | 0,52± 0,07 |
| 10-доба | 5,57± 0,60** | 18,59± 1,53* | 51,26± 2,91# | 31,06± 5,42* | 371,38± 2,26**## | 0,61± 0,25 |
| 20-доба | 5,77± 1,11* | 17,91± 1,13* | 44,83± 4,74**## | 26,51± 6,13** | 387,88± 4,58**## | 0,50± 0,12 |
| 30-доба | 7,19± 0,56## | 17,19± 0,75 | 45,51± 1,57**## | 31,29± 4,64* | 376,13± 6,77**## | 0,51± 0,06 |

Примітка. Тут і в наступних таблицях розділу: * – p < 0,05, ** – p < 0,001 – достовірність порівняно з показниками інтактного контролю; # – p < 0,05, ## – p < 0,001-достовірність порівняно з показниками 1-ї доби.

На 1-у, 10-у та 20-у доби після завершення вживання енергетика спостерігалось зниження вмісту еритроцитів на 15 % ($p < 0,001$), 17 % ($p < 0,001$) та 14 % ($p < 0,05$) відповідно та збільшення на 30-ту добу на 7 % в порівнянні з інтактним контролем (рис. 3.1). Зниження кількості еритроцитів на 1-у, 10-у та 20-у доби може свідчити про порушення процесів кровотворення у цих тварин або гемоліз еритроцитів чи порушення синтезу гемоглобіну. Порівняльний аналіз результатів відносно показників у тварин на 1-шу добу спостереження засвідчує достовірне збільшення кількості еритроцитів на 30-у добу на 26 % ($p < 0,001$).

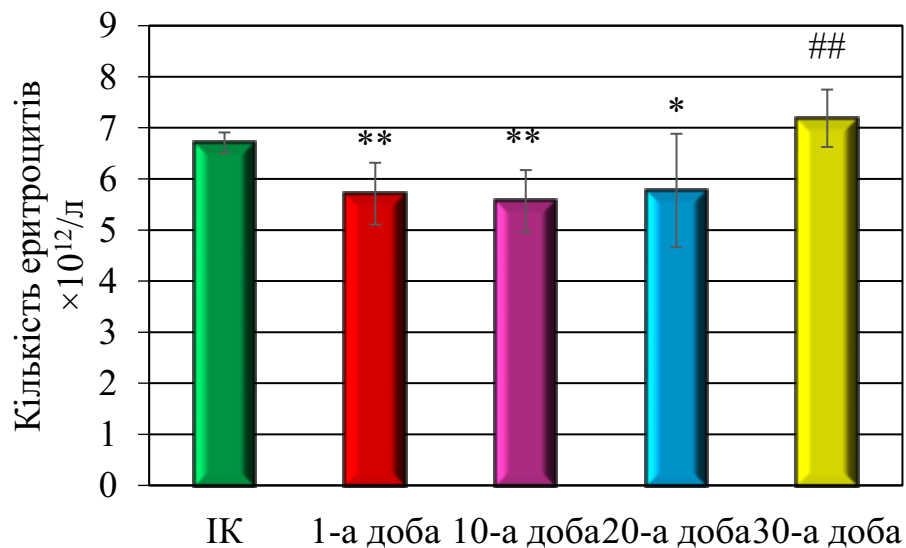


Рисунок 3.1 – Абсолютний вміст еритроцитів лабораторних щурів під впливом енергетичного напою, кількість еритроцитів $\times 10^{12}/л$ ($M \pm m$) ($n=7$)

Примітка. Тут і в наступних рисунках розділу: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,001$ – достовірність порівняно з показниками інтактного контролю; # – $p < 0,05$, ## – $p < 0,001$ – достовірність порівняно з показниками 1-ї доби.

Щодо дослідження середнього вмісту гемоглобіну в еритроциті лабораторних щурів за умов споживання енергонапою, то слід відмітити збільшення упродовж всього періоду спостереження: на 1-у, 10-у, 20-у та 30-у доби на 7 %, 13 % ($p < 0,05$), 9 % ($p < 0,05$) та 5 % відповідно в порівнянні з інтактним контролем (рис. 3.2). Після завершення споживання енергетика спостерігалось достовірне збільшення середнього вмісту гемоглобіну в

еритроциті на 10-у добу на 7 % відносно показників у тварин на 1-шу добу спостереження.

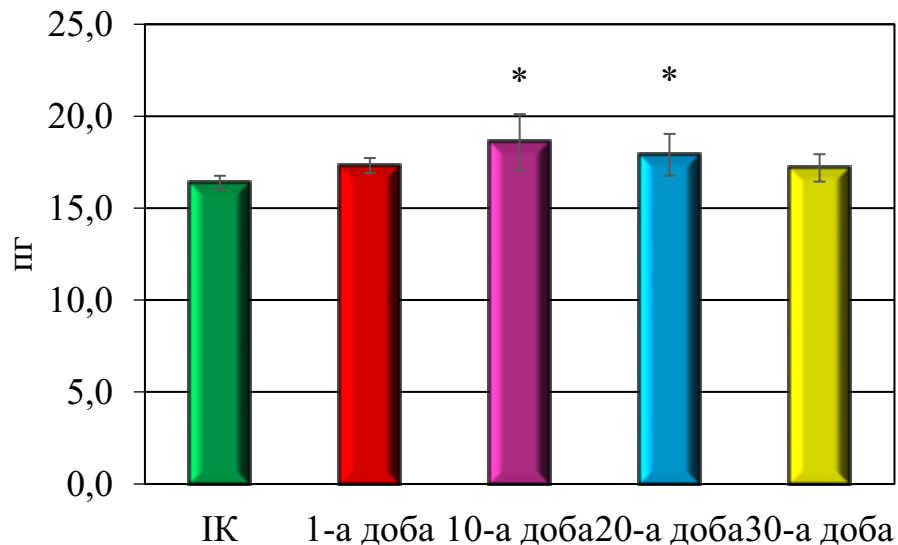


Рисунок 3.2 – Середній вміст гемоглобіну в еритроциті лабораторних щурів за умов споживання енергонапою, г/л ($M \pm m$) ($n=7$)

Дослідження середнього об'єму еритроциту дозволило встановити його збільшення тільки по завершенню прийому енергонапою на 1-у добу на 3 %, в наступні періоди експерименту спостерігалось зменшення: на 10-у, 20-у та 30-у доби на 6 %, 17 % ($p<0,001$) та 15% ($p<0,001$) відповідно порівняно з інтактним контролем (рис. 3.3). Після відміни енергетика спостерігалось зниження даного показника на 10-у, 20-у та 30-у доби на 7 % ($p<0,05$), 19 % ($p<0,001$) та 18 % ($p<0,001$) відносно показників у тварин на 1-шу добу спостереження. Збільшення середнього об'єму еритроциту (макроцитоз), який спостерігався в ранньому періоді експерименту (на 1-у добу) можна розглядати як формування компенсаторного механізму для збереження сумарної дихальної поверхні еритроцитів.

Відомо, що збільшення об'єму може спричинити до порушення проникності і кислотостійкості еритроцитарних мембран, що в свою чергу впливає на функціонування еритроцитів і забезпечення організму киснем.

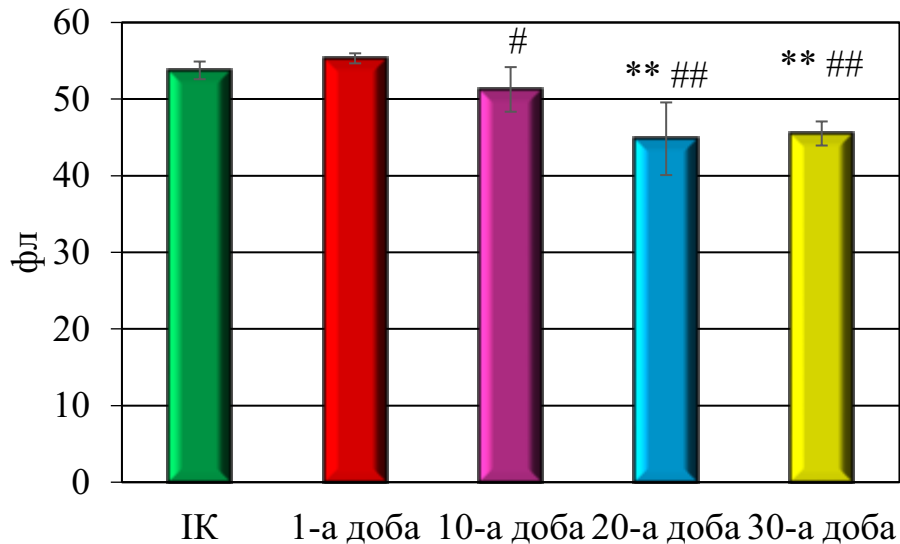


Рисунок 3.3 – Середній об'єм еритроциту лабораторних щурів за умов споживання енергонапою, фл ($M \pm m$) ($n=7$)

Дослідження показника гематокритної величини лабораторних щурів за умов споживання енергетика дозволило встановити його зниження на всіх періодах експерименту, особливо на 1-у та 20-у доби на 19 % ($p<0,001$) та 31% ($p<0,001$) порівняно з інтактним контролем (рис. 3.4).

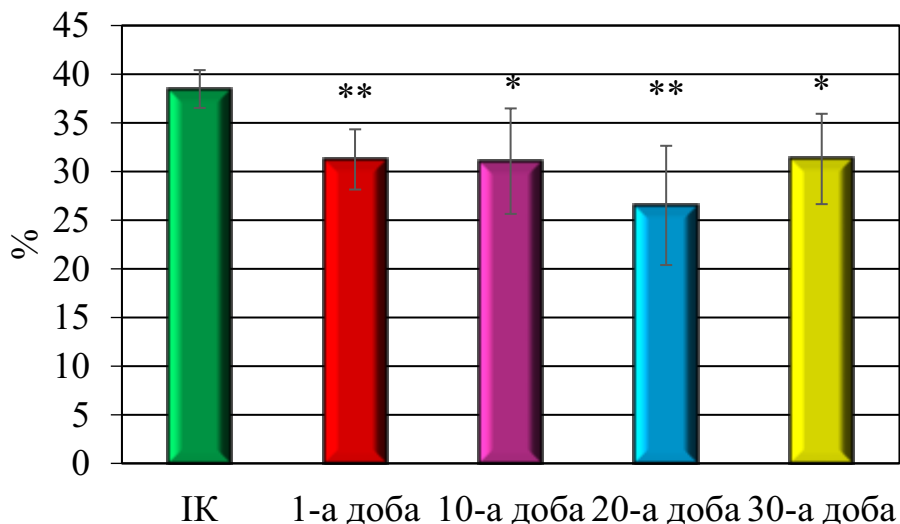


Рисунок 3.4 – Показник гематокриту лабораторних щурів за умов споживання енергонапою, % ($M \pm m$) ($n=7$)

Дослідження середньої концентрації гемоглобіну в еритроциті лабораторних щурів за умов споживання енергонапою дозволило встановити збільшення на 1-у, 10-у, 20-у та 30-у доби на 4 %, 23 % ($p < 0,001$), 29 % ($p < 0,001$) та 25 % ($p < 0,001$) відповідно порівняно з інтактним контролем (рис. 3.5). Після відміни енергетика спостерігалось збільшення середньої концентрації гемоглобіну в еритроциті на 10-у, 20-у та 30-у доби на 19 % ($p < 0,001$), 24 % ($p < 0,001$) та 20 % ($p < 0,001$) відносно показників у тварин на 1-шу добу спостереження.

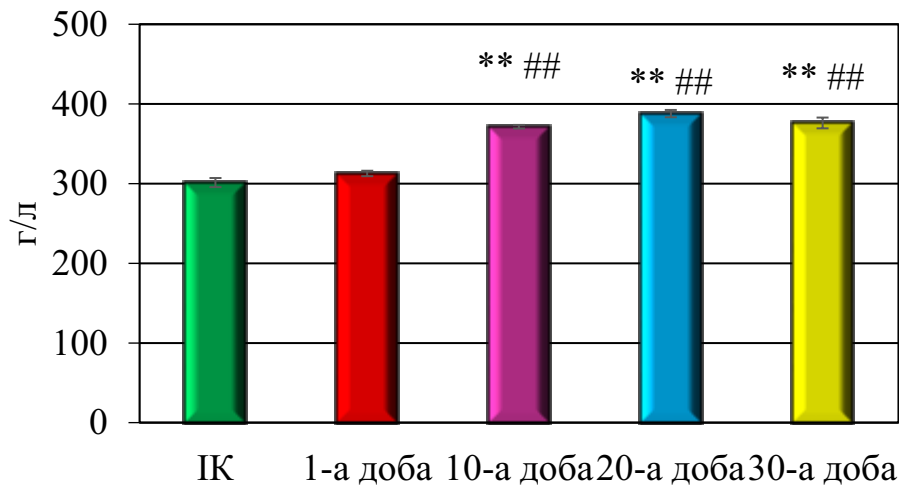


Рисунок 3.5 – Середня концентрація гемоглобіну в еритроциті лабораторних щурів за умов споживання енергонапою, г/л ($M \pm m$) ($n=7$)

Визначення кольорового показника, який свідчить про насичення еритроцитів гемоглобіном, дозволило встановити, що в лабораторних щурів за умов споживання енергетика цей показник перебуває на 1-у, 20-у та 30-у доби в межах значень інтактного контролю, проте на 10-у добу спостерігалось його підвищення на 19 % (рис. 3.6).

На тлі змін зі сторони еритроцитів представляло інтерес дослідження лейкоцитів. Нами встановлено, що за умов споживання енергетичного напою спостерігалися зміни в лейкоцитарній формулі крові (табл. 3.2).

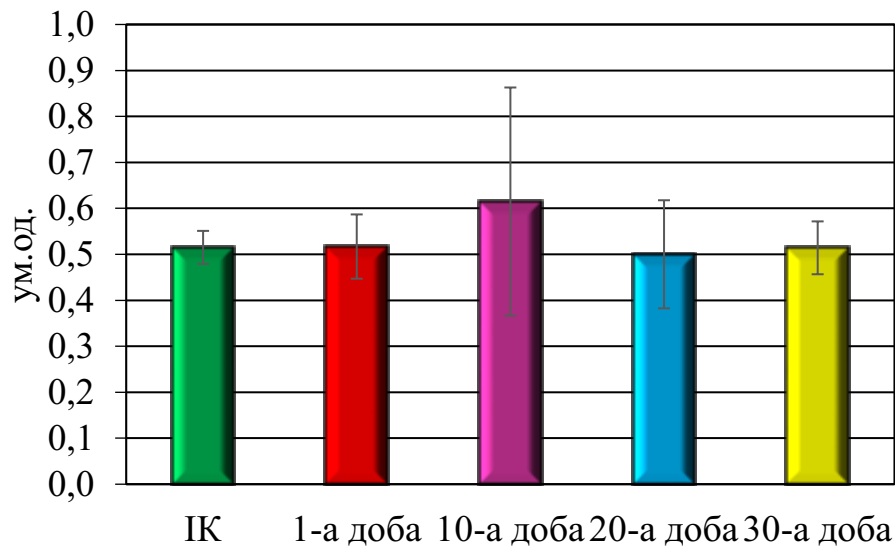


Рисунок 3.6 – Кольоровий показник крові лабораторних щурів за умов споживання енергонапою, (M ± m) (n=7)

Таблиця 3.2 – Лейкоцитарна формула крові лабораторних щурів за умов споживання енергетика, (M ± m) (n=7)

| Групи тварин | Показники | | | |
|--------------------|---|---|--|---|
| | Кількість лейкоцитів × 10 ⁹ /л | Кількість лімфоцитів × 10 ⁹ /л | Кількість моноцитів, еозинофілів, базофілів × 10 ⁹ /л | Кількість гранулоцитів × 10 ⁹ /л |
| Інтактний контроль | 6,12 ± 1,12 | 4,93 ± 0,96 | 0,65 ± 0,17 | 0,02 ± 0,01 |
| 1-а доба | 7,25 ± 0,80* | 6,62 ± 1,37* | 0,83 ± 0,11* | 0,33 ± 0,16** |
| 10-а доба | 8,86 ± 2,63* | 6,98 ± 2,21* | 0,99 ± 0,26* | 0,90 ± 0,56** # |
| 20-а доба | 11,04 ± 4,36* # | 8,11 ± 3,74* | 1,11 ± 0,55* | 2,31 ± 1,64* # |
| 30-а доба | 12,19 ± 4,65* # | 8,99 ± 3,56* | 1,37 ± 0,58* # | 1,73 ± 1,20* # |

Спостерігалось збільшення кількості лейкоцитів впродовж всього періоду експерименту, найбільш істотні зміни відмічено на 30-у добу – на 99 % ($p < 0,05$) порівняно з інтактним контролем, що може свідчити про розвиток запальних процесів в організмі.

У дослідних тварин підвищувалась кількість лімфоцитів впродовж всього експерименту від 34 % до 82 % ($p < 0,05$) порівняно з інтактним контролем.

Також спостерігалось збільшення кількості моноцитів, еозинофілів, базофілів на 1-у, 10-у, 20-у та 30-у доби на 28 % ($p < 0,05$), 52 % ($p < 0,05$), 71 % ($p < 0,05$) та 110 % ($p < 0,05$) відповідно порівняно з інтактним контролем.

В той же час підвищувалась кількість гранулоцитів у всі періоди експерименту. Найвищі показники були на 20-у та 30-у доби в порівняно з інтактним контролем.

3.2 Параметри кислотних еритрограм за умов споживання енергетичного напою

Для характеристики функціонального стану мембран еритроцитів нами проведено вивчення параметрів кислотної резистентності. Мірою стійкості еритроцита є тривалість його існування в середовищі з гемолітиком. При гемолізі, який ініційований низьким значенням рН, змінюються колоїдно-осмотичні параметри внаслідок порушення вибіркової проникності мембран. Результати дослідження розподілу популяції еритроцитів за стійкістю до впливу іонів H^+ при вживанні енергетика представлені в табл. 3.3.

Як свідчать наведені дані, за умов споживання енергетика, відбувались істотні зміни в популяції циркулюючих еритроцитів у крові. Зокрема, на 1-у добу після завершення прийому збільшувався рівень низькостійких еритроцитів на 77 % ($p < 0,05$) на тлі зниження середньостійких – на 16 %

($p < 0,05$), еритроцитів підвищеної стійкості – на 42 % ($p < 0,001$) та високостійких – на 61 % ($p < 0,001$) в порівнянні з інтактним контролем.

Таблиця 3.3 – Параметри кислотних еритрограм за умов споживання енергетика, % ($M \pm m$) ($n=7$)

| Групи тварин | Показники | | | | |
|--------------------|----------------|-------------------------|---------------------------|---------------------------------|-------------------------|
| | Сферуляція | Низькостійкі еритроцити | Середньостійкі еритроцити | Еритроцити підвищеної стійкості | Високостійкі еритроцити |
| Інтактний контроль | 4,09± 1,65 | 25,52± 4,92 | 64,41± 5,20 | 2,36± 0,53 | 0,75± 0,15 |
| 1-а доба | 7,01± 2,18* | 45,21± 15,16* | 54,31± 4,37* | 1,37± 0,20** | 0,29± 0,09** |
| 10-а доба | 6,65± 1,30* | 4,92± 2,49** ## | 52,32± 10,77* | 26,35± 18,73* # | 0,80± 0,59 # |
| 20-а доба | 5,83± 0,95* | 10,55± 5,10** ## | 54,94± 19,45 | 24,65± 16,15* # | 3,88± 4,91 |
| 30-а доба | 5,48± 0,89 | 15,44± 8,28* ## | 42,74± 27,83 | 34,81± 27,11* # | 3,35± 1,68** ## |

На 10-у добу по завершенню експерименту спостерігалось зниження рівня низькостійких та середньостійких еритроцитів на 81 % ($p < 0,001$) та 19 % ($p < 0,05$) відповідно та збільшення рівня еритроцитів підвищеної стійкості в 11 разів порівняно з інтактним контролем. В наступні періоди експерименту, а саме на 20-у та 30-у доби, також спостерігалось зниження рівня низькостійких на 59-61 % ($p < 0,05$, $p < 0,001$) та середньостійких еритроцитів на 15-34 % відповідно на тлі збільшення рівня еритроцитів

підвищеної стійкості в 11-15 ($p < 0,05$) разів та високостійких в 5,2-4,5 ($p < 0,001$) разів відповідно в порівнянні з інтактним контролем.

Одержані дані свідчать про зміни в еритрограмі щурів, зокрема у віддалені періоди спостереження. Такі зміни можуть бути обумовлені насамперед станом метаболічних процесів в еритроциті та порушенням структурних компонентів еритроцитарних мембран.

Результати, які наведені у цьому розділі, були опубліковані в наукових публікаціях автора: статті [14, 17] і тези [9, 11, 12, 13 Додатку А].

РОЗДІЛ 4

ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ ЕНЕРГЕТИЧНОГО НАПОЮ НА ЛІГАНДНІ ФОРМИ ГЕМОГЛОБІНУ

4.1 Вивчення впливу енергетичного напою на рівень загального гемоглобіну та лігандні форми гемоглобіну

Дослідження вмісту загального гемоглобіну у крові щурів, котрі споживали енергетик (рис. 4.1), показали його зниження на 1-у, 10-у та 20-у доби по завершенню експерименту на 25 % ($p < 0,001$), 22 % ($p < 0,001$) та 7 % відповідно в порівнянні з інтактним контролем. Причини зниження рівня гемоглобіну можна розглядати як порушення процесів біосинтезу, так і посиленого розпаду цього гемопротеїну.

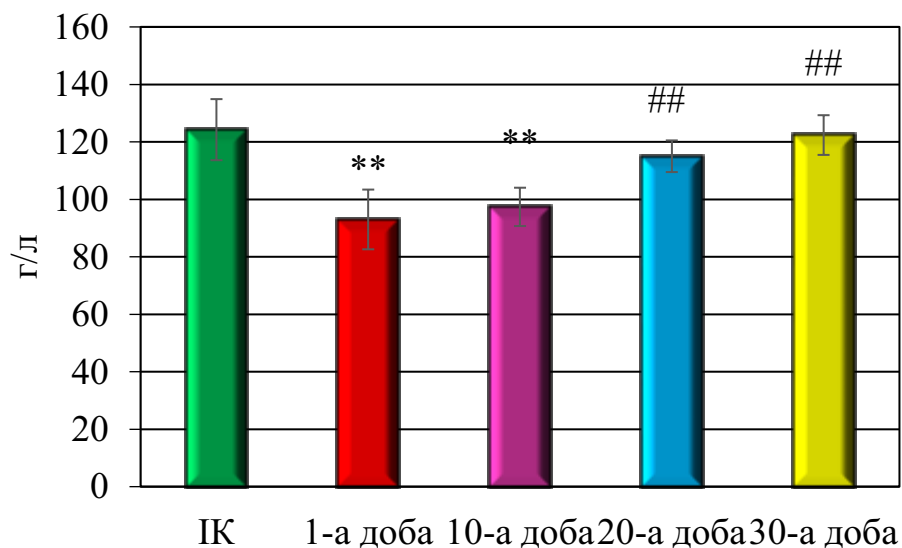


Рисунок 4.1 – Рівень загального гемоглобіну під впливом енергетичного напою, г/л ($M \pm m$) ($n=7$)

Примітка. Тут і в наступних рисунках розділу: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,001$ – достовірність порівняно з показниками інтактного контролю; # – $p < 0,05$, ## – $p < 0,001$ – достовірність порівняно з показниками 1-ї доби.

Вивчення динаміки змін цього показника порівняно з раннім періодом після відміни енергетика (1-а доба) вказує на збільшення рівня гемоглобіну на 20-у добу та 30-у доби на 24 % ($p < 0,001$) та 32 % ($p < 0,001$) відповідно.

Зростання даного показника може бути наслідком адаптивної реакції-відповіді організму тварин на споживання енергетичного напою.

Гемоглобіну належить важлива роль у процесах біохімічної адаптації до впливу різних за природою екзо- та ендогенних чинників. Формування реакції-відповіді відбувається завдяки наявності лігандних форм цього білка, який забезпечує поряд з транспортом кисню і виконання інших важливих функцій, зокрема: приймає участь у регуляції кислотно-основної рівноваги та виконує детоксикаційну роль. Виходячи з цього, важливим є дослідження різних лігандних форм гемоглобіну за умов споживання енергетичного напою.

Для розуміння біохімічних механізмів адаптації та оцінки забезпечення тканин киснем інформативним є показник динаміки змін вмісту оксигемоглобіну (HbO_2). Проведені дослідження показали, що рівень HbO_2 знижувався в дослідних групах упродовж всього періоду спостереження на 50 % ($p < 0,001$), 39 % ($p < 0,001$), 33 % ($p < 0,001$) та 45% ($p < 0,001$) в порівнянні з інтактним контролем (рис. 4.2; табл. 4.1). Поряд із цим слід відмітити, що після відміни енергетика спостерігалось збільшення рівня HbO_2 на 10-у, 20-у та 30-у доби на 21 % ($p < 0,05$), 34 % ($p < 0,001$) та 9 % відносно показників у тварин на 1-шу добу спостереження. Зниження вмісту оксигемоглобіну може бути зумовлене цілим рядом факторів: змінами морфо-функціонального стану еритроцитів, порушенням структури гемоглобіну і спорідненості гемоглобіну до кисню. Сукупність таких факторів має безпосередній вплив на рівень активної форми гемоглобіну, що в свою чергу впливає на кисневий гомеостаз організму.

За умов споживання енергетика спостерігалось зниження рівня оксигемоглобіну упродовж всього періоду експерименту. Зокрема, слід відмітити цікаву тенденцію змін стосовно рівня загального гемоглобіну: рівень загального гемоглобіну найнижчий на 1-у добу, а на 20-у має тенденцію до зростання, однак залишається дещо нижчим, ніж в інтактного контролю тварин. Водночас, відносний вміст HbO_2 на 30-у добу становив

тільки 53,16 %, незважаючи на зростання рівня загального гемоглобіну. Такі результати дають підстави вважати, що після відміни енергетика знижується вміст активної форми гемоглобіну.

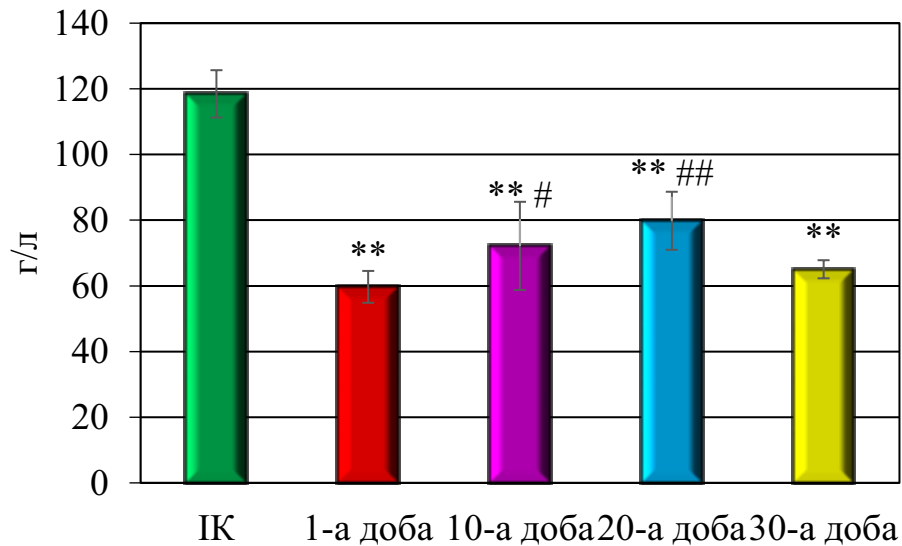


Рисунок 4.2 – Динаміка змін рівня оксигемоглобіну лабораторних щурів за умов споживання енергонапою, г/л ($M \pm m$) ($n=7$)

Таблиця 4.1 – Динаміка змін оксигемоглобіну за умов споживання енергетичного напою, ($M \pm m$) ($n=7$).

| Групи тварин | Показники | | |
|--------------------|-------------------|------------------------|----------------------|
| | Загальний Нв, г/л | НвО ₂ , г/л | НвО ₂ , % |
| Інтактний контроль | 124,25 ± 10,63 | 118,47 ± 7,21 | 95,35 |
| 1-а доба | 93,00 ± 10,39** | 59,70 ± 4,85** | 64,19 |
| 10-а доба | 97,38 ± 6,67** | 72,16 ± 13,43** | 74,10 |
| 20-а доба | 115,00 ± 5,50* | 79,82 ± 8,84** | 69,41 |
| 30-а доба | 122,38 ± 6,91 | 65,06 ± 2,76** | 53,16 |

Примітка. Тут і в наступних таблицях розділу: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,001$ – достовірність порівняно з показниками інтактного контролю; # – $p < 0,05$, ## – $p < 0,001$ – достовірність порівняно з показниками 1-ї доби.

Таким чином, нами вперше встановлено, що за умов споживання енергетика спостерігається суттєве зниження HbO_2 , що вказує на порушення процесів оксигенації тканин, може спричинити розвиток гіпоксії і зумовлювати метаболічні порушення.

Рівень HbO_2 великою мірою визначається наявністю дисгемоглобінів, таких як метгемоглобін, сульфгемоглобін, карбоксигемоглобін, що перешкоджають насиченню гемоглобіну киснем, зменшуючи рівень оксигемоглобіну в транспортованій крові і сприяють розвитку тканинної гіпоксії.

Метгемоглобін утворюється в результаті окиснення гемоглобіну різними за природою окисниками, при цьому утворюється супероксид-аніон, який здатний ініціювати появу інших активних форм кисню і розвиток оксидативного стресу.

Результати дослідження вмісту метгемоглобіну під впливом споживання енергетика показали збільшення цього деривату в дослідних групах упродовж всього періоду спостереження в 4,8 ($p < 0,001$), 3,9 ($p < 0,001$), 4,2 ($p < 0,001$) та 3,8 ($p < 0,001$) разів відповідно на 1-у, 10-у, 20-у і 30-у доби в порівнянні з інтактним контролем (рис. 4.3). Після відміни енергетика на 10-у добу спостерігається зменшення вмісту метгемоглобіну в 1,2 ($p < 0,05$) разів відносно показників у тварин на 1-шу добу спостереження.

Утворення метгемоглобіну в еритроцитах є постійним окислювальним процесом, який є результатом впливу на гемоглобін різноманітних високореактивних молекул (вільних радикалів кисню), що утворюються під час нормального клітинного метаболізму.

Отримані дані вказують на те, що рівень MetHb в інтактних тварин становив 0,60 % від загального гемоглобіну. Результати дослідження концентрації MetHb за умов споживання енергетика представлені у табл. 4.2. Як видно з наведених даних, окиснення оксигемоглобіну до метгемоглобіну найвищою мірою відбувається на 1-у добу, що підтверджується і відносним

вмістом MetHb, який становить 3,87 % при 0,60 % у крові інтактного контролю щурів.

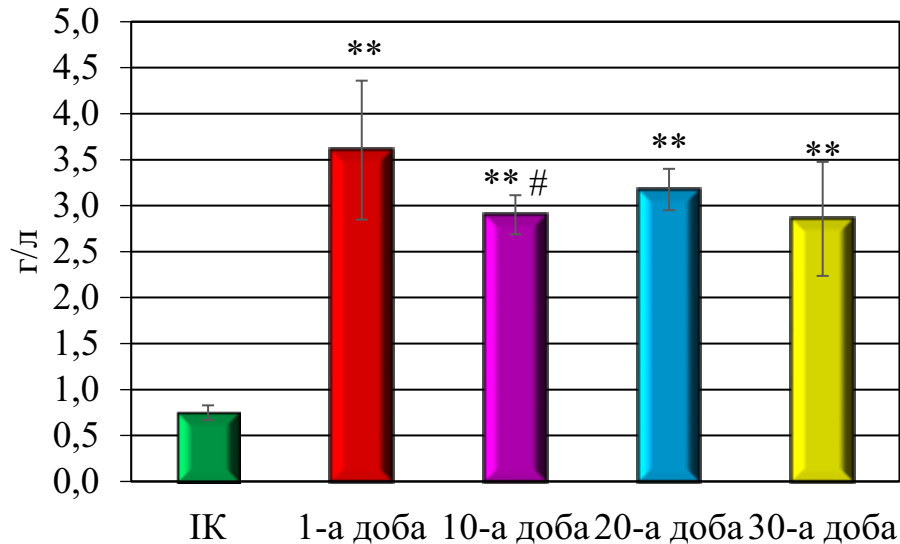


Рисунок 4.3 – Динаміка змін рівня метгемоглобіну лабораторних щурів за умов споживання енергонапою, г/л ($M \pm m$) ($n=7$)

Таблиця 4.2 – Динаміка змін метгемоглобіну за умов споживання енергетичного напою, ($M \pm m$) ($n=7$)

| Групи тварин | Показники | | |
|--------------------|-------------------|-------------|----------|
| | Загальний Hb, г/л | MetHb, г/л | MetHb, % |
| Інтактний контроль | 124,25±10,63 | 0,75±0,08 | 0,60 |
| 1-а доба | 93,00±10,39** | 3,60±0,76** | 3,87 |
| 10-а доба | 97,38±6,67** | 2,90±0,21** | 2,98 |
| 20-а доба | 115,00±5,50* | 3,18±0,23** | 2,77 |
| 30-а доба | 122,38±6,91 | 2,86±0,62** | 2,34 |

Виходячи з одержаних даних, можна висловити припущення стосовно активізації захисної функції метгемоглобіну за умов споживання енергетика, а також про високу інтенсивність окиснювальних процесів в еритроцитах, які

супроводжуються накопиченням супероксид-аніону і пероксиду водню в результаті деградації гемоглобіну і пероксидних модифікацій ліпідів. Такі дані можуть вказувати на розвиток оксидативного стресу, що призводить до ушкодження еритроцитів і порушення кисневотранспортної функції крові.

Сульфгемоглобін (SHb) утворюється внаслідок незворотнього окислення гемоглобіну шляхом розриву метинового мостика у структурі гема та вивільненням іонів заліза (Fe^{2+} та Fe^{3+}), які здатні ініціювати вільнорадикальні процеси і таким чином призвести до порушень у структурі як гемоглобіну, так і еритроцитів.

Результати вивчення рівня сульфгемоглобіну у щурів, котрі споживали енергетичний напій протягом місяця, показали збільшення його на 1-у, 10-у, 20-у та 30-у доби на 48 % ($p<0,001$), 44 % ($p<0,001$), 49 % ($p<0,001$) та 37 % ($p<0,001$) відповідно в порівнянні з інтактним контролем (рис. 4.4). Порівняльний аналіз засвідчує тенденцію до зниження цього деривату гемоглобіну після припинення вживання енергетика, зокрема достовірно зниження спостерігалось на 30-у добу на 8 % відносно показників у тварин на 1-шу добу спостереження.

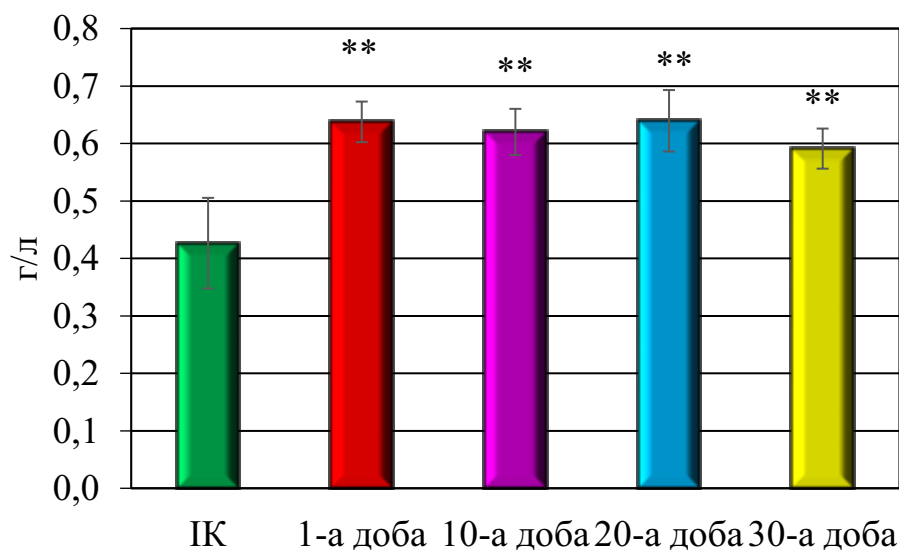


Рисунок 4.4 – Динаміка змін рівня сульфгемоглобіну лабораторних щурів за умов споживання енергонапою, г/л ($M \pm m$) ($n=7$)

В результаті споживання енергетика, як видно з представлених у табл. 4.3 результатів, нами спостерігалось суттєве підвищення рівня SHb. При порівнянні відносного рівня цього деривату, виявилось, що найвищого значення він досягає на 1-у добу експерименту і становить 0,69 % при 0,35 % в інтактного контролю тварин. Одночасно слід зауважити, що рівень загального гемоглобіну на цей період є також найнижчим. При цьому необхідно відмітити, що в наступні періоди рівень загального гемоглобіну мав тенденцію до зростання, а вміст SHb незначною мірою знижувався, однак залишався вірогідно вищим, ніж в інтактного контролю.

Таблиця 4.3 – Динаміка змін сульфгемоглобіну за умов споживання енергетичного напою, ($M \pm m$) (n=7).

| Групи тварин | Показники | | |
|--------------------|-------------------|-------------|--------|
| | Загальний Hb, г/л | SHb, г/л | SHb, % |
| Інтактний контроль | 124,25±10,63 | 0,43±0,08 | 0,35 |
| 1-а доба | 93,00±10,39** | 0,64±0,04** | 0,69 |
| 10-а доба | 97,38±6,67** | 0,62±0,04** | 0,64 |
| 20-а доба | 115,00±5,50* | 0,64±0,05** | 0,56 |
| 30-а доба | 122,38±6,91 | 0,59±0,04** | 0,48 |

Висока концентрація сульфгемоглобіну в еритроцитах може зумовити накопичення вільних іонів заліза, які в свою чергу виступають потужними ініціаторами вільнорадикальних процесів у клітинах.

Карбоксигемоглобін (HbCO) – це комплекс, що утворюється в еритроцитах, за умов впливу оксиду Карбону (II). На рис. 4.5 представлені результати дослідження рівня HbCO, які вказують на достовірне зростання цього показника на 1-у, 20-ту та 30-ту доби в 5,9 ($p < 0,001$), 1,8 ($p < 0,001$) і 1,7 ($p < 0,001$) рази відповідно в порівнянні з інтактним контролем.

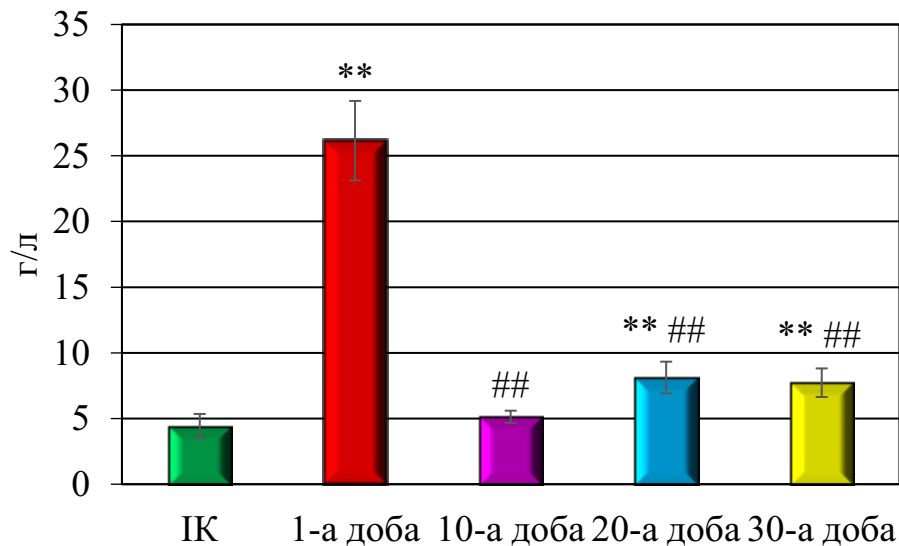


Рисунок 4.5 – Динаміка змін рівня карбоксигемоглобіну лабораторних щурів за умов споживання енергонапою, г/л ($M \pm m$) ($n=7$)

Після відміни енергетика спостерігається зниження рівня карбоксигемоглобіну на 10-у, 20-у та 30-у доби в 5,1 ($p<0,001$), 3,2 ($p<0,001$) та 3,4 ($p<0,001$) раза відносно показників у тварин на 1-шу добу спостереження.

У результаті споживання енергетика, як видно з представлених у табл. 4.4, нами спостерігалось суттєве підвищення рівня НbCO. При порівнянні відносного рівня цього деривату, виявилось, що найвищого значення він досягає на 1-у добу експерименту і становить 28,12 % при 3,57 % в інтактного контролю. Одночасно слід зауважити, що рівень загального гемоглобіну на цей період є також найнижчим.

При цьому необхідно відмітити, що в наступні періоди рівень загального гемоглобіну мав тенденцію до зростання, а вміст НbCO незначною мірою знижувався, однак залишався вірогідно вищим, ніж в інтактного контролю.

Отримані дані вказують на порушення здатності кисню зв'язуватися з гемоглобіном, розвиток гіпоксії, що в свою чергу призводить до порушення

клітинного метаболізму і зумовлює розвиток різноманітних патологічних станів.

Таблиця 4.4 – Динаміка змін карбоксигемоглобіну за умов споживання енергетичного напою, ($M \pm m$) ($n=7$).

| Групи тварин | Показники | | |
|--------------------|-------------------|--------------|---------|
| | Загальний Нб, г/л | НбСО, г/л | НбСО, % |
| Інтактний контроль | 124,25±10,63 | 4,43±0,92 | 3,57 |
| 1-а доба | 93,00±10,39** | 26,15±3,03** | 28,12 |
| 10-а доба | 97,38±6,67** | 5,14±0,46 | 5,28 |
| 20-а доба | 115,00±5,50* | 8,12±1,21** | 7,06 |
| 30-а доба | 122,38±6,91 | 7,73±1,09** | 6,32 |

4.2 Вивчення впливу енергетичного напою на рівень глікованого гемоглобіну

Оскільки енергетики містять велику кількість вуглеводів, тому доцільно було визначити зміну рівня глікованого гемоглобіну, який є маркером порушення вуглеводного обміну. Отримані дані вказують на збільшення вмісту НbA_{1c} на 1-у, 10-у, 20-у та 30-у доби в 2,9 ($p<0,001$), 2,6 ($p<0,001$), 2,3 ($p<0,001$) та 2,2 ($p<0,001$) рази відповідно в порівнянні з інтактним контролем (рис. 4.6). Зростання рівня глікованого гемоглобіну може призвести до порушення кисневого гомеостазу організму, розвиток тканинної гіпоксії.

Після припинення вживання енергетика спостерігалось зниження рівня НbA_{1c} на 10-у, 20-у та 30-у доби в 1,1, 1,3 ($p<0,001$) та 1,4 ($p<0,001$) рази відносно показників у тварин на 1-шу добу спостереження.

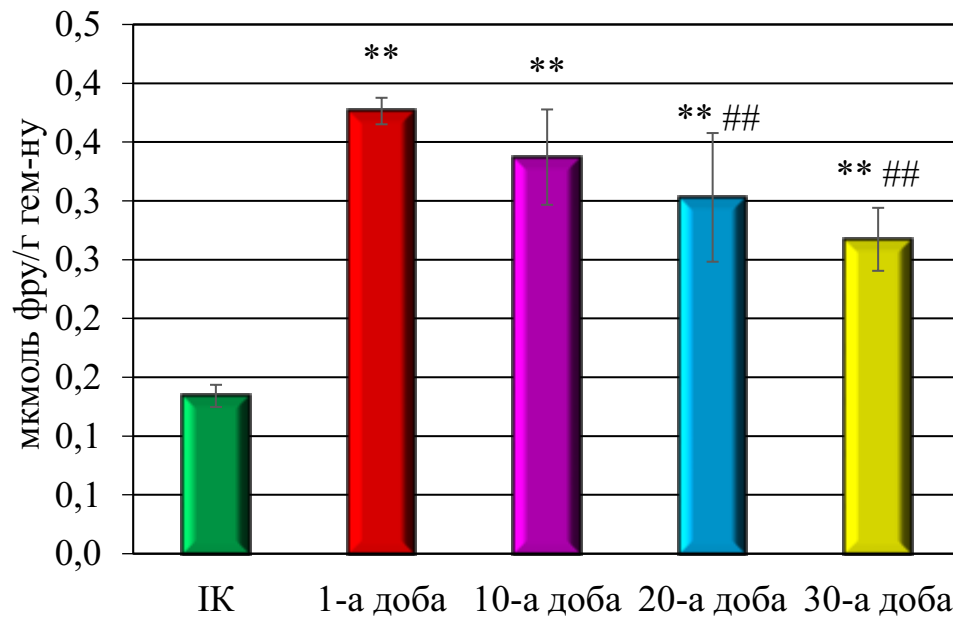


Рисунок 4.6 – Динаміка змін рівня глікованого гемоглобіну лабораторних щурів за умов споживання енергонапою, мкмоль фру/г гемоглобіну ($M \pm m$) (n=7)

Співвідношення між лігандними формами гемоглобіну, а також накопичення неактивних стосовно транспорту кисню дисгемоглобінів (dysHb) відіграє важливу роль у забезпеченні кисневотранспортної функції гемоглобіну. В попередніх дослідженнях було показано вірогідне зниження рівня загального гемоглобіну і оксигемоглобіну за умов споживання енергетика.

Проведені нами дослідження лігандів гемоглобіну за умов вживання енергетика вказують на високий рівень неактивних форм гемоглобіну, особливо на 10-у, 20-у та 30-у добу дослідження.

Для створення повного уявлення про динаміку змін у системі гемоглобіну за умов споживання енергетика проведено аналіз неактивних дериватів гемоглобіну серед інших форм, а також загального гемоглобіну. На рис. 4.7 показано співвідношення між лігандними формами гемоглобіну.

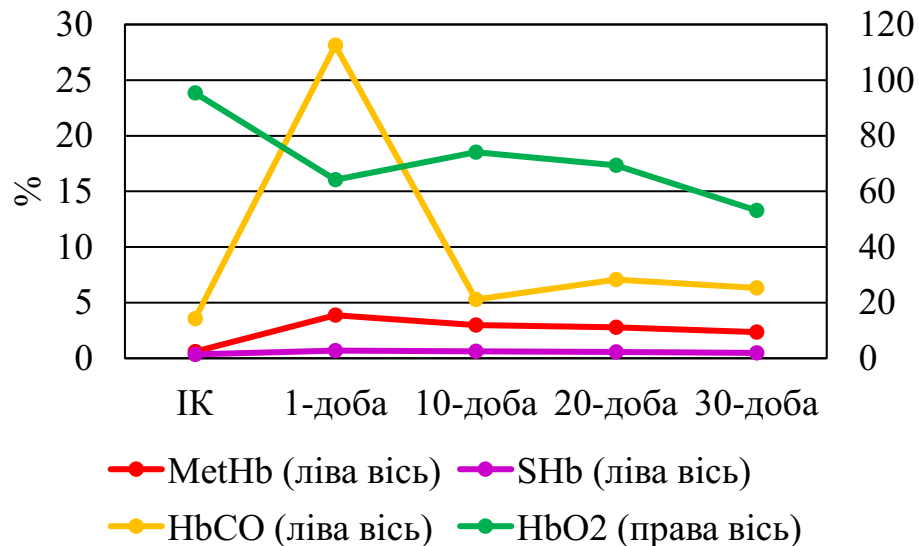


Рисунок 4.7 – Вміст лігандних форм гемоглобіну за умов споживання енергетичного напою (%), (M±m) (n=7)

Аналіз одержаних результатів приводить до висновку, що за умов споживання енергетика відбуваються вагомі зміни в лігандному спектрі гемоглобіну, які проявляються високим рівнем неактивних дериватів гемоглобіну, що створює передумови до виникнення гіпоксії і порушення кисневого гомеостазу в організмі.

Зміни в лігандному спектрі гемоглобіну зумовили інтерес до вивчення кисневої ємності крові у дослідних тварин.

4.3 Киснева ємність крові за умов впливу енергетичного напою

Дослідження кисневої ємності крові у тварин, які споживали енергонапій, засвідчують достовірне зниження цього показника на 1-у, 20-у та 30-у доби на 7 %, 21 % ($p < 0,001$) та 24 % ($p < 0,001$) відповідно порівняно з інтактним контролем (рис. 4.8).

Порівняльний аналіз результатів вказує на різнонаправлений характер змін, зокрема, збільшення цього показника на 10-у добу – на 6 % та зниження

на 20-у та 30-у доби на 15 % ($p < 0,001$) та 18 % ($p < 0,001$) відносно показників у тварин на 1-шу добу спостереження.

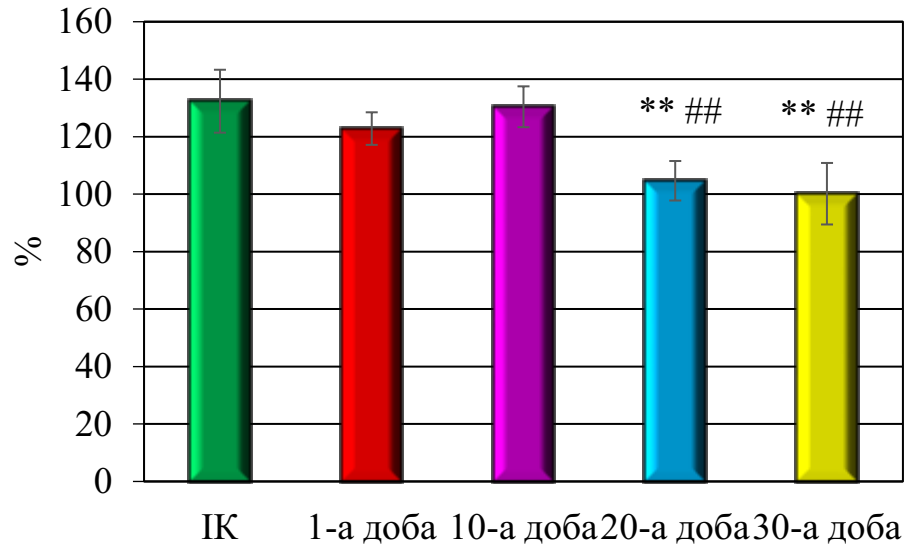


Рисунок 4.8 – Киснева ємність крові лабораторних щурів за умов споживання енергонапою, % ($M \pm m$) ($n=7$).

Таким чином, отримані дані засвідчують достовірні зміни лігандних форм гемоглобіну, що можуть спричинити порушення як кисневотранспортної (HbO_2), так і захисної функцій гемоглобіну (метHb). Внаслідок цього порушується киснева ємність крові, що може призвести до розвитку гіпоксії і розладів метаболічних процесів.

Результати, які наведені у цьому розділі, були опубліковані в наукових публікаціях автора: статті [14, 16] і тези [11, 18 Додатку А].

РОЗДІЛ 5

СТАН ПРО- ТА АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ЕРИТРОЦИТІВ ЗА УМОВ ВПЛИВУ ЕНЕРГЕТИЧНОГО НАПОЮ

5.1 Окиснювальна модифікація білків та пероксидна модифікація ліпідів еритроцитів за умов споживання енергетичного напою

З літературних джерел [181, 217] відомо, що підвищений вміст продуктів пероксидного окиснення білків (ПОБ) та ліпідів (ПОЛ) в організмі, пригнічує антиоксидантну систему та підвищує окиснення білкових сполук під дією вільних радикалів, які утворюються в процесі їх метаболізму та призводить до незворотного ушкодження мембранних структур, порушення їх проникності.

Зважаючи на отримані дані стосовно лігандних форм гемоглобіну, кисневої ємності крові та змін у периферичній крові представляє інтерес дослідження інтенсивності процесів ПОБ та ПОЛ.

Як видно з наведених даних (табл. 5.1), спостерігалось вірогідне зростання на 1-у, 10-у, 20-у та 30-у доби рівня альдегідопохідних (356 нм) на 15 % ($p < 0,001$) 22 % ($p < 0,05$), 9 %, 7 % та кетопохідних нейтрального характеру (370 нм) на 27 % ($p < 0,05$), 29 % ($p < 0,05$), 24 % ($p < 0,05$) та 21 % відповідно, а також зростання рівня альдегідопохідних (430 нм) на 24 % ($p < 0,05$), 32 % ($p < 0,05$), 20 % ($p < 0,05$), 13 % та кетопохідних основного характеру (530 нм) на 25% ($p < 0,001$), 35 % ($p < 0,001$) 22 % ($p < 0,001$) та 13 % ($p < 0,05$) відповідно порівняно з інтактним контролем.

При цьому слід зауважити, що на 20-у та 30-у доби спостерігалось достовірне зниження рівня альдегідопохідних на 11 % ($p < 0,05$), 10 % ($p < 0,05$) відповідно та незначне зниження кетопохідних нейтрального характеру відносно показників у тварин на 1-шу добу спостереження. Також нами встановлено зниження рівня альдегідо- та кетопохідних основного характеру

на 20-у та 30-у доби на 10 % ($p < 0,05$), 15 % ($p < 0,05$) та 10 % ($p < 0,05$), 16 % ($p < 0,001$) відносно показників у тварин на 1-шу добу спостереження.

Таблиця 5.1 – Вміст продуктів окисної модифікації білків еритроцитів лабораторних щурів за умов споживання енергетика, ($M \pm m$) ($n=7$)

| Групи тварин | Показники | | | |
|--------------------|---------------------------------|-----------------------|------------------------------|-----------------------|
| | Продукти нейтрального характеру | | Продукти основного характеру | |
| | 356 нм альдегідо-похідні | 370 нм кетоні-похідні | 430 нм альдегідо-похідні | 530 нм кетоні-похідні |
| Інтактний контроль | 0,229±0,014 | 0,283±0,078 | 0,179±0,043 | 0,135±0,013 |
| 1-а доба | 0,279±0,026* | 0,366±0,05* | 0,237±0,026* | 0,182±0,016** |
| 10-а доба | 0,264±0,003** | 0,358±0,007* | 0,222±0,003* | 0,169±0,003** |
| 20-а доба | 0,249±0,005# | 0,350±0,013* | 0,215±0,001*# | 0,164±0,002** # |
| 30-а доба | 0,244±0,001# | 0,342±0,018 | 0,202±0,001# | 0,153±0,002* ## |

Примітка. Тут і в наступних таблицях розділу: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,001$ – достовірність порівняно з показниками інтактного контролю; # – $p < 0,05$, ## – $p < 0,001$ – достовірність порівняно з показниками 1-ї доби.

Накопичення продуктів ОМБ еритроцитів може призвести до порушень як структурних білків, так і ензимів.

Інтенсивність ПОЛ оцінювали за рівнем проміжних продуктів – дієнових конюгатів (ДК) та кінцевих продуктів – за реакцією з тіобарбітуровою кислотою (ТБК-АП).

Дослідження рівня ТБК-активних продуктів в еритроцитах на 1-у, 10-у та 20-у доби після завершення прийому енергонапою показало підвищення їх вмісту на 18 % ($p < 0,05$) 21 % ($p < 0,001$) та 13 % ($p < 0,001$) і незначне

підвищення на 30-ту добу порівняно з інтактним контролем. Також спостерігалось підвищення вмісту ДК в еритроцитах на 1-у, 10-у, 20-у та 30-ту доби на 115 % ($p<0,001$), 135 % ($p<0,001$), 90 % ($p<0,001$) та 35 % ($p<0,001$) відповідно. Порівняльний аналіз показує, що після відміни енергетика спостерігалось поступове зниження рівня ТБК-активних продуктів та ДК в еритроцитах на 20-ту та 30-ту доби на 6 % та 12 % ($p<0,05$) відповідно та на 24-74 % ($p<0,05$, $p<0,001$) відносно показників у тварин на 1-шу добу спостереження (табл. 5.2).

Таблиця 5.2 – Вміст продуктів перекисного окислення ліпідів еритроцитів лабораторних щурів за умов споживання енергетика, ($M \pm m$) ($n=7$)

| Групи тварин | Показники | |
|--------------------|-------------------------------|----------------------------------|
| | Дієнові кон'югати, у.о./мл | ТБК-активні продукти нмоль/мл |
| Інтактний контроль | 0,20±0,02 | 0,67±0,04 |
| 1-а доба | 0,47±0,06** | 0,81±0,06** |
| 10-а доба | 0,43±0,01** | 0,79±0,12* |
| 20-а доба | 0,38±0,03** # | 0,76±0,04 |
| 30-а доба | 0,27±0,02** ## | 0,72±0,08# |

Аналіз одержаних результатів вказує на активацію процесів вільнорадикального окиснення в еритроцитах експериментальних тварин, які споживали енергонапій. Накопичення ТБК-активних продуктів та ДК може призвести до ушкодження ліпідного матриксу біомембран, що в свою чергу призведе до порушення структурно-функціональної цілісності мембран еритроцитів.

5.2 Стан ендogenousної інтоксикації еритроцитів за умов споживання енергетичного напою

Накопичення продуктів пероксидації білків та ліпідів у еритроцитах зумовлює активацію ендogenousної інтоксикації. Проведені біохімічні дослідження свідчать про інтенсифікацію ендogenousної інтоксикації, що супроводжується накопиченням МСМ у всіх дослідних групах в порівнянні з інтактним контролем (табл. 5.3). Так, на 1-у, 10-у, 20-у та 30-у доби достовірно зростає рівень МСМ₂₅₄ на 35 % ($p < 0,001$), 22 % ($p < 0,001$), 12 % ($p < 0,05$) та 6 % відповідно в порівнянні з інтактним контролем.

Таблиця 5.3 – Стан ендogenousної інтоксикації еритроцитів лабораторних щурів за умов споживання енергетика, ($M \pm m$) ($n=7$)

| Групи тварин | Показники | |
|--------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | МСМ ₂₅₄ , ум.од. | МСМ ₂₈₀ , ум.од. |
| Інтактний контроль | 0,108±0,006 | 0,017±0,002 |
| 1-а доба | 0,145±0,017* | 0,081±0,017** |
| 10-а доба | 0,132±0,006** | 0,051±0,015** # |
| 20-а доба | 0,121±0,007* # | 0,030±0,004** ## |
| 30-а доба | 0,114±0,004 # | 0,024±0,003** ## |

Також спостерігалось збільшення рівня МСМ₂₈₀ на 1-у, 10-у, 20-у та 30-у доби на 377 % ($p < 0,001$), 200 % ($p < 0,001$), 114 % ($p < 0,001$) та 41 % ($p < 0,001$) відповідно в порівнянні з інтактним контролем.

Відомо, що накопичення МСМ залежить від інтенсивності протеолізу білків та зменшення швидкості їх виведення через органи дезінтоксикації. Після припинення споживання енергетика спостерігається зниження на 10-у,

20-у та 30-у доби МСМ₂₅₄ на 9 %, 17 % ($p < 0,05$) та 21 % ($p < 0,05$) та МСМ₂₈₀ на 37 % ($p < 0,05$), 63 % ($p < 0,001$) та 70 % ($p < 0,001$) відносно показників у тварин на 1-шу добу спостереження.

Для оцінки ендогенної інтоксикації інформативним показником виступає також еритроцитарний індекс інтоксикації (ЕІ). Отримані дані вказують на зростання ЕІ на 1-у, 10-у, 20-у та 30-у доби на 108 % ($p < 0,001$), 78 % ($p < 0,001$), 53 % ($p < 0,001$) та 28 % ($p < 0,001$) відповідно в порівнянні з інтактним контролем.

Водночас нами відмічено також зниження ЕІ на 10-у, 20-у та 30-у доби на 15 % ($p < 0,001$), 26 % ($p < 0,001$) та 39 % ($p < 0,001$) відносно показників у тварин на 1-шу добу спостереження (рис. 5.1).

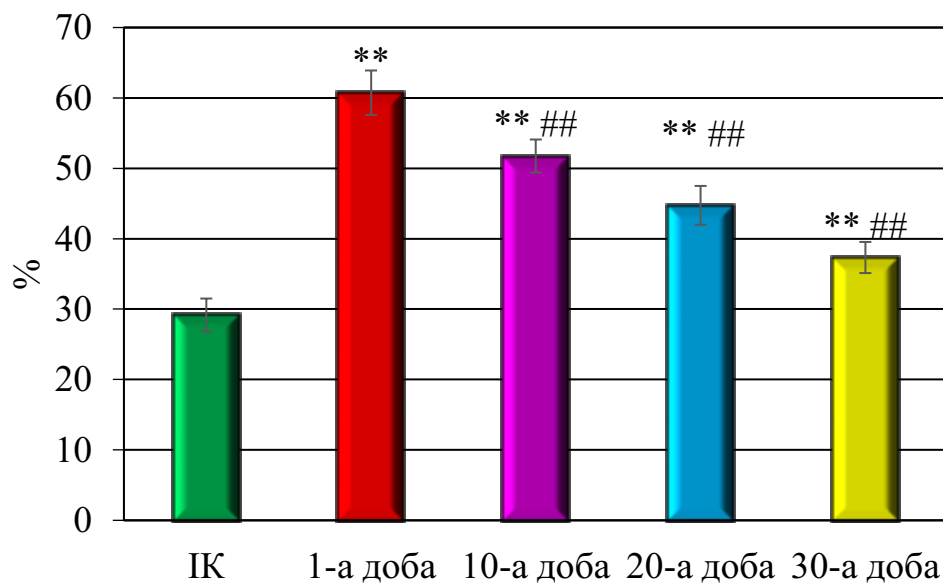


Рисунок 5.1 – Еритроцитарний індекс інтоксикації еритроцитів

експериментальних тварин за умов споживання енергетика, ($M \pm m$) ($n=7$)

Примітка. Тут і в наступних рисунках розділу: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,001$ – достовірність порівняно з показниками інтактного контролю; # – $p < 0,05$, ## – $p < 0,001$ – достовірність порівняно з показниками 1-ї доби.

Таким чином, підвищення ЕІ свідчить про зростання сумарного токсичного впливу на еритроцити.

5.3 Активність антиоксидантного захисту еритроцитів за умов споживання енергетичного напою

Підтримання гомеостазу червонокривців зокрема, і організму в цілому, визначається станом антиоксидантного захисту еритроцитів. У зв'язку з цим, нами проведено вивчення активності супероксиддисмутази, каталази та ензимів глутатіонової системи (табл. 5.4).

Таблиця 5.4 – Активність антиоксидантного захисту еритроцитів за умов споживання енергетичного напою, ($M \pm m$) (n=7).

| Групи тварин | Показники | | | | |
|--------------------|---|-----------|------------------------------|---|--------------------------------|
| | КАТ, мгН ₂ О ₂ /мл | СОД, % | ГП, мкмоль/хв мг білка | ГР, нмоль НАДФН ₂ /хв мг білка | Г-S-T, нмоль/хв мг білка |
| Інтактний контроль | 13,96± | 58,19± | 0,89± | 0,88± | 5,55± |
| | 2,13 | 4,63 | 0,06 | 0,03 | 0,31 |
| 1-а доба | 28,34± | 63,85± | 0,72± | 0,57± | 1,66± |
| | 1,22** | 4,07* | 0,08** | 0,03** | 0,16** |
| 10-доба | 18,38± | 52,47± | 0,78± | 0,57± | 3,50± |
| | 0,13** ## | 0,98* ## | 0,01** | 0,04** | 0,32** ## |
| 20-доба | 17,70± | 43,50± | 0,81± | 0,82± | 4,09± |
| | 0,28** ## | 4,11** ## | 0,01* # | 0,01** ## | 0,28** ## |
| 30-доба | 16,76± | 46,23± | 0,83± | 0,89± | 4,41± |
| | 0,95** ## | 9,55* ## | 0,01* # | 0,01## | 0,30** ## |

Каталаза, яка не потребує енергії для активації, є високоефективним ензимом. Разом з СОД та іншими антиоксидантними ензимами вона захищає організм від високотоксичних кисневих радикалів. Результати проведеного

дослідження вказують на зміни в активності еритроцитарної КАТ (рис. 5.2). Нами встановлено, що під дією енергонапою спостерігається збільшення активності КАТ в еритроцитах, особливо на 1-у добу – на 103 % ($p < 0,001$), 10-у добу – 32 % ($p < 0,001$), 20-у добу – 27 % ($p < 0,001$), 30-у добу – 20% ($p < 0,001$) в порівнянні з інтактним контролем. Після відміни енергетика достовірно нижчою залишається активність ензиму на 10-у, 20-у та 30 -у доби спостереження – на 35 % ($p < 0,001$), 38 % ($p < 0,001$) та 41 % ($p < 0,001$) відносно показників у тварин на 1-шу добу спостереження.

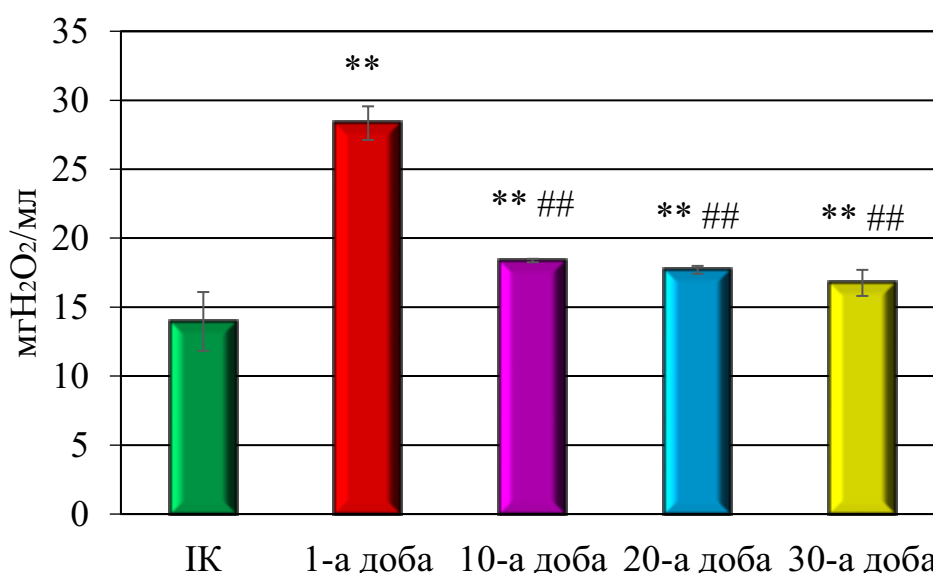


Рисунок 5.2 – Зміна активності каталази в еритроцитах лабораторних щурів за умов споживання енергонапою, мгН₂О₂/мл ($M \pm m$) (n=7)

СОД в крові виконує роль антиоксиданта, контролюючи рівень вільних радикалів, що забезпечує нормальне функціонування кисневого середовища в організмі. Отримані дані свідчать про достовірне збільшення активності СОД в еритроцитах на 1-у добу на 10 % ($p < 0,05$) та зниження на 10-у, 20-у та 30-у доби на 10 % ($p < 0,05$), 25 % ($p < 0,001$) та 21 % ($p < 0,05$) відповідно у дослідних тварин порівняно з інтактним контролем (рис. 5.3). Після завершення прийому енергетика спостерігалось зниження активності цього

ензиму на 10-у, 20-у та 30-у доби на 18 % ($p < 0,001$), 32 % ($p < 0,001$) та 28 % ($p < 0,001$) відносно показників у тварин на 1-шу добу спостереження.

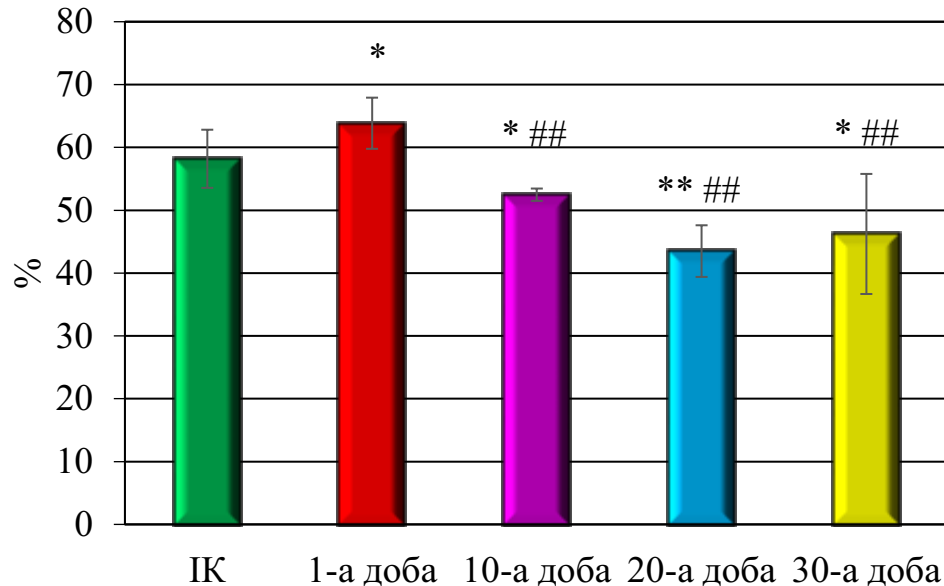


Рисунок 5.3 – Зміна активності супероксиддисмутази в еритроцитах лабораторних щурів за умов споживання енергонапою, % ($M \pm m$) ($n=7$)

Дослідження рівня загального білка еритроцитів, який використовували для перерахунку активності ензимів глутатіонової системи, показало підвищення його на всіх періодах експерименту, а саме на 1-у, 10-у, 20-у та 30-у доби в 3,6 ($p < 0,001$), 3,1 ($p < 0,001$), 4,2 ($p < 0,001$) та 2,4 ($p < 0,001$) рази відповідно у дослідних тварин порівняно з інтактним контролем (рис. 5.4). Після завершення вживання енергетичного напою спостерігалось зниження рівня цього показника на 10-у та 30-у доби в 1,2 ($p < 0,05$) та 1,5 ($p < 0,05$) рази та підвищення на 20-у добу в 1,2 ($p < 0,001$) рази відносно показників у тварин на 1-шу добу спостереження. Збільшення рівня загального білка може бути пов'язане з пошкодженням клітинної мембрани еритроцитів або їх розпадом.

Результати дослідження дозволили встановити пригнічення антиоксидантного захисту еритроцитів, які проявлялись зниженням активності глутатіонпероксидази (ГП), зокрема найбільшою мірою виражені

ці зміни у тварин на 1-у добу – на 19 % ($p < 0,001$) одразу після завершення споживання енергонапою.

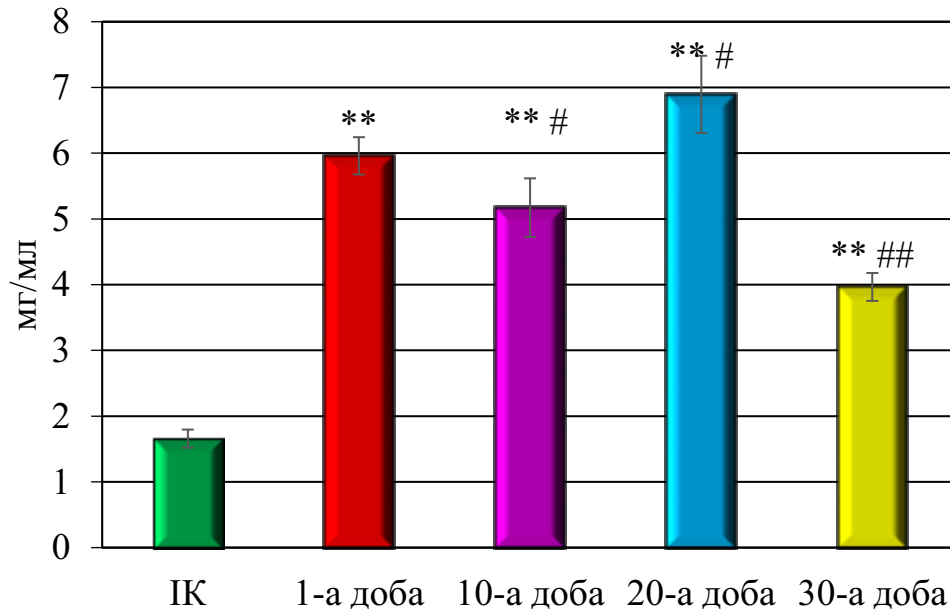


Рисунок 5.4 – Рівень загального білка в еритроцитах лабораторних щурів за умов споживання енергонапою, мг/мл ($M \pm m$) ($n=7$).

Впродовж наступних періодів спостереження активність цього ензиму була нижчою від показників інтактного контролю на 12 % ($p < 0,001$), 10 % ($p < 0,001$) та 8 % ($p < 0,05$) відповідно (рис. 5.5). Водночас, порівняльний аналіз показує, що після відміни енергетика спостерігається підвищення активності ГП на 20-у та 30-у доби на 12 % ($p < 0,05$) та 15 % ($p < 0,001$) відносно показників у тварин на 1-шу добу спостереження. Однак ці показники є достовірно нижчими ($p < 0,001$) від значень в інтактного контролю.

Функціонування глутатіонпероксидази тісно пов'язане з активністю глутатіонредуктази (ГР), яка забезпечує відновлення окисненого глутатіону. У результаті проведених досліджень встановлено зниження активності глутатіонредуктази на 1-у, 10-у та 20-у доби у 1,6 ($p < 0,001$), 1,5 ($p < 0,001$) та 1,1 рази відповідно та незначне підвищення на 30-ту добу спостереження

порівняно з інтактним контролем (рис. 5.6). Після завершення вживання енергетика нами встановлено підвищення активності даного ензиму на 20-у та 30-у доби в 1,4 ($p<0,001$) та 1,6 ($p<0,001$) рази відносно показників у тварин на 1-шу добу спостереження.

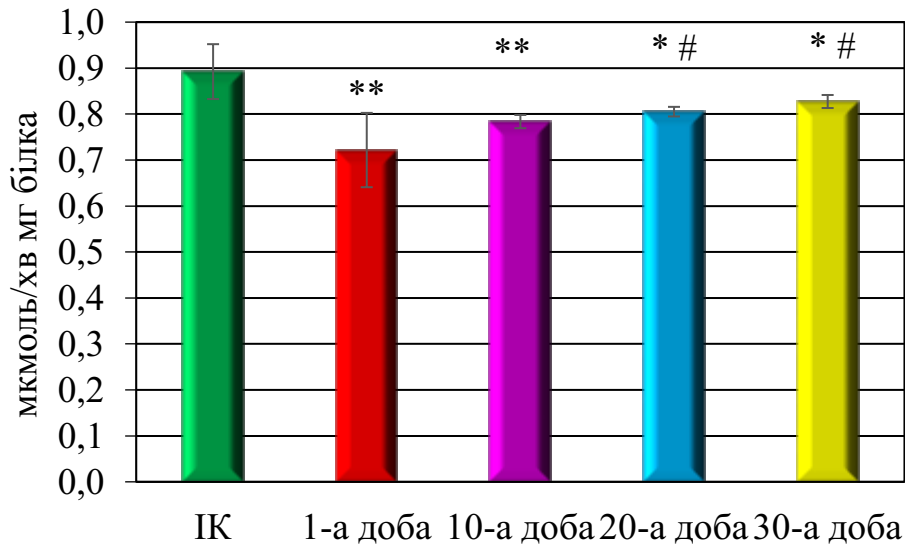


Рисунок 5.5 – Вплив енергетичного напою на активність глутатіонпероксидази еритроцитів лабораторних щурів, мкмоль/хв мг білка ($M\pm m$) ($n=7$)

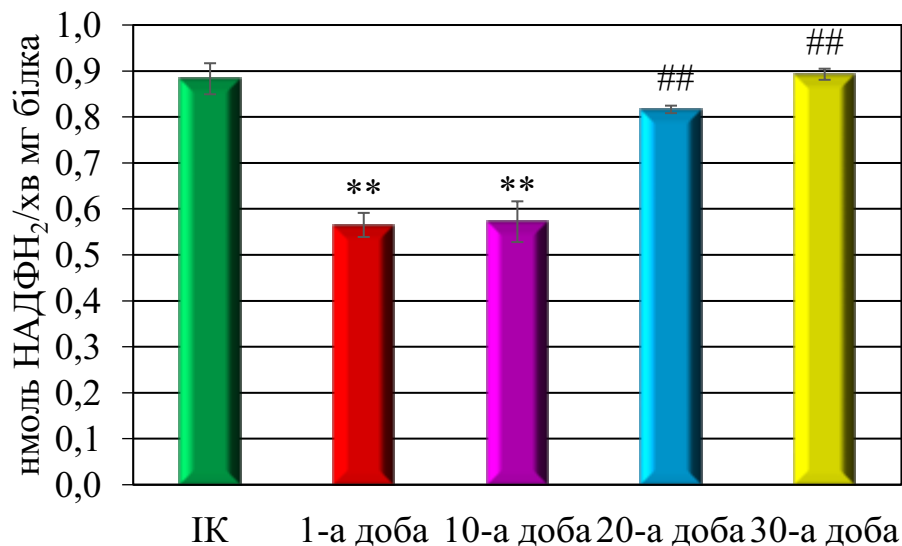


Рисунок 5.6 – Вплив енергетичного напою на активність глутатіонредуктази еритроцитів лабораторних щурів, нмоль НАДФН₂/хв мг білка ($M\pm m$) ($n=7$)

Важливим компонентом антиоксидантного захисту є глутатіон-S-трансфераза (GST). Вона приймає активну участь в інактивації великої кількості різних токсичних сполук шляхом кон'югації з глутатіоном та сприяє виведенню їх з організму. Під дією енергонапою спостерігається пригнічення її активності упродовж всього періоду спостереження, найбільш істотні зміни відмічено на 1-у добу – в 3,3 раза ($p < 0,001$) в порівнянні з інтактним контролем (рис. 5.7). У наступні періоди експерименту активність цього ензиму зростала у 2,1 – 2,7 раза відносно показників у тварин на 1-шу добу спостереження, водночас була істотно нижчою від показників інтактного контролю.

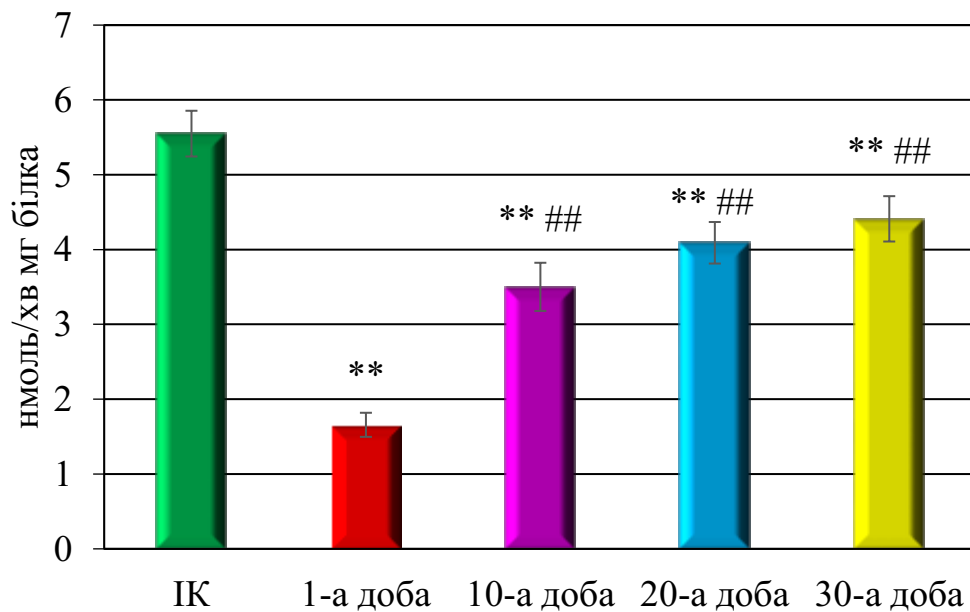


Рисунок 5.7 – Вплив енергетичного напою на активність глутатіон-S-трансферази еритроцитів лабораторних щурів, нмоль/хв мг білка ($M \pm m$)
($n=7$)

Таким чином, вивчення антиоксидантного захисту еритроцитів, які одними з перших реагують на різноманітні впливи, засвідчило збільшення активності КАТ та СОД одразу після завершення споживання, що можна розглядати як адаптивний синтез цих антиоксидантних ензимів. Поряд із

цим, встановлено зниження активності ензимів глутатіонової системи упродовж всього періоду спостереження та КАТ і СОД у пізні періоди експерименту, що може вказувати на виснаження антиоксидантного захисту еритроцитів після прийому енергонапою та розвиток оксидативного стресу.

Результати, які наведені у цьому розділі, були опубліковані в наукових публікаціях автора: статтях [14, 15, 17, 182] і тезах [8, 9, 16, 17, 20 Додатку А].

РОЗДІЛ 6

ВПЛИВ ЕНЕРГЕТИЧНОГО НАПОЮ НА ВУГЛЕВОДНИЙ ОБМІН В ЕРИТРОЦИТАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН

6.1 Дослідження метаболітів вуглеводного обміну за умов споживання енергетичного напою

У результаті проведених досліджень встановлено підвищення рівня глюкози на 1-у, 10-у та 20-у доби в 1,8 ($p < 0,001$), 1,5 ($p < 0,001$) та 1,5 ($p < 0,001$) рази відповідно порівняно з інтактним контролем (рис. 6.1). Високий рівень глюкози може призводити до функціональних та структурних змін у еритроцитах, зокрема, неензимативне глікозилювання білкових компонентів гемоглобіну і ензимів.

Порівняльний аналіз показує, що після відміни енергетика спостерігалось поступове зниження рівня глюкози на 10-ту, 20-ту та 30-ту доби в 1,2, 1,2 та 1,8 ($p < 0,001$) рази відносно показників у тварин на 1-шу добу спостереження (рис. 6.1).

Дослідження вмісту фруктози в еритроцитах щурів показало її підвищення на 1-у, 10-у 20-у та 30-у доби в 1,6 ($p < 0,001$), 1,3 ($p < 0,001$), 1,2 ($p < 0,05$), та 1,17 ($p < 0,05$) рази відповідно порівняно з інтактним контролем (рис. 6.2). Після відміни енергетика спостерігалось поступове зниження рівня фруктози на 10-ту, 20-ту та 30-ту доби в 1,2 ($p < 0,001$), 1,3 ($p < 0,001$) та 1,4 ($p < 0,001$) рази відносно показників у тварин на 1-шу добу спостереження. Високий рівень фруктози може призвести до утворення продуктів глікації.

Дослідження вмісту показників обміну глюкози за умов споживання енергетика дозволили встановити збільшення рівня пірувату в гемолізаті еритроцитів всіх дослідних груп, найбільш виражене на 1-шу добу після завершення прийому – у 3,9 ($p < 0,001$) рази порівняно з інтактним контролем (табл. 6.1).

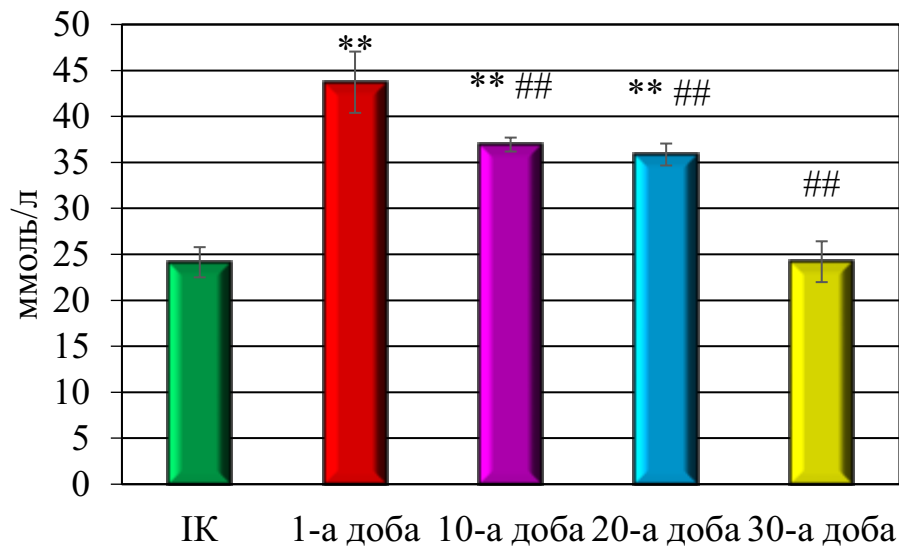


Рисунок 6.1 – Концентрація глюкози в еритроцитах лабораторних щурів під впливом енергетичного напою, ммоль/л ($M \pm m$) ($n=7$)

Примітка. Тут і в наступних рисунках розділу: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,001$ – достовірність порівняно з показниками інтактного контролю; # – $p < 0,05$, ## – $p < 0,001$ – достовірність порівняно з показниками 1-ї доби.

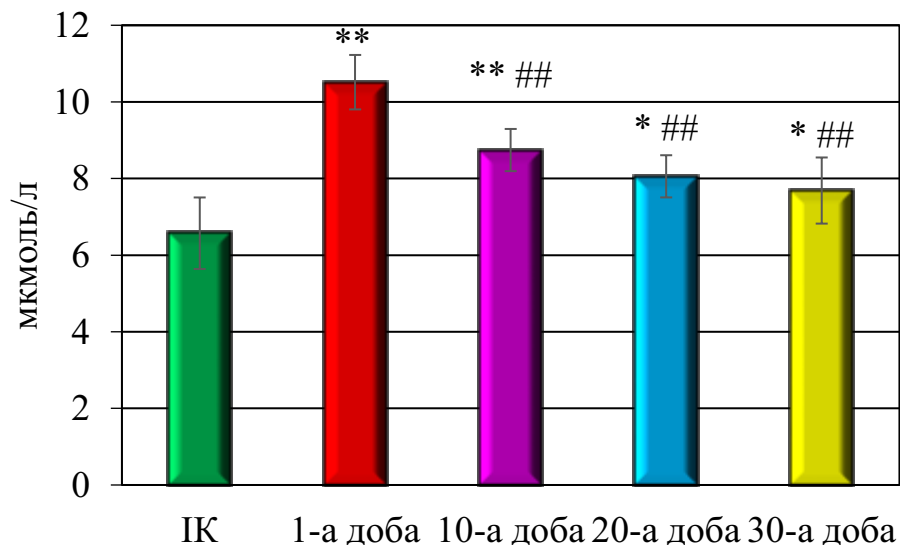


Рисунок 6.2 – Концентрація фруктози в еритроцитах лабораторних щурів під впливом енергетичного напою, ммоль/л ($M \pm m$) ($n=7$)

У наступні періоди спостереження спостерігалось зниження рівня пірувату на 20-у та 30-у доби в 1,3 ($p < 0,001$) та 2,9 ($p < 0,001$) раза відносно показників у тварин на 1-шу добу спостереження. При цьому варто зауважити, що навіть через 30 діб цей показник залишається вищим

порівняно з інтактним контролем. Підвищення вмісту пірувату найчастіше свідчить про дисбаланс між системами, які постачають кисень, та його потребою. Рівень пірувату може зростати у разі декомпенсації гіпоксичних станів.

Таблиця 6.1 – Вміст метаболітів вуглеводного обміну в еритроцитах лабораторних щурів за умов споживання енергетика, (M ± m) (n=7).

| Групи тварин | Показники | | |
|--------------------|------------------|-------------------|-----------------|
| | Піруват, ммоль/л | L-лактат, ммоль/л | АТФ, ммоль Рі/л |
| Інтактний контроль | 0,04±0,01 | 1,17±0,06 | 0,21±0,01 |
| 1-а доба | 0,14±0,01** | 2,26±0,08** | 0,30±0,01** |
| 10-а доба | 0,13±0,02** | 1,84±0,05** ## | 0,28±0,02** # |
| 20-а доба | 0,11±0,01** ## | 1,46±0,06** ## | 0,28±0,04* |
| 30-а доба | 0,05±0,01* ## | 1,28±0,05* # | 0,24±0,01* ## |

Примітка. Тут і в наступних таблицях розділу: * – p < 0,05, ** – p < 0,001 – достовірність порівняно з показниками інтактного контролю; # – p < 0,05, ## – p < 0,001 – достовірність порівняно з показниками 1-ї доби.

Вивчення динаміки змін іншого метаболіту – лактату за умов споживання енергетика, засвідчило збільшення цього показника на 1-у, 10-у, 20-у та 30-у доби в 1,9 (p<0,001), 1,6 (p<0,001), 1,2 (p<0,001) та 1,1 (p<0,05) рази відповідно порівняно з інтактним контролем (табл. 6.1). Порівняльний аналіз засвідчив, що у наступні періоди експерименту спостерігається зниження рівня лактату на 10-у, 20-у та 30-у доби в 1,2 (p<0,001), 1,5 (p<0,001) та 1,8 рази (p<0,05) відносно показників у тварин на 1-шу добу спостереження.

Рівень лактату впливає на концентрацію гліколітичних метаболітів таких як фруктозо-6-фосфат, фруктозо-1,6-дифосфат, фосфоенолпіруват. Він регулює активність алостеричного ензиму гліколізу – фосфофруктокінази.

Відомо, що її інгібування відбувається шляхом дисоціації субодиниць при рН 7,4.

Дослідження кінцевого метаболіту енергетичного обміну показали, що споживання енергонапою призводить до підвищення рівня АТФ в гемолізаті еритроцитів на 1-у, 10-у, 20-у та 30-у добу в 1,4, ($p < 0,001$), 1,3 ($p < 0,001$), 1,3 ($p < 0,05$) та 1,1 рази ($p < 0,05$) відповідно в порівнянні з інтактним контролем (див. табл. 6.1).

Після відміни енергетика спостерігається достовірне зниження вмісту АТФ на 10-ту ($p < 0,05$) та 30-ту доби ($p < 0,001$) відносно показників у тварин на 1-шу добу спостереження. Отримані дані вказують, що при споживанні енергонапою в еритроцитах інтенсивно відбувається гліколітична утилізація глюкози, що може мати компенсаторно-адаптивні реакції. Оскільки в еритроцитах спостерігається підвищення енергообміну, це може призвести до збільшення утворення НАДН₂, а також 2,3-дифосфогліцерату, який знижує спорідненість кисню з гемоглобіном та дисоціації оксигемоглобіну.

6.2 Активність лактатдегідрогенази та глюкозо-6-фосфатдегідрогенази еритроцитів за умов споживання енергетичного напою

Для характеристики енергетичного обміну еритроцитів важливим є дослідження активності лактатдегідрогенази, яка приймає участь в анаеробному гліколізі, з утворенням відновленого нікотинамідаденіндинуклеотиду (НАДН₂) для збереження іонів заліза у двохвалентному стані, постійного відновлення метгемоглобіну, а отже, здійснюється в певній мірі захист еритроцитів від утворення активних форм кисню і підтримання цілісності мембрани.

Попередньо було показано, що за умов споживання енергетика спостерігалось накопичення MetHb, тому доцільним було вивчення активності лактатдегідрогенази еритроцитів за умов цього впливу.

Нами встановлено, що під дією енергонапою спостерігається збільшення активності ЛДГ на 1-у, 10-у, 20-у та 30-у доби в 2,6, ($p < 0,001$), 1,8 ($p < 0,001$), 1,4 ($p < 0,001$) та 1,3 рази ($p < 0,001$) відповідно в порівнянні з інтактним контролем (рис. 6.3). Після завершення прийому енергетика спостерігалось зниження активності цього ензиму на 10-у, 20-у та 30-у доби в 1,4 ($p < 0,001$), 1,9 ($p < 0,001$) та 2,1 рази ($p < 0,001$) відносно показників у тварин на 1-шу добу спостереження. Зміни активності лактатдегідрогенази в еритроцитах можуть відбуватись внаслідок індуктивного синтезу як пристосувальні реакції мобілізації енергетичних ресурсів для максимального утворення АТФ.

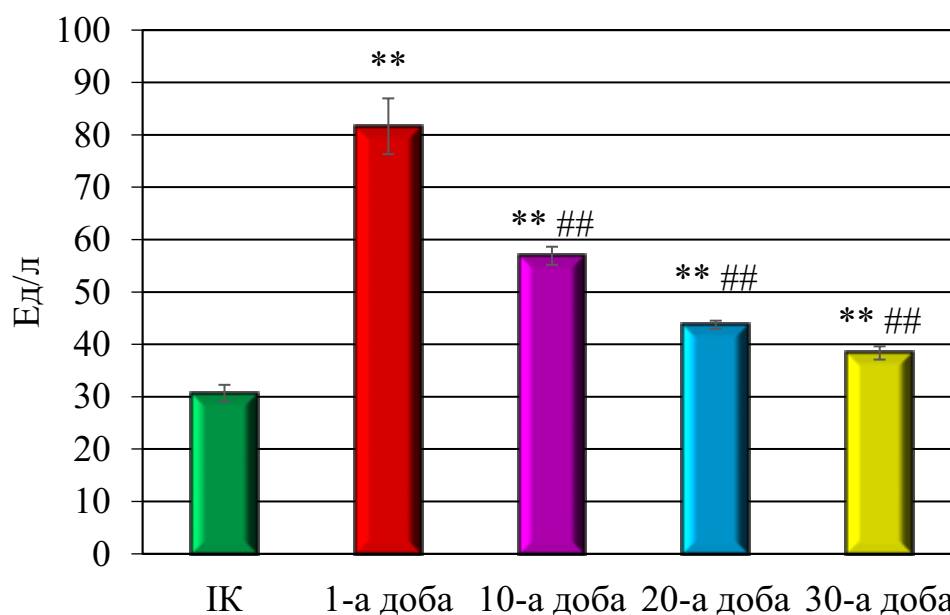


Рисунок 6.3 – Активність лактатдегідрогенази в еритроцитах лабораторних щурів під впливом енергетичного напою, Ед/л ($M \pm m$) ($n=7$)

Однак, навіть при підвищенні активності ЛДГ спостерігається високий рівень MetHb, що дозволяє припустити про вичерпання резервів відновленого НАД. Очевидно, що адаптивне збільшення активності ЛДГ не вистачає для зниження утвореного метгемоглобіну під час інтоксикації.

Для еритроцитів характерна висока інтенсивність іншого шляху окиснення глюкози – пентозофосфатного шляху. Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа -основний ензим ПФШ, яка каталізує утворення відновленого НАДФН₂, необхідного для протидії перекисному окисненню ліпідів еритроцитарних мембран і функціонування системи антиоксидантного захисту, зокрема переходу окисленого глутатіону у відновлену форму. Відновлений глутатіон потрібний для зв'язування активних форм кисню, запобігає окисному пошкодженню білків, ліпідів, ДНК, РНК та інших молекул у всіх клітинах. Отримані результати вказують на зниження активності Г6ФДГ на всіх етапах дослідження за умов вживання енергонапою, на 1-у добу – 42 % (p<0,001), 10-у добу – 31 % (p<0,001), 20-у добу – 22 % (p<0,001) та 30-у добу – 9 % порівняно з інтактним контролем (рис. 6.4).

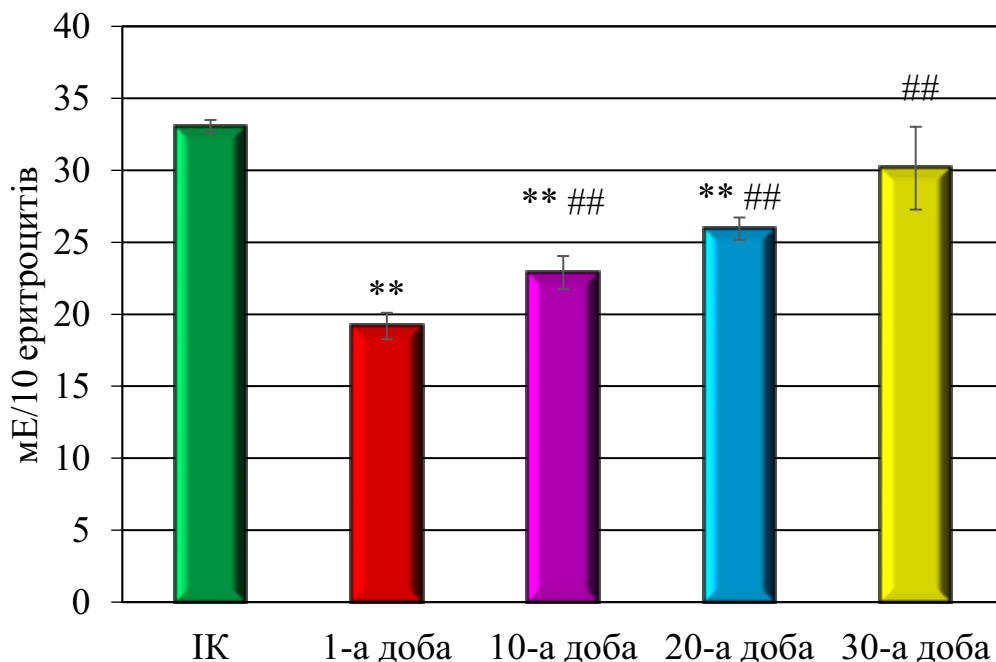


Рисунок 6.4 – Активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази в еритроцитах лабораторних щурів під впливом енергетичного напою, мЕ/10 еритроцитів (M±m) (n=7)

При цьому слід відмітити найбільш істотне зниження цього показника одразу після завершення споживання енергонапою. У наступні періоди спостереження Після відміни енергетика спостерігається збільшення активності даного ензиму на 10-у, 20-у та 30-у доби на 19 % ($p < 0,001$), 35 % ($p < 0,001$) та 57 % ($p < 0,001$) відносно показників у тварин на 1-шу добу спостереження, однак він не досягає показників інтактного контролю.

Зниження активності Г6ФДГ в еритроцитах за умов споживання енергонапою призведе до зниження синтезу НАДФН₂, як наслідок зміна структурної організації еритроцитів та розвиток гемолізу.

Результати, які наведені у цьому розділі, були опубліковані в наукових публікаціях автора: статті [18] і тезах [15, 19 Додатку А].

РОЗДІЛ 7

БІОЕЛЕМЕНТНИЙ СТАТУС ЕРИТРОЦИТІВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН ЗА УМОВ СПОЖИВАННЯ ЕНЕРГЕТИЧНОГО НАПОЮ

7.1 Вміст макро- та мікроелементів в еритроцитах експериментальних тварин за умов споживання енергетичного напою

Добре відомо, що метаболічні процеси залежать від рівня макро- та мікроелементів, що виступають у якості активаторів або інгібіторів ензимів, відіграють важливу роль в енергетичному обміні, процесах кровотворення, а також корегують інтенсивність процесів вільнорадикального окиснення.

До таких макроелементів відносять зокрема Магній – основний внутрішньоклітинний елемент, який приймає участь у вуглеводному, білковому і ліпідному обміні, регулює утворення енергії. Магній відіграє важливу роль в регуляції вмісту глюкози в крові шляхом впливу на вивільнення інсуліну з підшлункової залози. Магній є необхідним кофактором для функціонування понад 300 ензимних систем, включаючи Na^+ - K^+ -АТФазу, аденілатциклазу фосфофруктокіназу, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназу. Він регулює синтез ДНК, гліколіз, зменшуючи накопичення лактату, охоплює різні біохімічні процеси, підтримуючи енергетичний баланс та клітинну активність.

Проведені дослідження дозволили встановити зростання вмісту Магнію в еритроцитах за умов споживання енергетика тільки на 1-у добу в 1,1 рази, в усі наступні терміни відмічали зниження: на 10-у, 20-у та 30-у доби в 2,8 ($p < 0,001$), 3,5 ($p < 0,001$) та 8,5 ($p < 0,001$) рази відповідно в порівнянні з інтактним контролем (рис. 7.1). Після відміни енергетика на 10-у, 20-у та 30-у доби відбувалося зниження рівня цього елемента в 3,5 ($p < 0,001$), 4,4 ($p < 0,001$) та 10,7 ($p < 0,001$) рази відносно показників у тварин на 1-шу добу спостереження.

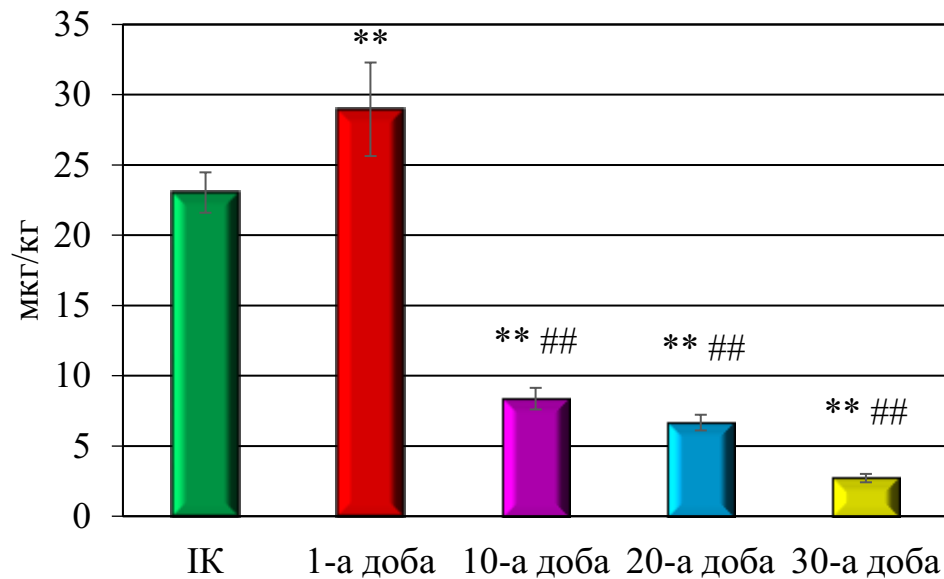


Рисунок 7.1 – Динаміка змін вмісту Mg в еритроцитах лабораторних щурів за умов споживання енергетичного напою, (мкг/кг) ($M \pm m$) ($n=7$)

Примітки. Тут і в наступних рисунках розділу: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,001$ – достовірність порівняно з показниками інтактного контролю; # – $p < 0,05$, ## – $p < 0,001$ – достовірність порівняно з показниками 1-ї доби.

Купрум – есенціальний мікроелемент, який приймає участь в енергетичному обміні шляхом підвищення процесів окиснення глюкози. Він виступає кофактором багатьох металоензимів, включаючи церулоплазмін, супероксиддисмутазу (Cu/Zn-СОД), забезпечуючи захист еритроциту від окислювальних пошкоджень.

Нами встановлено, що вміст регуляторного мікроелементу Купруму знижується на 1-у, 20-у та 30-у доби в 1,8 ($p < 0,001$), 1,2 ($p < 0,001$) та 1,1 ($p < 0,05$) раза відповідно в порівнянні з інтактним контролем (рис. 7.2). Після завершення прийому енергетика спостерігалось поступове достовірне зростання рівня даного мікроелементу у більш пізньому періоді спостереження: на 20-у та 30-ту доби в 1,4 ($p < 0,001$) та 1,7 ($p < 0,001$) раза відносно показників у тварин на 1-шу добу спостереження.

Ферум, який входить до складу гемоглобіну, приймає участь у транспорті кисню, він є складовою частиною ензимів, які забезпечують знешкодження різного роду токсинів, так як каталаза, трансферин.

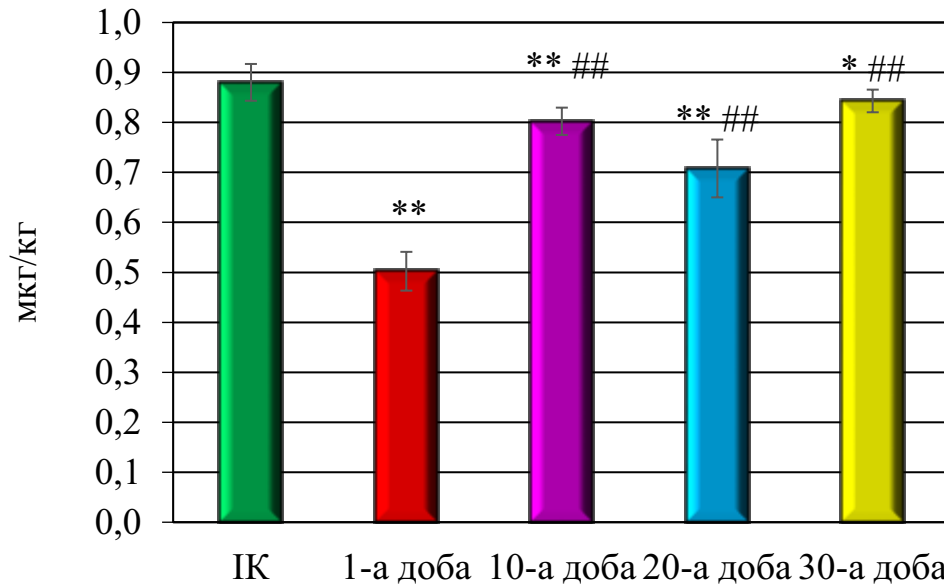


Рисунок 7.2 – Динаміка змін вмісту Cu в еритроцитах лабораторних щурів за умов споживання енергетичного напою, (мкг/кг) ($M \pm m$) ($n=7$)

Результати дослідження впливу енергетичного напою на рівень Феруму в еритроцитах експериментальних тварин вказують на зниження упродовж усього періоду дослідження: на 1-у добу – в 3 ($p < 0,001$) рази, на 20-у добу – в 1,4 ($p < 0,001$) рази та на 30-у добу – в 1,2 ($p < 0,001$) рази порівняно з інтактним контролем (рис. 7.3).

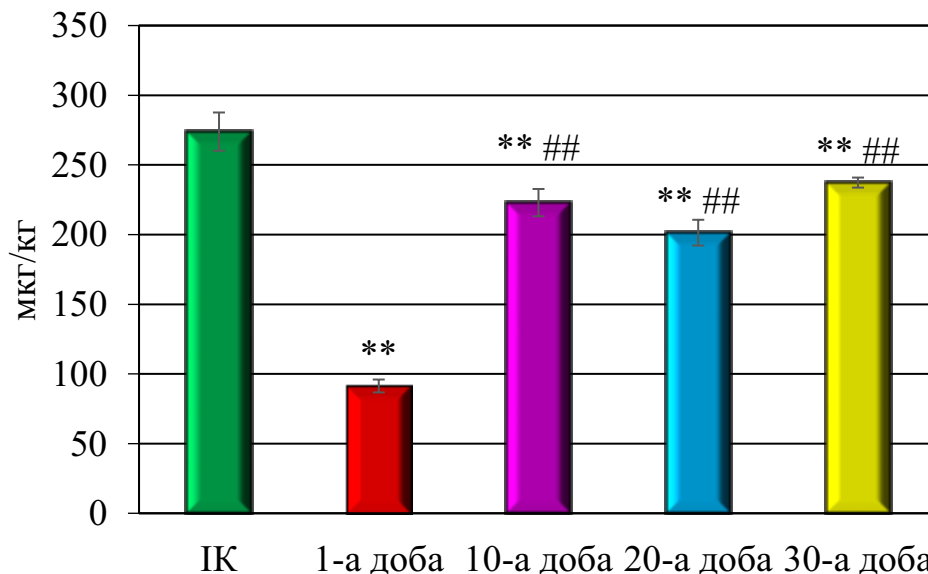


Рисунок 7.3 – Динаміка змін вмісту Fe в еритроцитах лабораторних щурів за умов споживання енергетичного напою, (мкг/кг) ($M \pm m$) ($n=7$)

Після відміни енергетика спостерігається достовірно підвищення рівня Феруму на 20-ту та 30-ту доби в 2,2 ($p < 0,001$) та 2,6 ($p < 0,001$) раза відносно показників у тварин на 1-шу добу спостереження.

Цинк – есенціальний мікроелемент, який приймає участі в поділі та диференціюванні клітин, формуванні імунітету, бере участь у процесах лігандоутворення з органічними молекулами, входить до складу понад 200 металоензимів – карбоангідрази, лактатдегідрогенази, супероксиддисмутази.

Щодо рівня Цинку за умов вживання енергетика, то слід відмітити його зростання на 1-у добу в 1,9 раза з наступним зниженням на 10-у, 20-у та 30-у доби в 1,1 ($p < 0,05$), 1,9 ($p < 0,001$) та 1,2 ($p < 0,05$) раза відповідно порівняно з показниками інтактного контролю (рис. 7.4). Після відміни енергетика відбувалося зниження цього елемента на 10-у, 20-у та 30-у доби в 2,1 ($p < 0,001$), 3,6 ($p < 0,001$) та 2,3 ($p < 0,001$) раза відносно показників у тварин на 1-шу добу спостереження.

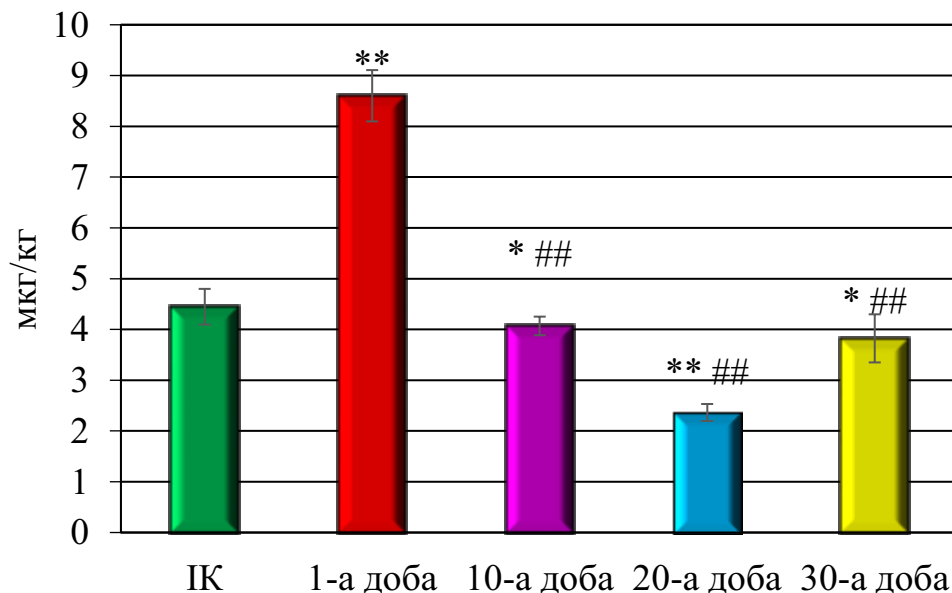


Рисунок 7.4 – Динаміка змін вмісту Zn в еритроцитах лабораторних щурів за умов споживання енергетичного напою, (мкг/кг) ($M \pm m$) ($n=7$)

Манган приймає участь у процесах окиснення, вуглеводного обміну, протидіє вільно-радикальному окисненню за рахунок стабілізації структури

клітинних мембран, виступає активатором піруваткінази, супероксиддисмутази.

Дослідження концентрації Мангану показали зростання упродовж всього періоду спостереження: на 1-у, 10-у, 20-у та 30-у доби в 1,6 ($p<0,001$), 2,8 ($p<0,001$), 2,2 ($p<0,001$) та 3,2 ($p<0,001$) рази відповідно порівняно з показниками інтактного контролю (рис. 7.5). Після завершення вживання енергетика продовжував збільшуватися рівень Мангану на 10-у, 20-у та 30-у доби в 1,8 ($p<0,001$), 1,4 рази ($p<0,001$) та 2 ($p<0,001$) рази відносно показників у тварин на 1-шу добу спостереження.

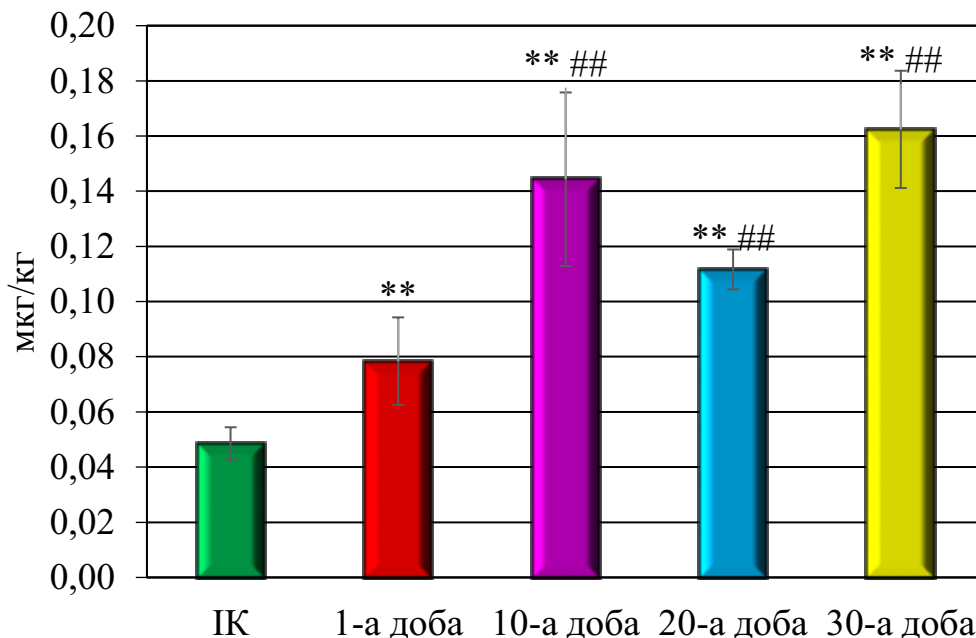


Рисунок 7.5 – Динаміка змін вмісту Mn в еритроцитах лабораторних щурів за умов споживання енергетичного напою, (мкг/кг) ($M\pm m$) ($n=7$)

Селен проявляє потужні антиоксидантні властивості, оскільки є кофактором глутатіонпероксидази, стимулює протеогенез, нормалізує метаболізм протеїнів та нуклеїнових кислот. За умов споживання енергонапою спостерігалось зниження рівня Селену на 1-у, 10-у, 20-у та 30-у доби в 10,6 ($p<0,001$), 3,3 ($p<0,001$), 2,2 ($p<0,001$) та 1,5 ($p<0,001$) рази відповідно порівняно з показниками інтактного контролю (рис. 7.6). Проте,

після відміни енергетика підвищувався рівень селену на 10-у, 20-у та 30-у доби в 3,2 ($p<0,001$), 4,8 рази ($p<0,001$) та 7 ($p<0,001$) разів відносно показників у тварин на 1-шу добу спостереження. Водночас рівень цього МЕ залишався значно нижчим за показники інтактної групи тварин.

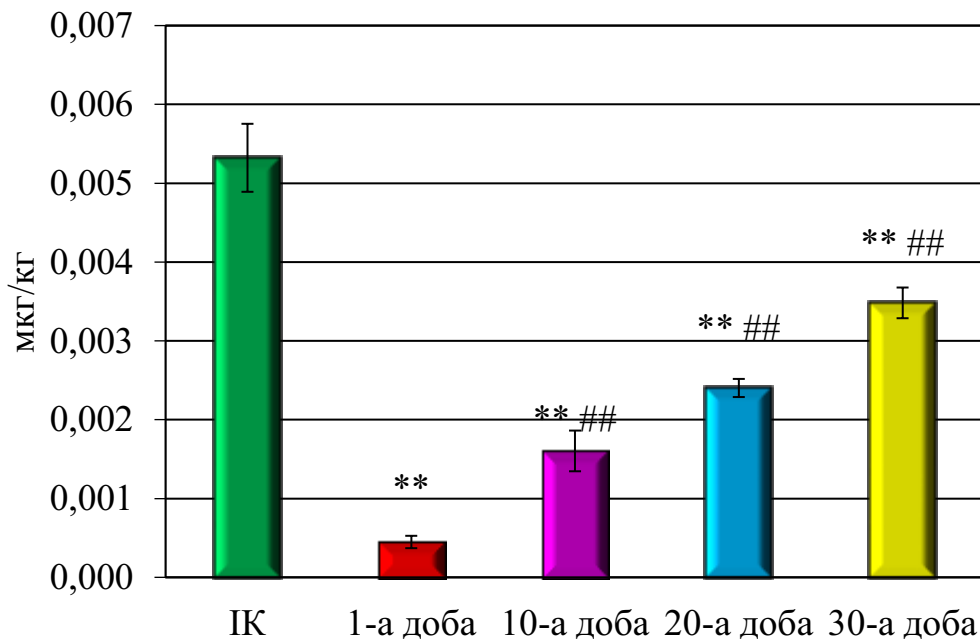


Рисунок 7.6 – Динаміка змін вмісту Se в еритроцитах лабораторних щурів за умов споживання енергетичного напою, (мкг/кг) ($M\pm m$) ($n=7$)

Експериментальні дані підтвердили розвиток дисмікроелементозу в організмі досліджуваних тварин при вживанні енергонапою.

Результати, які наведені у цьому розділі, були опубліковані в наукових публікаціях автора: статті [182] і тезах [7, 10, 13, 14, 21 Додатку А].

РОЗДІЛ 8

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

В останні десятиліття інтерес науковців до енергетичних напоїв стрімко підвищився, а їхні дослідження вказують як на позитивні, так і на небезпечні наслідки споживання таких напоїв [30, 59, 80, 87, 95, 126, 170, 214, 219]. Непокоїть той факт, що серед споживачів ЕН майже 70% становлять підлітки та діти [84]. Відомі задокументовані випадки розвитку порушень зі сторони серцево-судинної системи [121, 168, 176, 249], проблем психічного здоров'я у підлітків [155, 233], порушення функції підшлункової залози [43, 185], збільшеного ризику розвитку ожиріння та метаболічного синдрому [37, 188, 239], різного ступеня ушкодження печінки та нирок [30, 81, 101, 117, 118, 194, 205], висока ймовірність розвитку алергічних захворювань, таких як астма, алергічний риніт та atopічний дерматит [250], може призводити до цілої низки порушень із сторони органів ротової порожнини [66, 211]. Це далеко неповний перелік тих проблем, які виникають в організмі любителів ЕН.

За таких обставин важливим є підтримка гомеостазу, що і зумовило інтерес до вивчення метаболічних процесів у еритроцитах, оскільки ці клітини крові одними з перших реагують на поступлення ксенобіотиків і їм належить важлива роль у формуванні реакції-відповіді на різного роду впливи. Суттєвої шкоди червоним клітинам крові, існування яких побудоване здебільшого на автономних ензимативних процесах, які позбавлені підтримки органелами, завдають вільні радикали [89]. До таких відносяться АФК, які постійно утворюються в організмі через вплив різних екзо- та ендогенних чинників. До нагромадження АФК найбільшою мірою призводить оксидативний стрес, який запускає механізми вільнорадикального окиснення білків та ліпідів.

Білки мають надзвичайно важливе значення в еритроцитах, оскільки вони забезпечують метаболічні та регуляторні процеси. Проте білки швидко

реагують з окиснювачами і є ефективними пастками генерованих активних форм кисню, а велика кількість у клітинах робить їх основною ціллю для реакцій окиснення. Це поглиблює ендogenous інтоксикацію організму, яка супроводжується накопиченням в еритроцитах альдегідо- і кетопохідних нейтрального і основного характеру [73]. Одержані нами результати досліджень підтверджують такий висновок. Зокрема, після припинення вживання ЕН на 1-у та 30-у доби спостерігалось вірогідне зростання рівня альдегідопoxідних (356 нм) на 15 % ($p < 0,001$) і 7 %, кетопoxідних нейтрального характеру (370 нм) на 27 % ($p < 0,05$) і 21 %, а також зростання рівня альдегідопoxідних (430 нм) на 24 % ($p < 0,05$) і 13 % та кетопoxідних основного характеру (530 нм) на 25 % ($p < 0,001$) і 13 % ($p < 0,05$) відповідно, порівняно з інтактним контролем. Накопичення продуктів ОМБ супроводжується збільшенням рівня МСМ, що може бути зумовлене як інтенсивним протеолізом білків [31], так і зменшенням швидкості їх виведення через органи дезінтоксикації. Оскільки МСМ володіють високою біологічною активністю, вони здатні блокувати клітинні рецептори, зв'язуючись з активними центрами молекул біологічно активних сполук, і порушують таким чином процес гуморальної регуляції.

Проведені нами дослідження свідчать про інтенсифікацію процесів ендogenous інтоксикації за умов споживання ЕН, що супроводжується накопиченням МСМ у всіх дослідних групах у порівнянні з інтактним контролем. Так, на 1-у та 30-у доби достовірно зростав рівень МСМ₂₅₄ ($p < 0,05$) відповідно та МСМ₂₈₀ ($p < 0,001$) у порівнянні з інтактним контролем.

При цьому слід зауважити, що зростання концентрації МСМ₂₈₀ було більш інтенсивним ніж МСМ₂₅₄, що вказує на зростання вмісту ароматичних амінокислот у складі середніх молекул. Це може бути пов'язано з втратою ароматичних амінокислот білками в результаті окисної модифікації та фрагментації молекул. Подібна тенденція щодо зв'язку вмісту МСМ і розвитку ендотоксикозу відзначена при дослідженні впливу лікарських засобів на показники процесу ендogenous інтоксикації [74, 148], а також при

оцінці серцево-судинних ризиків [229], за хронічної етанолової інтоксикації [13]. Синдром ендогенної інтоксикації розглядається як отруєння організму внаслідок накопичення або утримання екскреції як кінцевих, так і проміжних продуктів обміну речовин. Він виникає при глибокому порушенні обміну речовин і проявляється фазовим перебігом, починаючи з токсемії від первинного джерела ураження до ендотоксикозу як самостійного патологічного процесу різного ступеня тяжкості [12, 13].

З підвищенням рівня ендогенної інтоксикації зростає проникність мембран еритроцитів та підвищується вміст молекул середньої молекулярної маси. Такі зміни пов'язані із прямим пошкодженням, деструктивними змінами, запаленням, активацією гіпоксії та пероксії, окисненням ліпідів. Багато науковців [20, 21, 146, 248] указують на той факт, що при ряді патологічних станів АФК генерують окислення не тільки білків, а й ненасичених жирних кислот, які входять до складу фосфоліпідів біологічних мембран та призводять до їх ультраструктурних пошкоджень, деполімеризації і в кінцевому результаті до лізису клітин. Одними із кінцевих продуктів ліпопероксидації є дієнові кон'югати (ДК) та ТБК-АП, які є речовинами з високим ступенем цитотоксичності.

Проведені нами дослідження показників пероксидації ліпідів засвідчили підвищення вмісту ДК в еритроцитах на 1-у та 30-ту доби після завершення прийому ЕН на 115 % ($p < 0,001$) та 35 % ($p < 0,001$) відповідно, по відношенню до групи інтактного контролю. Також спостерігалось значне підвищення рівня ТБК-АП в еритроцитах на 1-у добу після завершення прийому ЕН на 18 % ($p < 0,05$) і незначне підвищення на 30-ту добу порівняно з інтактним контролем.

На підвищення рівня ТБК-АП у щурів, які одночасно вживали енергетичні напої та етанол, а також у тих, хто споживав тільки ЕН вказують також дослідження Reis та співавторів. Автори відмічають [197], що такі зміни можуть спричинити до збільшеного утворення вільних радикалів та зміненого стану клітинного антиоксидантного захисту. Інші дослідники Аль-

Башер та співавт. досліджували вплив перинатального введення енергетичних напоїв на основі кофеїну на печінку, нирки, мозок, рухову активність і тривогу у новонароджених мишей. Отримані дані свідчили про збільшення інтенсивності перекисного окислення ліпідів (ТБК-АП) і зниження антиоксидантного захисту в досліджуваних органах новонароджених мишей на 21 і 35 день після народження [32].

Зростання показників ОМБ, МСМ, ДК і ТБК-АП в еритроцитах експериментальних тварин, вказує на активацію пероксидації як білків, так і ліпідів. Ймовірним наслідком такої модифікації може бути втрата їх біологічної активності, через фрагментацію та денатурацію. А процеси окисної модифікації відіграють провідну роль у деструкції мембран клітин у функціонуванні як структурних білків, так і ензимів і транспортних білків крові [110]. Оскільки продукти окисної модифікації білків стабільніші в порівнянні з пероксидами ліпідів, які швидко метаболізуються під дією пероксидаз, відновлення окислених білків практично не відбувається. Збільшення їх кількості є не лише пусковим механізмом патологічних процесів, а й є найбільш раннім маркером окислювального стресу [23].

Виходячи з цього, важливим було дослідження еритроцитарного індексу інтоксикації (ЕІ), який служить маркером цілісності еритроцитарної мембрани. Аналіз результатів проведеного вивчення ЕІ вказує на достовірне зростання його на 1-у та 30-у доби на 108 % ($p < 0,001$) та 28 % ($p < 0,001$) відповідно в порівнянні з інтактним контролем, проте на 30-у добу після припинення вживання ЕН даний індекс на 39 % ($p < 0,001$) знижується відносно показників у тварин на 1-шу добу спостереження, однак не наближається до норми, що свідчить про чутливість еритроцитів до дії ЕН.

Такі зміни зумовлюють істотні порушення в популяції циркулюючих еритроцитів у крові. Зокрема, на 1-у добу після завершення прийому енергетика збільшувався рівень низькостійких еритроцитів на 77 % ($p < 0,05$) на тлі зниження середньостійких еритроцитів на 16 % ($p < 0,05$), еритроцитів підвищеної стійкості на 42 % ($p < 0,001$) та високостійких – на 61 % ($p < 0,001$)

у порівнянні з інтактним контролем. Натомість, на 30-у добу спостерігалось зниження рівня низькостійких еритроцитів в 1,7 раза ($p < 0,001$) та середньостійких еритроцитів в 1,5 раза на тлі збільшення рівня еритроцитів підвищеної стійкості в 15 разів ($p < 0,05$) та високостійких в 4,5 раза ($p < 0,001$) у порівнянні з інтактним контролем (рис. 8.1).

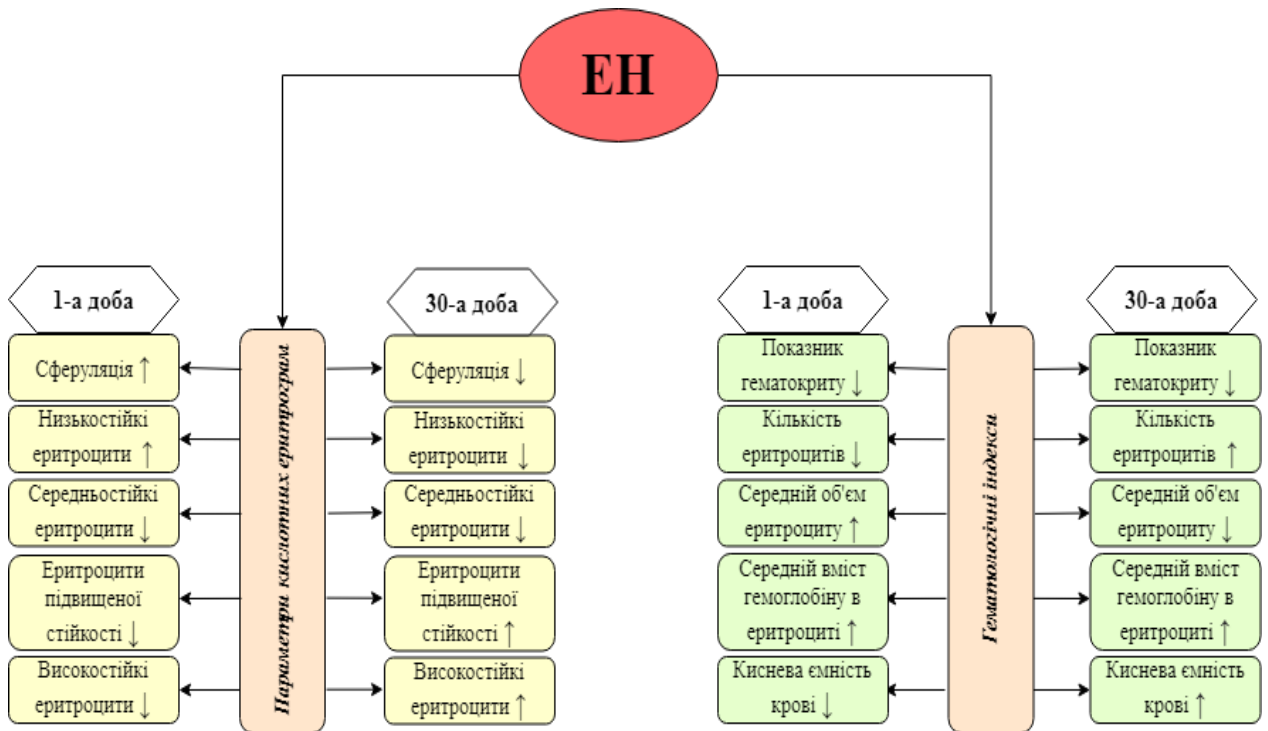


Рисунок 8.1 – Схема впливу енергетичного напою на гематологічні індекси та параметри кислотних еритрограм експериментальних тварин

Через 30 діб після відміни ЕН по відношенню до 1 доби знижувався рівень низькостійких та середньостійких еритроцитів на тлі збільшення рівня еритроцитів підвищеної стійкості та високостійких. Одержані дані свідчать про зміни в еритрограмі щурів упродовж всього періоду спостереження. Такі зміни можуть бути обумовлені насамперед порушенням структурних компонентів еритроцитарних мембран, а також станом метаболічних процесів в еритроциті.

Отримані нами результати узгоджуються з даними літератури, які засвідчують, що інкубація еритроцитів щурів у середовищі з додаванням

таурину сприяла збільшенню кислотної стійкості еритроцитів загалом і тривалості гемолізу 50 % еритроцитів зокрема. Проте, при алкогольному впливі таурин практично не відновлював плинність плазматичної мембрани еритроцитів, їх форму та розподіл спектрину, порівняно з його аналогами та гомологами [8]. Дослідження Посохова та ін. показали, що тривале пероральне введення щурам енергетичних напоїв на основі кофеїну призводило до збільшення в'язкості мембрани еритроцитів [192]. Подібні порушення еритроцитарних мембран внаслідок вживання енергетичних напоїв також зазначені й іншими авторами [192]. У роботах ряду авторів, зокрема Лихацького П. та співавт. [146] вказано на збільшення проникності еритроцитарної мембрани за дії нітриту натрію в умовах тютюнової інтоксикації, Яніцької Л. [24] – під впливом 1,2-дихлореатану, Антосяк Г. – при введенні кадмію хлориду [1].

Виходячи з одержаних даних, важливим є вивчення інших гематологічних показників. Зокрема, як засвідчили проведені дослідження, абсолютний вміст еритроцитів лабораторних щурів під впливом енергетичного напою на 1-у добу після завершення вживання енергетика знижувався на 15 % ($p < 0,001$) та зростав на 30-ту добу на 7 % в порівнянні з інтактним контролем. Водночас дослідження вмісту загального гемоглобіну в крові щурів, котрі споживали енергетик, показало достовірне зниження даного показника на 25 % ($p < 0,001$) на 1-у добу по завершенню експерименту. На 30-у добу зростав рівень загального гемоглобіну на 6% в порівнянні з інтактним контролем та на 32 % ($p < 0,001$) порівняно з раннім періодом після відміни енергетика (1-а доба). Щодо дослідження середнього вмісту гемоглобіну в еритроциті лабораторних щурів за умов споживання енергонапою, то слід відмітити незначне його збільшення упродовж усього періоду спостереження: на 1-у та 30-у доби на 7 % та 5 % відповідно, в порівнянні з інтактним контролем. Дослідження середнього об'єму еритроциту дозволило встановити його збільшення тільки по завершенню прийому енергонапою на 1-у добу на 3 %. У наступні періоди експерименту

спостерігалось зменшення цього показника – на 30-у добу на 15 % ($p < 0,001$) порівняно з інтактним контролем і на 18% ($p < 0,001$) відносно показників у тварин на 1-шу добу спостереження. Дослідження середньої концентрації гемоглобіну в еритроциті лабораторних щурів за умов споживання енергонапою дозволило встановити збільшення на 1-у, та 30-у доби на 4 % та 25 % ($p < 0,001$) відповідно порівняно з інтактним контролем. Порівняльний аналіз вказує на збільшення середньої концентрації гемоглобіну в еритроциті на 30-у добу на 20 % ($p < 0,001$) відносно показників у тварин на 1-шу добу спостереження. Визначення кольорового показника, який свідчить про насичення еритроцитів гемоглобіном, дозволило встановити, що в піддослідних тварин за умов споживання енергонапою перебуває на 1-у та 30-у доби в межах значень інтактного контролю. Стосовно показника гематокриту, то слід відмітити його достовірне зниження на 1-у та 30-у доби на 19 % ($p < 0,001$) порівняно з інтактним контролем. Такі зміни можуть бути обумовлені мембрано деструктивними процесами в клітинах, а також зменшенням їх абсолютного числа внаслідок гемолізу [19]. Отримані нами результати досліджень узгоджуються із результатами, які представлені в роботі Khaayat L. [125], де встановлено значне зниження кількості еритроцитів, вмісту гемоглобіну, гематокриту, кількості тромбоцитів і нейтрофілів у тварин, які споживали ЕН певних марок. На підвищення в'язкості мембран еритроцитів у щурів при тривалому пероральному введенні ЕН з кофеїном вказують також дослідження Posokhov Y. [192].

Для розуміння біохімічних механізмів адаптації та оцінки забезпечення тканин киснем інформативним є показник динаміки змін вмісту як загального гемоглобіну, так і лігандних форм, зокрема оксигемоглобіну (HbO_2). Проведені дослідження показали, що рівень HbO_2 достовірно знижувався на 1-шу та 30-ту доби на 50 % та 45 % ($p < 0,001$) відповідно в порівнянні з інтактним контролем. В даному випадку зниження рівня оксигемоглобіну може бути зумовлене не лише зниженням концентрації загального гемоглобіну, але й порушенням процесів зв'язування та віддачі

кисню гемоглобіном, а також змінами у співвідношенні вмісту окремих лігандних форм гемоглобіну. Оскільки за даними Г. П. Копильчук та співавторів [7] близько 7-10 % гемоглобіну зв'язано з мембраною еритроцита, то внаслідок модифікації структурних компонентів еритроцитарних мембран виникає їхня функціональна дестабілізація, що впливає на систему транспорту іонів (Cl^- , H^+) та газів (O_2 , CO_2). Авторами досліджено, що в гемолізаті еритроцитів крові щурів за умов білкової недостатності відбувається зниження рівня загального гемоглобіну та оксигемоглобіну.

З наукової літератури відомо [9], що взаємодія oxyHb з надлишком H_2O_2 призводить до швидкого накопичення MetHb . Ензим, присутній в еритроцитах, метгемоглобінредуктаза, відновлює залізо в метгемоглобіні до двохвалентного стану, тоді як каталаза, яка також наявна в еритроцитах, каталізує дисмутацію H_2O_2 до кисню та води. Цей механізм разом із тим фактом, що окислення HbO_2 до метгемоглобіну відбувається досить повільно, забезпечує за нормальних умов кількість метгемоглобіну, що присутній в еритроцитах, становить лише кілька відсотків від загального наявного гемоглобіну [9].

Результати проведеного нами дослідження рівня метгемоглобіну за умов споживання енергетика показали збільшення цього деривату в дослідних групах у 4,8 рази ($p < 0,001$) та 3,8 рази ($p < 0,001$) відповідно на 1-у та 30-у доби в порівнянні з інтактним контролем. Подібні результати спостерігали Лихацький П. та співавтори [146] за умов нітритного ураження, що зумовлює зростання проникності еритроцитарної мембрани і підвищення вмісту метгемоглобіну.

У периферичній крові відбувається перерозподіл лігандних форм гемоглобіну, з явним зменшенням оксигемоглобіну та збільшенням вмісту метгемоглобіну на тлі зниження концентрації загального гемоглобіну за експериментальної хронічної алкогольної інтоксикації у щурів вказують у своїх роботах Єфіменко Н. [3].

Відомо [115], що метгемоглобіну належить важлива роль у знешкодженні вільних радикалів, які утворюються в еритроцитах через постійну взаємодію з киснем (аутоокислення) та іншими окисниками, які містяться в крові. Згідно наявних досліджень, MetHb може виступати в ролі пероксидази та нітритредуктази. Однак, повноцінно антиоксидантною системою метгемоглобін не вважається, він виступає в ролі резервної системи, коли інших відновників, таких як аскорбат – не вистачає [115].

Зростання рівня MetHb в еритроцитах експериментальних тварин у наших дослідженнях на тлі вживання ЕН можна частково розцінювати як складову адаптивної реакції-відповіді. З іншого боку, цим можна пояснити зниження рівня оксигемоглобіну в цих тварин.

Потрібно відзначити, що одночасно спостерігаються зміни інших форм гемоглобіну. Результати нашого дослідження вказують на достовірне зростання рівня HbCO на 1-у та 30-ту доби в 5,9 раза ($p < 0,001$) і 1,7 раза ($p < 0,001$) відповідно у порівнянні з інтактним контролем. Таке зростання рівня цієї форми гемоглобіну може бути пов'язане з впливом вільних радикалів. Поряд з тим, є свідчення, що ендогенну продукцію CO може підвищити будь-яке порушення гомеостазу еритроцитів, спричинене прискореним руйнуванням гемопротейнів [135]. Посилене виробництво CO є результатом ряду різних захворювань, включаючи гемолітичні, окислювальні та запальні стани. Підвищене виробництво CO під час захворювання може представляти адаптивну реакцію на стрес і служити непрямим показником запалення або окисного стресу. Відповідно, ендогенну продукцію CO можна використовувати як біомаркер окисних і запальних процесів [183].

Сульфгемоглобін (SHb) є сумішшю окислених, частково денатурованих форм Hb, які утворюються під час окисного гемолізу чи окислення гемоглобіну. На відміну від метгемоглобіну, SHb не здатний до відновлення залишається в клітинах, поки вони не зруйнуються. Зазвичай така форма гемоглобіну відсутня в еритроцитах, або є в дуже малих кількостях [147]. Результати вивчення рівня сульфгемоглобіну у щурів, котрі споживали

енергетичний напій упродовж місяця, показали збільшення його на 1-у, та 30-у доби на 48 % ($p < 0,001$) та 37 % ($p < 0,001$) відповідно в порівнянні з інтактним контролем.

Таким чином можна стверджувати, що вживання ЕН супроводжується достовірним ($p < 0,001$) зниженням загального гемоглобіну та HbO_2 на тлі зростання неактивних дериватів таких як: HbCO , MetHb та HbS , що може зумовлювати розвиток гіпоксії (рис. 8.2).

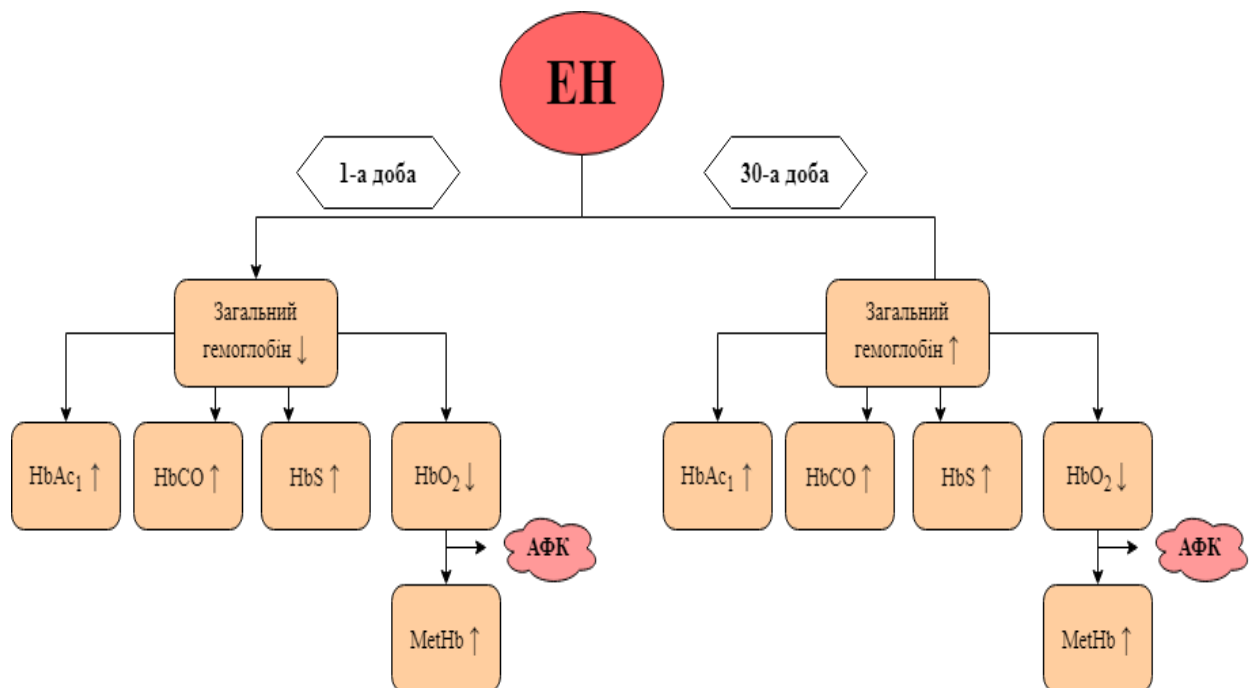


Рисунок 8.2 – Вплив енергетичного напою на лігандні форми гемоглобіну експериментальних тварин

Подібну картину спостерігали Дудок К.П. та співавт., які досліджували спорідненість гемоглобіну до кисню, кисневу ємність і вміст лігандних форм (сульф-, мет- та карбоксигемоглобінів) у гемолізатах периферичної крові за умов хронічної алкогольної інтоксикації та експериментального цукрового діабету на моделях щурів. Дослідження свідчать, що алкогольна інтоксикація призводить до зниження зв'язування гемоглобіну з киснем та кисневої ємності крові. У той же час, при експериментальному цукровому діабеті

відзначено зростання спорідненості гемоглобіну до кисню при не змінній кисневій ємності [79].

У дослідженнях Копильчук Г.П. відмічено збільшення вмісту метгемоглобіну та карбоксигемоглобіну в еритроцитах щурів під впливом токсичного ураження на тлі аліментарної депривації протеїну [131].

Важливим показником є вивчення кисневої ємності крові (КЄК) у тварин, які споживали енергонапій. Як засвідчують отримані дані, цей показник достовірно знижувався на 20-у та 30-у доби на 21% ($p < 0,001$) та 24% ($p < 0,001$) відповідно порівняно з інтактним контролем.

За таких умов представляє інтерес дослідження антиоксидантного захисту еритроциту. Для запобігання пошкодженням еритроцити оснащені системою антиоксидантного захисту у вигляді ензимативних і неензимативних антиоксидантів. Відповідно, наступним етапом досліджень було вивчення стану АОС еритроцитів, яка одна з перших виконує захисну роль від дії шкідливих наслідків різноманітних факторів, включаючи АФК, які утворюються під дією ЕН. Антиоксидантний захист в еритроцитах представлений насамперед ензимами, такими як: каталаза, супероксиддисмутаза і глутатіонпероксидаза [143].

Отримані нами дані свідчать про достовірне збільшення активності СОД в еритроцитах на 1-у добу на 10 % ($p < 0,05$) з наступним зниженням упродовж всього періоду спостереження, зокрема на 30-у добу на 21 % ($p < 0,05$) порівняно з інтактним контролем. В еритроцитах СОД успішно деактивує O_2 в ранньому періоді після завершення споживання ЕН. Зниження активності цього ензиму у віддалені періоди можна пояснити впливом гідроген пероксиду, який здатний руйнувати молекули СОД. Інтенсивність та тривалість самого оксидативного стресу можуть також впливати на зниження активності СОД [218, 231]. Саме тому супероксиддисмутаза завжди функціонує разом із каталазою, яка досить швидко відновлює гідроген пероксид до води і молекулярного кисню, тобто її основною функцією є прискорений розклад гідроген пероксиду, який утворюється внаслідок

протікання різних окиснювальних процесів в організмі, зокрема в еритроцитах. Нами встановлено, що під дією енергонапою спостерігається збільшення активності КАТ в еритроцитах значною мірою на 1-у добу – на 103 % ($p < 0,001$), та на 30-у добу – на 20 % ($p < 0,001$) в порівнянні з інтактним контролем.

Поряд з тим, в ході нашого дослідження встановлено достовірне зниження активності ензиму, який також знешкоджує H_2O_2 в еритроцитах тварин – глутатіонпероксидази (ГП) на 19 % ($p < 0,001$) на 1-у добу після завершення споживання енергонапою та на 8 % ($p < 0,05$) на 30-у добу. Функціонування ГП тісно пов'язане з активністю глутатіонредуктази (ГР), яка забезпечує відновлення окисненого глутатіону в складі ГП. У результаті проведених досліджень встановлено зниження активності глутатіонредуктази на 1-у добу в 1,6 раза ($p < 0,001$) та незначне підвищення на 30-ту добу спостереження порівняно з інтактним контролем. Важливим компонентом антиоксидантного захисту є глутатіон-S-трансфераза (GST). Вона приймає активну участь в інактивації великої кількості різних токсичних сполук шляхом кон'югації з глутатіоном та сприяє виведенню їх з організму. Під дією енергонапою спостерігається пригнічення її активності упродовж всього періоду спостереження, найбільш істотні зміни відмічено на 1-у добу в 3,3 раза ($p < 0,001$) у порівнянні з інтактним контролем. Отримані нами дані вказують на виникнення дисбалансу між генеруванням та ліквідацією вільних радикалів, концентрація яких зростає через недостатність функціонування антиоксидантної системи, про що свідчить зростання продуктів окисної модифікації білків та ліпідів (рис. 8.3).

Аналогічні зміни активності ензимів антиоксидантної системи в еритроцитах щурів відмічали при цукровому діабеті [248], що може свідчити, на думку авторів, про накопичення O_2 і H_2O_2 і їх згубний вплив на клітини. На розвиток окислювального стресу в еритроцитах діабетичних щурів вказують у своїх роботах Yitak T. та співав. [248] і відмічають зниження активності антиоксидантних ензимів, таких як: супероксиддисмутаза,

каталаза, глутатіонпероксидаза та глутатіонредуктаза, а також збільшення кількості продуктів тіобарбітурової кислоти, які є маркерами ПОЛ.

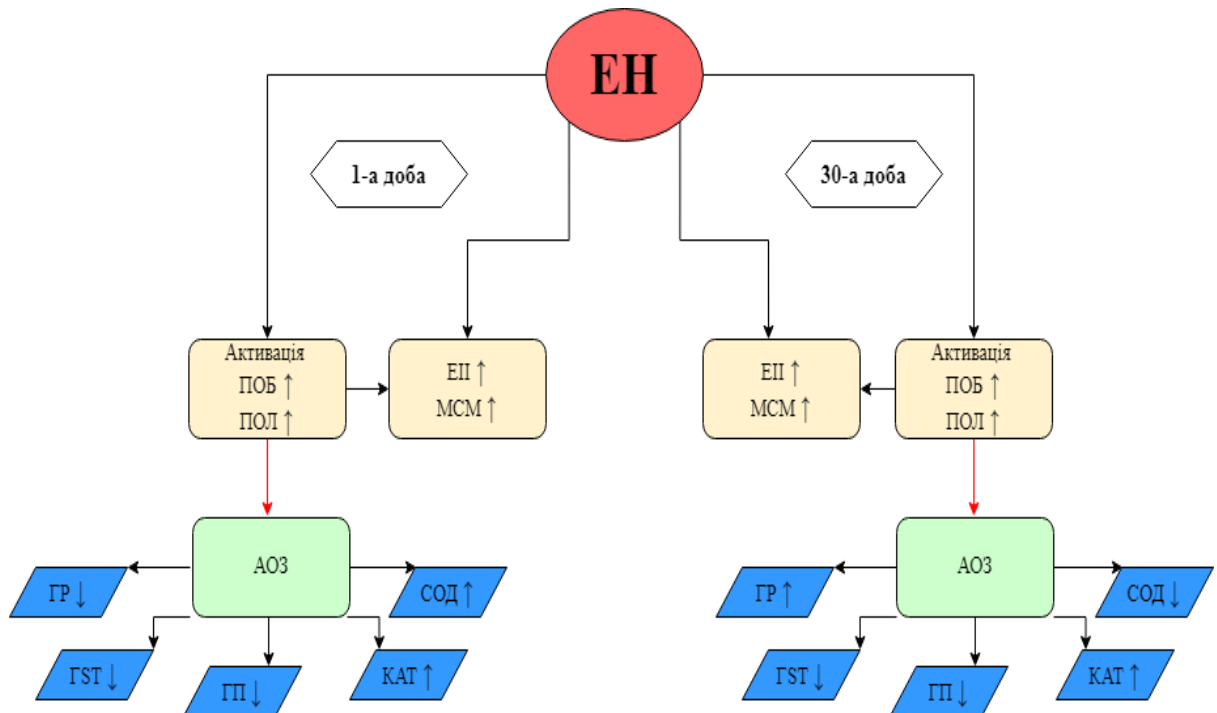


Рисунок 8.3 – Схема впливу енергетичного напоя на стан про- та антиоксидантної системи та ендогенної інтоксикації еритроцитів експериментальних тварин

Збільшення активності окислювальних процесів ліпідів та зменшення ефективності антиоксидантних ензимів у червоних кров'яних клітинах, а саме глутатіон-S-трансферази і глутатіонредуктази спостерігали Jana Viskupicova та співавт. [247] при дослідженні впливу високих концентрацій глюкози на еритроцити. У роботах Руцької А. [20] показано зниження захисту від окислювання за умов "пасивного куріння" при використанні натрію глутамату, що проявлялося зменшенням супероксиддисмутази та каталазної активності в гемолізатах еритроцитів. Відомо [225] також, що комбінація кофеїну, таурину та гуарани може сприяти і підсилювати апоптоз шляхом зниження активності супероксиддисмутази та каталази у клітинах людських нейронів.

За таких умов важливим для розуміння функціонування еритроцитів є дослідження метаболічних шляхів, особливо вуглеводного обміну. У результаті проведених досліджень встановлено підвищення рівня глюкози, найбільш істотне – на 1-у добу в 1,8 раза ($p < 0,001$) порівняно з інтактним контролем. Високий рівень глюкози може призводити до функціональних та структурних змін у еритроцитах, зокрема, неензимативне глікозилювання білкових компонентів гемоглобіну та ензимів.

Виходячи з цього, нами проведене дослідження рівня глікозилюваного гемоглобіну в тварин у динаміці споживання ЕН. Отримані дані вказують на збільшення вмісту HbA_{1c} на 1-у та 30-у доби в 2,9 ($p < 0,001$) та 2,2 ($p < 0,001$) раза відповідно в порівнянні з тваринами інтактного контролю. Глікозилюваний гемоглобін, через міцний зв'язок з киснем, важко віддає його тканинам, що призводить до збільшення його концентрації у крові і викликає тканинну гіпоксію. Таким чином, збільшення рівня HbA_{1c} разом із порушенням співвідношення лігандних форм гемоглобіну може зумовлювати порушення киснево-транспортної функції в цілому, що може призвести до порушення рівноваги між процесами вільнорадикального окислення та антиоксидантного захисту в організмі. Отримані дані узгоджуються з результатами дослідження Копильчук Г.П та співавторів, які вивчали вплив низькопротеїнового раціону на еритроцити [7]. Окрім того, з наукових джерел [191] відомо, що неензиматичне джерело активних форм Оксигену переважно пов'язане з підвищеною глюкозою в крові. Так, за умов гіперглікемії глюкоза піддається аутоокисненню та генерує вельми агресивний радикал $\bullet OH$. Процес неензиматичного глікозилювання протеїнів та взаємодія глікозилюваних продуктів із специфічними рецепторами супроводжуються утворенням АФК на певних стадіях [119], що підтверджується отриманими нами даними стосовно порушень про- та антиоксидантної систем в еритроцитах за умов споживання ЕН.

Дослідження вмісту показників обміну глюкози за умов споживання енергонапою дозволили встановити збільшення рівня пірувату в гемолізаті

еритроцитів всіх дослідних груп. Найбільш виражене зростання рівня пірувату спостерігалось на 1-шу добу після завершення прийому ЕН у 3,9 раза ($p < 0,001$) порівняно з інтактним контролем. При цьому варто зауважити, що навіть через 30 днів цей показник залишається вищим порівняно з інтактним контролем. Підвищення вмісту пірувату зазвичай вказує на нерівновагу між системами постачання кисню та потребою у ньому. Зокрема, концентрація пірувату може зростати у разі декомпенсації гіпоксичних станів.

Вивчення динаміки змін іншого метаболіту – лактату за умов споживання ЕН, засвідчило достовірне збільшення цього показника на 1-у та 30-у доби в 1,9 та 1,1 раза відповідно порівняно з інтактним контролем (рис. 8.4).

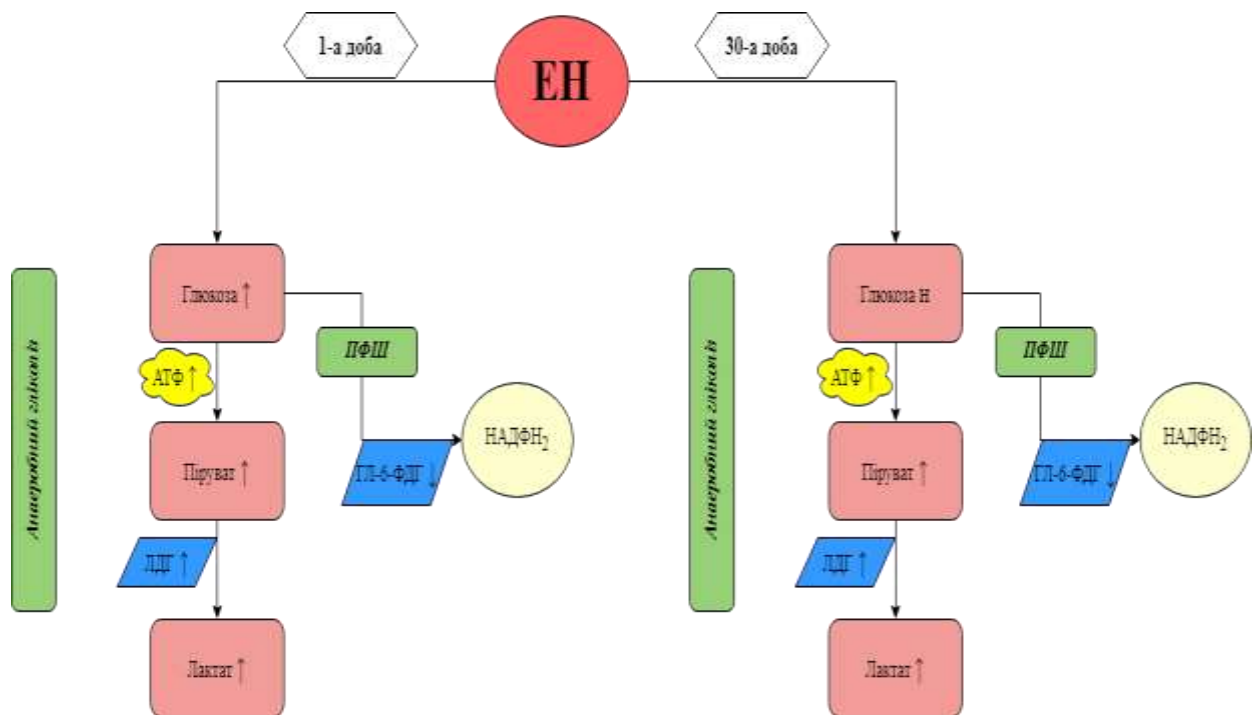


Рисунок 8.4 – Схема впливу енергетичного напою на вуглеводний обмін еритроцитів експериментальних тварин

За таких умов є важливим дослідження активності ЛДГ в еритроцитах як одного з ключових ензимів гліколізу. Проведені дослідження дозволили

встановити зростання лактатдегідрогеназної активності в еритроцитах тварин, що вказує на активізацію енергетичних резервів для максимального утворення молекул АТФ, які необхідні для внутрішньоклітинних процесів, транспорту катіонів через мембрану та забезпечення її цілісності [42]. Крім цього, зміни у кількості еритроцитів та вмісту в них гемоглобіну й активність лактатдегідрогенази можуть служити маркерами функціональності організму та вказувати на можливі механізми впливу ЕН на енергетичне забезпечення. Нами встановлено, що під дією енергонапою спостерігалось збільшення активності ЛДГ на 1-у та 30-у доби в 2,6 ($p < 0,001$) та 1,3 рази ($p < 0,001$) відповідно в порівнянні з інтактним контролем. Подібні результати наведені в роботах Іскри Р. та співавторів, які досліджували вплив цитрату хрому на показники вуглеводного обміну за умов експериментального цукрового діабету [5]. Оскільки таурин є компонентом енергетичних напоїв, то дослідження Остапів Р. [178] показали, що введення таурину призводить до підвищення виділення інсуліну в кров, який суттєво впливає на активність ЛДГ, оскільки інсулін спричиняє збільшення поглинання глюкози тканинами, що в свою чергу призводить до зростання активності ензимів гліколізу. Це в свою чергу стимулює збільшення активності ензимів гліколізу, що призводить до збільшення транскрипції генів ЛДГ [137].

Дослідження кінцевого метаболіту енергетичного обміну – АТФ показали, що споживання енергонапою призводить до підвищення його рівня в гемолізаті еритроцитів на 1-у та 30-у доби в 1,4 ($p < 0,001$) та 1,1 рази відповідно в порівнянні з інтактним контролем. Добре відомо, що близько 90 % глюкози в еритроцитах утилізується в процесі гліколізу і 10 % – в пентозофосфатному шляху (ПФШ). ПФШ служить для утворення НАДФН₂, який в еритроцитах необхідний для повноцінного функціонування системи антиоксидантного захисту та метгемоглобінредуктази. У зв'язку з цим представляли інтерес дослідження активності Г6ФДГ як регуляторного ензиму ПФШ. Отримані нами результати вказують на зниження активності Г6ФДГ за умов вживання енергонапою, на 1-у добу на 42 % ($p < 0,001$) та 30-у

добу – на 9 % порівняно з інтактним контролем тварин. При цьому слід відмітити найбільш істотне зниження цього показника одразу після завершення споживання енергонапою. Зниження активності Г6ФДГ може частково служити підґрунтям для пояснення порушень антиоксидантного захисту еритроцитів та накопичення метгемоглобіну за умов впливу енергетичного напою. Проте у дослідженнях Остапів Р. [178] за введення таурину у дозі 40 мг/кг в печінці та мозку спостерігалася активація енергетичних процесів, що виражалася у підвищенні активності ензимів Г6ФДГ та ЛДГ.

У регуляції активності досліджуваних ензимів важлива роль належить макро- та мікроелементам, від співвідношення яких залежить інтенсивність метаболічних процесів. Це пов'язано з тим, що біоелементи виконують не лише структурну функцію, а виступають у ролі регуляторів майже всіх ензимів, гормонів та антитіл, контролюють широкий спектр життєво важливих процесів у людському організмі та тварин. Найбільш важливими для нормального функціонування еритроцитів є Магній, Ферум, Купрум, Цинк, та Селен [62, 86, 91, 104, 237, 246]. Окрім того, звертають увагу дослідників дані стосовно вмісту цих елементів у енергетичних напоях. Зокрема, у дослідженні Даніеля Стибурскі та ін. [230] було проаналізовано вміст елементів в ЕН і отримані дані свідчать, що середній вміст Цинку в енергетичних напоях становив 3,17 мг/л, Марганцю – 0,2–0,3 %/250 мл та Феруму – 0,3–0,6 %/250. Крім того, згідно з європейських стандартів, допустимий рівень Кадмію в енергетичних напоях було перевищено на 17 %, Цинку – на 5,8 %, Феруму – на 28 %.

Результати дослідження рівня цих біоелементів представлені на рис. 8.5 дають можливість стверджувати, що у тварин, які споживали енергонапій розвивається дисмікроелементоз, який призводить до порушень у функціонуванні гемоглобіну, ензимів антиоксидантного захисту і провокує розвиток оксидативного стресу.

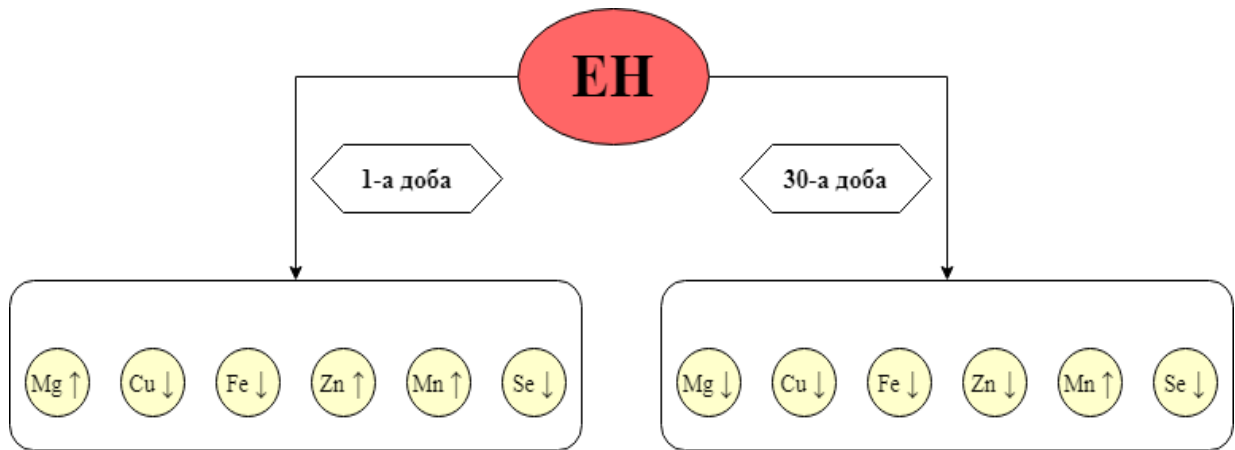


Рисунок 8.5 – Схема впливу енергетичного напою макро- та мікроелементний статус еритроцитів експериментальних тварин

Проведені дослідження дозволили встановити незначне зростання вмісту Магнію в еритроцитах за умов споживання енергетика тільки на 1-у добу, а на 30-у добу відмічали зниження в 8,5 раза ($p < 0,001$) у порівнянні з інтактним контролем. Магній необхідний для функціонування багатьох ензимних систем, серед яких кінази та Г6ФДГ, які регулюють вуглеводневий обмін. Елемент виявляє синергічну дію з Манганом та антагоністичну – з Кальцієм. Отримані дані узгоджуються з результатами Шкурашівської С.В., при дослідженні впливу адреналінового стресу на еритроцити [216].

Стосовно рівня Купруму в еритроцитах тварин, які споживали EH, то слід відмітити зниження цього показника на 1-у та 30-у доби в 1,8 ($p < 0,001$) та 1,1 раза ($p < 0,05$) відповідно в порівнянні з інтактним контролем. Такі зміни можуть служити підґрунтям до пояснення зниження рівня загального гемоглобіну та активності антиоксидантного ензимативного захисту в еритроцитах, оскільки Купрум стимулює еритропоез, виявляє гіпоглікемічну дію і є металоконпонентом багатьох ензимів. Отримані результати узгоджуються з даними Maunag [159] та співавт., які досліджували зміни мікроелементного складу в еритроцитах спортсменів з різною фізичною активністю.

Результати дослідження впливу енергетичного напою на рівень Феруму в еритроцитах експериментальних тварин вказують на зниження цього показника впродовж усього періоду дослідження: на 1-у добу – в 3 рази ($p < 0,001$) та на 30-у добу – в 1,2 рази ($p < 0,001$) порівняно з інтактним контролем. Зниження цього біоелемента зумовлює зниження активності каталази та пояснює низький рівень гемоглобіну, оскільки Ферум є компонентом залізопорфіринових комплексів, які є складовою частиною гемоглобіну.

Наші дослідження рівня Цинку свідчать про те, що за умов вживання енергетика спостерігається його зростання на 1-у добу в 1,9 рази з наступним зниженням на 30-у добу в 1,2 рази ($p < 0,05$) порівняно з показниками інтактного контролю. Відомо, що Цинк володіє здатністю стимулювати гліколіз та виступає в якості кофактора для супероксиддисмутази, впливає на метаболізм глутатіону та регулює експресію металлотіонеїнів [77, 224, 255]. Він також може конкурувати з ферумом та купрумом за зв'язок з клітинними мембранними рецепторами, знижуючи утворення вільних радикалів і виконуючи таким чином роль прямого антиоксиданту [224]. Цинк може захищати сульфгідрильні групи білків, зв'язуючись з ними безпосередньо або перешкоджаючи їхньому зв'язуванню з іншими ділянками білків, які знаходяться поруч [22].

Дослідження концентрації Мангану показали зростання цього показника впродовж всього періоду спостереження: на 1-у та 30-у доби в 1,6 рази ($p < 0,001$) та 3,2 рази ($p < 0,001$) відповідно, порівняно з показниками інтактного контролю. З наукових джерел відомо [151], що Манган стимулює роботу ензимів, які регулюють широкий спектр анаболічних та катаболічних процесів, антиоксидантний захист клітин, так як є активатором СОД, стимулює еритропоез.

Потужним активатором антиоксидантного захисту еритроцитів є Селен, виступаючи кофактором глутатіонпероксидази захищає внутрішні мембрани клітин від пероксидного окислення ліпідів. За умов споживання

енергонапою спостерігалось зниження рівня Селену на 1-у та 30-у доби в 10,6 разів ($p < 0,001$) та 1,5 разів ($p < 0,001$) відповідно, порівняно з показниками інтактного контролю. Отримані результати пояснюють зміни в активності глутатіонової системи у тварин за умов споживання енергонапою.

Таким чином, одержані нами експериментальні результати свідчать, що вживання енергетичних напоїв може мати потенційно несприятливі наслідки для здоров'я і супроводжується оксидативним стресом, вираженим посиленням ендогенної інтоксикації, порушенням вуглеводного обміну та виснаженням антиоксидантної системи еритроцитів. Доведено, що на тлі споживання ЕН розвивається дисмікроелементоз, що може призводити до розвитку гіпоксії та порушення як гомеостазу еритроцитів, так і організму в цілому.

Отримані результати представлені на узагальненій схемі, яка відображає біохімічні механізми порушень в еритроцитах експериментальних тварин за умов впливу енергетичного напою (Додаток Д).

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі розглянуто та вирішено наукові завдання, які полягали у вивченні впливу енергетичного напою на метаболічні процеси в еритроцитах експериментальних тварин.

1. Дослідження показників периферичної ланки еритрону щурів, котрі споживали енергетичний напій впродовж місяця, засвідчили порушення еритроцитарного балансу, що проявляється зниженням числа еритроцитів на 14-17 % (1-20 доба) і вмісту загального гемоглобіну на 15-19 % (1-20 доба). У периферичній крові піддослідних тварин встановлено незначне зростання середнього вмісту гемоглобіну в еритроциті та середньої концентрації гемоглобіну в еритроциті; кольоровий показник перебував у межах значень інтактного контролю.

2. Встановлено, що за умов споживання енергетика, відбувались істотні зміни в популяції циркулюючих еритроцитів у крові. Зокрема, на 1-у добу після завершення прийому збільшувався рівень низькостійких еритроцитів на 77 % ($p < 0,05$) на тлі зниження середньостійких – на 16 % ($p < 0,05$), еритроцитів підвищеної стійкості – на 42 % ($p < 0,001$) та високостійких – на 61 % ($p < 0,001$). Такі зміни в еритрограмі за умов споживання енергетичного напою можуть призвести до зниження кисневої ємності крові і розвитку гіпоксії.

3. Показано, що споживання енергетичних напоїв супроводжується зниженням рівня HbO_2 упродовж всього періоду спостереження на 33-50 % ($p < 0,001$). Поряд із цим зростає рівень неактивних лігандів: метHb – у 3,8 – 4,8 рази ($p < 0,001$); HbS – в 1,1-1,5 рази ($p < 0,001$); HbCO – у 1,7-5,9 рази ($p < 0,001$). Отримані дані можуть вказувати на розвиток гіпоксії та підтверджувати порушення адаптаційних механізмів організму лабораторних щурів за умов впливу енергетичних напоїв.

4. Споживання енергетичних напоїв зумовлює розвиток оксидативного стресу, що супроводжується накопиченням первинних і

вторинних продуктів перекисного окиснення ліпідів (дієнових конюгатів – на 35-140 % ($p < 0,001$), ТБК-активних продуктів – на 8-22 % ($p < 0,001$)), окисної модифікації білків еритроцитів як альдегідо- (на 9-22 % ($p < 0,05$)), так і кетонпохідних (21-29 %, ($p < 0,05$)) нейтрального характеру і рівня альдегідо- (13-24 %, $p < 0,05$) та кетонпохідних (13-35 %, ($p < 0,05$ - $p < 0,001$)) основного характеру. Водночас встановлено зниження активності ензимів антиоксидантного захисту: глутатіонової системи упродовж всього періоду спостереження та каталази і супероксиддисмутази у пізні періоди експерименту. Такі зміни можуть спричинити до порушень як ліпідів мембран, так і білків, які виконують ензимативну, структурну і кисневотранспортну функції.

5. Проведені біохімічні дослідження свідчать про інтенсифікацію процесів ендогенної інтоксикації після прийому ЕН, що супроводжується накопиченням MCM_{254} – упродовж всього періоду спостереження, найбільшою мірою – на 35 % ($p < 0,001$) і MCM_{280} – на 377 % ($p < 0,001$). При цьому встановлено зростання ЕП на 108 % ($p < 0,001$).

6. Споживання ЕН зумовлює зміни вуглеводного обміну в еритроцитах, зокрема гліколізу, що проявляється підвищенням рівня глюкози (1,5-1,8 рази ($p < 0,001$)), пірувату (1,3-3,5 рази ($p < 0,001$)), лактату (1,1-1,9 рази ($p < 0,001$)), активності лактатдегідрогенази (1,3-2,7 рази ($p < 0,001$)). Високий рівень глюкози може спричинити глікозування протеїнів, зокрема гемоглобіну, що підтверджується рівнем глікованого гемоглобіну, який зростав у 2,2-2,9 рази ($p < 0,001$). Такі зміни можуть спричинити до порушення процесів оксигенації, а також оцінити ступінь ризику розвитку цукрового діабету.

7. Дослідження кінцевого метаболіту енергетичного обміну показали, що споживання енергонапою призводить до підвищення рівня аденозитрифосфорної кислоти в гемолізаті еритроцитів на 10-40 %. На тлі активації гліколізу встановлено зниження активності регуляторного ензиму пентозофосфатного шляху – Г6ФДГ, що призводить до порушення синтезу

НАДФН₂, і може спричинити до структурної дестабілізації еритроцитів та розвиток гемолізу.

8. Проведені дослідження дозволили встановити розвиток дисмікроелементозу в експериментальних тварин за умов споживання енергонапою, найбільш характерними ознаками якого є зростання вмісту Магнію на 1-у добу в 1,1 раза та Цинку в 1,9 раза на тлі високого рівня Мангану упродовж всього періоду дослідження. Характерною ознакою для такого стану є зниження рівня Феруму : на 1-у добу – в 3 рази ($p < 0,001$) та на 30-у добу – в 1,2 раза ($p < 0,001$), рівня Селену на 1-у та 30-у доби в 10,6 раза ($p < 0,001$) та 1,5 раза ($p < 0,001$) відповідно, що має істотний вплив на інтенсивність розвитку оксидативного стресу та активність ензимів, які перебувають під контролем цих елементів. Отримані результати дозволяють стверджувати, що за умов споживання енергетичного напою відбуваються суттєві зміни рівня регуляторних макро- та мікроелементів, що лежать в основі біохімічних механізмів порушень метаболічних процесів і розвитку патологічних станів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Антоняк ГЛ, Жилищич ЮВ, Панас НЄ. Вплив кадмію на популяційний склад і кислотну резистентність еритроцитів щурів. Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин і Державного науково-дослідного контрольного інституту ветпрепаратів та кормових добавок. 2014;15(1):11-16. Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Ntbibt_2014_15_1_3.
2. Гуранич СП, Воронич-Семченко НМ. Дослідження показників антиоксидантної системи та енергетичного обміну у щурів із інсулінорезистентністю, обтяженою йододефіцитом. Експерим. та клініч. фізіологія і біохімія. 2018;2(82):56-63.
3. Єфіменко НВ, Дудок КП, Сибірна НО. Вплив L-аргініну і L-name на функціональні та фізико-хімічні властивості гемоглобіну за експериментальної хронічної алкогольної інтоксикації. Біологічні студії. 2015;9(2):85-98. http://nbuv.gov.ua/UJRN/bist_2015_9_2_10.
4. Закон України "Про захист тварин від жорстокого поводження" (Відомості Верховної Ради України, 2006 р., № 27, ст. 230; 2021 р., № 47, ст. 382).
5. Іскра РЯ, Слівінська ОМ. Вплив цитрату хрому на вуглеводний обмін у крові щурів за стрептозотоциніндукованого діабету. Експериментальна та клінічна біохімія. 2014; 16-19.
6. Коба ЛВ, Ніпот ОЄ, Шапкіна ОО, Жуйкова АЄ, Бондаренко ВА. Вікові особливості чутливості еритроцитів щурів. Біологія тварин. 2019;21(1): 27–33. Available from: <http://dx.doi.org/10.15407/animbiol21.01.027>.
7. Копильчук ГП, Бучковська ІМ, Скрипник МГ. Вміст різних форм гемоглобіну в еритроцитах щурів за умов білкової недостатності Біологічні системи. 2014; 6(2):153-158.
8. Король Т, Вивірка М. Морфологічні особливості та показники кислотного гемолізу еритроцитів алкоголізованих щурів для дії таурину. У

Notes in Current Biology. Волинський національний університет імені Лесі Українки. 2019; 3(387):123-130. Available from: <http://dx.doi.org/10.29038/2617-4723-2019-387-123-130>.

9. Космачевська ОВ, Топунов АФ, Альтернативні та додаткові функції еритроцитарного гемоглобіна. Огляд. Біохімія. 2019;84(1):3 – 23.

10. Костіна ОО, Гудима АА. Особливості динаміки показників ендогенної інтоксикації при індукованому соляною кислотою гострому ураженні легень. Медична та клінічна хімія. 2016;18(3):59-62.

11. Курас ЛД, Ерстенюк АМ. Показники енергетичного обміну в серцевій тканині експериментальних тварин за умов впливу кадмій хлориду. Медична та клінічна хімія. Тернопільський державний медичний університет. 2019;1:25–31. Available from: <http://dx.doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2019.v0.i1.9900>.

12. Лихацький ПГ, Фіра ВД, Фіра ЛС, Бойко ЛА. Розвиток ендогенної інтоксикації у щурів за умов нітритно-тютюнового токсикозу після застосування карболайну. Вісник медичних і біологічних досліджень, 2022;(1), 57-63.

13. Нестерук СО, Кліщ ІМ. Показники ендогенної інтоксикації у щурів за умов хронічної алкогольної інтоксикації. Medical and Clinical Chemistry. Ternopil State Medical University. 2023;1:29–33. Available from: <http://dx.doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2023.i1.13713>.

14. Парцей ХЮ, Артиш МБ, Литвинюк НІ, Слободян ЗО, Ерстенюк АМ. Стан еритроцитарних мембран та гематологічні індекси щурів за умов споживання енергетичного напою. Український журнал медицини, біології та спорту. 2017;5:188-191. <https://doi.org/10.26693/jmbs02.05.188>.

15. Парцей ХЮ, Ерстенюк ГМ. Активність глутатіонової системи еритроцитів за умов споживання енергетика. Sciences of Europe. 2022;92:3-7. <https://doi.org/10.5281/zenodo.6532820>.

16. Парцей ХЮ, Ерстенюк ГМ. Дослідження форм гемоглобіну за умов споживання енергетичного напою. *The Animal Biology*. 2024;26(1):40-44. <https://doi.org/10.15407/animbior26.01.00>.
17. Парцей ХЮ, Лихацький ПГ. Стан еритроцитарних мембран та ендогенної інтоксикації еритроцитів за умов споживання енергетичного напою. *Medical and Clinical Chemistry*. 2024;1:35-39. <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2024.i1.14595>.
18. Парцей ХЮ. Зміни показників вуглеводного обміну еритроцитів щурів за умов споживання енергонапою. *Medical and Clinical Chemistry*. 2022;2:61-67. <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2022.i2.13207>.
19. Петренко ОВ, Натрус ЛВ, Таварткиладзе КК. Роль функціонального стану еритроцитів у патогенезі та розвитку діабетичної ретинопатії (огляд літератури) Зб. наук. праць співробіт. НМАПО імені П. Л. Шупика 32/2018.
20. Рущька АВ. Дослідження ензимної ланки антиоксидантної системи в щурів за умови дії тютюнового диму на тлі застосування натрійного глутамату в статевому і віковому аспектах. *Медична та клінічна хімія. Тернопільський державний медичний університет*. 2018;3:145-153. Available from: <http://dx.doi.org/10.11603/mcch.2410-681x.2018.v0.i3.9584>.
21. Салига ЮТ, Росаловський В. Вплив хлорпірифосної інтоксикації на біохімічні та еритроцитарні параметри крові щурів. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*. 2016;71:56–64.
22. Слівінська О. М. Вплив цитрату цинку на антиоксидантний захист у печінці та підшлунковій залозі щурів за експериментального діабету. *Український журнал медицини, біології та спорту*. 2017; 4(6): 189-193.
23. Солдатюк ВМ, Рожко ММ, Ерстенюк ГМ. Біохімічні зміни ротової рідини у пацієнтів з дефектами зубних рядів, що користуються незнімними конструкціями протезів. *Вісник проблем біології і медицини*. 2015; 2/4(121):351-54.

24. Яніцька ЛВ. Зміни гемолітичної стійкості та проникності еритроцитарних мембран при токсичному ураженні 1,2-дихлоретаном та корекції нікотинамідом. Вісник Вінницького національного медичного університету. 2015;2(19):303-305.

25. Abdoli F, Davoudi M, Momeni F, Djafari F, Dolatshahi B, Hosseinzadeh S, et al. Estimate the prevalence of daily caffeine consumption, caffeine use disorder, caffeine withdrawal and perceived harm in Iran: a cross-sectional study. *Scientific Reports*. Springer Science and Business Media LLC. 2024;14:7644. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-024-58496-8>.

26. Abosamak N, Gupta V. Vitamin B6 (Pyridoxine). StatPearls Publishing, Treasure Island. 2021. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557436/>.

27. Adeva-Andany M, López-Ojén M, Funcasta-Calderón R, Ameneiros-Rodríguez E, Donapetry-García C, Vila-Altesor M, Rodríguez-Seijas J. Comprehensive review on lactate metabolism in human health. *Mitochondrion*. 2014 Jul;17:76-100.

28. Ahmadian M, Roshan D, Ashourpore E. Taurine supplementation improves functional capacity, myocardial oxygen consumption and electrical activity in heart failure. *J. Diet. Suppl.* 2017;14:422-432.

29. Ajibo C, Van Griethuysen A, Visram S, Lake AA. Consumption of energy drinks by children and young people: a systematic review examining evidence of physical effects and consumer attitudes. *Public Health*. Elsevier BV. 2024;227:274–81. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.puhe.2023.08.024>.

30. Al Saikhan FI. Hepatic & renal toxicity of energy drinks, a serious health risk, wistar albino rats study. *J Pharm Res Int*. 2020; 32(7): 48-53.

31. Al Yacoub R, Luczkiewicz D, Kerr C. Acute kidney injury and hepatitis associated with energy drink consumption: a case report. *Journal of Medical Case Reports*. 2020;14: 23-26. <https://doi.org/10.1186/s13256-019-2340-0>.

32. Al-Basher GI, Aljabal H, Almeer RS, Allam AA, Mahmoud AM. Perinatal exposure to energy drink induces oxidative damage in the liver, kidney and brain, and behavioral alterations in mice offspring. *BioMedicine*. 2018;102:798–811.
33. Alexander K, Hazegh K, Fang F, Sinchar D, Kiss JE, Page GP, et al. Testosterone replacement therapy in blood donors modulates erythrocyte metabolism and susceptibility to hemolysis in cold storage. *Transfusion*. Wiley. 2020;61:108–23. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/trf.16141>.
34. Ali F, Rehman H, Babayan Z, Stapleton D, Joshi DD. Energy drinks and their adverse health effects: A systematic review of the current evidence. *Postgraduate Medicine*. Informa UK Limited. 2015;127:308–22. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/00325481.2015.1001712>.
35. Alimova s. Renal parenchyma of energy drinks influence on morpho-functional changes. *Experimental Studies*. 2024 Apr. 13 [cited 2024 May 19];2(3):79-83. Available from: <https://imfaktor.com/index.php/joes/article/view/1187>.
36. Almeida LEF, Smith ML, Kamimura S, Vogel S, Quezado ZMN. Calcium flux alterations in erythrocytes from sickle cell mice: The relevance of mean corpuscular volume. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*. Elsevier BV. 2024;104:102800. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcnd.2023.102800>.
37. Almulla AA, Faris MAIE. Energy Drinks Consumption Is Associated With Reduced Sleep Duration and Increased Energy-Dense Fast Foods Consumption Among School Students: A Cross-Sectional Study. *Asia Pacific Journal of Public Health*. SAGE Publications. 2020;32:266–73. Available from: <http://dx.doi.org/10.1177/1010539520931351>.
38. Al-Shaar L, Vercammen K, Lu C, Richardson S, Tamez M, Mattei J. Health effects and public health concerns of energy drink consumption in the United States: a mini-review. *Front Public Health*. 2017;5:1–4.

39. Alsunni AA. Energy Drink Consumption: Beneficial and Adverse Health Effects International Journal of Health Sciences, Qassim University.2015;9(4).

40. Altalhi T, Edrees A, Al-halabi S, Alshehri H, Altalhi H, Althagafi A, et al. Energy drink consumption among medical students of Taif University. Journal of Family Medicine and Primary Care. Medknow. 2022;11(7):3950. Available from: http://dx.doi.org/10.4103/jfmpe.jfmpe_1952_21.

41. Ansari SM, Bhor RD, Pai KR, Sen D, Mazumder S, Ghosh K, et al. Cobalt nanoparticles for biomedical applications: Facile synthesis, physiochemical characterization, cytotoxicity behavior and biocompatibility. Applied Surface Science. Elsevier BV. 2017;414:171–87. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsusc.2017.03.002>.

42. Augoff K. Hryniewicz-Jankowska A, Tabola R. Lactate dehydrogenase 5: An old friend and a new hope in the war on cancer . Canc. Let. 2015; 358: 1–7.

43. Ayuob N, ElBeshbeishy R. Impact of energy drinks on the structure of stomach and pancreas of Albino rats. Can Omega -3 provide a protection? Pub Lib Sci One .2016;11(2):e0149191.

44. Baker MG, Simpson CD, Stover B, Sheppard L, Checkoway H, Racette BA, et al. Blood Manganese as an Exposure Biomarker: State of the Evidence. Journal of Occupational and Environmental Hygiene. Informa UK Limited. 2014;11(4):210–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/15459624.2013.852280>.

45. Barcelos RP, Lima FD, Carvalho NR, Bresciani G, Royes LF. Caffeine effects on systemic metabolism, oxidative-inflammatory pathways, and exercise performance. Nutrition Research. Elsevier BV. 2020;80:1–17. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nutres.2020.05.005>.

46. Bedi N, Dewan P, Gupta P. Energy drinks: Potions of illusion. Indian pediatrics. 2014;51(7):529-533.

47. Bertolone L, Roy MK, Hay AM, Morrison EJ, Stefanoni D, Fu X, et al. Impact of taurine on red blood cell metabolism and implications for blood storage. *Transfusion*. Wiley. 2020;60(6):1212–26. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/trf.15810>.
48. Bkaily G, Jazzar A, Normand A, Simon Y, Al-Khoury J, Jacques D. Taurine and cardiac disease: state of the art and perspectives. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. Canadian Science Publishing. 2020;98:67–73. Available from: <http://dx.doi.org/10.1139/cjpp-2019-0313>.
49. Boulton J, Hashem KM, Jenner KH, Lloyd-Williams F, Bromley H, Capewell S. How much sugar is hidden in drinks marketed to children? A survey of fruit juices, juice drinks and smoothies. *BMJ Open*. BMJ. 2016;6:e010330. Available from: <http://dx.doi.org/10.1136/bmjopen-2015-010330>.
50. Breda JJ, Whiting SH, Encarnação R, Norberg S, Jones R, Reinap M, et al. Energy drink consumption in Europe: a review of the risks, adverse health effects, and policy options to respond. *Front Public Health*. 2014;14(2):134.
51. Breda L, Rivella S. Modulators of Erythropoiesis. *Hematology/Oncology Clinics of North America*. Elsevier BV. 2014;28:375–86. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.hoc.2013.12.001>.
52. Brun JF, Varlet-Marie E, Myzia J, Raynaud de Mauverger E, Pretorius E. Metabolic Influences Modulating Erythrocyte Deformability and Eryptosis. *Metabolites*. MDPI AG. 2021;12:4. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/metabo12010004>.
53. Buks R, Dagher T, Rotordam M, Monedero Alonso D, Cochet S, Gautier EF, et al. Altered Ca²⁺ Homeostasis in Red Blood Cells of Polycythemia Vera Patients Following Disturbed Organelle Sorting during Terminal Erythropoiesis. *Cells*. MDPI AG. 2021;11:49. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/cells11010049>.
54. Bulut B, Beyhun NE, Topbaş M, Çan G. Energy Drink Use in University Students and Associated Factors. *Journal of Community Health*.

Springer Science and Business Media LLC. 2014;39:1004–11. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s10900-014-9849-3>.

55. Caine JJ, Geraciotti TD. Taurine, energy drinks, and neuroendocrine effects. *Cleveland Clinic Journal of Medicine*. Cleveland Clinic Journal of Medicine. 2016;83(12):895–904. Available from: <http://dx.doi.org/10.3949/ccjm.83a.15050>.

56. Camargo RL, Branco RC, de Rezende LF, Vettorazzi JF et al. The effect of taurine supplementation on glucose homeostasis: the role of insulin-degrading enzyme. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2015;803:715–24.

57. Cappelletti S, Daria P, Sani G, Aromatario M. Caffeine: Cognitive and Physical Performance Enhancer or Psychoactive Drug? *Current Neuropharmacology*. Bentham Science Publishers Ltd. 2015;13(1):71–88. Available from: <http://dx.doi.org/10.2174/1570159X13666141210215655>.

58. Chakrabarti A, Banerjee T, Saha P. Role of calcium in the pathophysiology of anemia. *J Assoc Physicians India*. 2016;64(6):61-65.

59. Chakravarthi Bachina, Dr. N. Madhavan. A Literary Review On Potential Health Risks Of “Soft Drinks”. *Journal of Namibian Studies : History Politics Culture*. 2023;35:4246-4263. <https://doi.org/10.59670/jns.v35i.4424>.

60. Chauhan V, Piracha. Energy drinks’ effect on kidneys and health. 2021. Available from: <https://www.verywellhealth.com/energy-drinks-effect-on-kidneys-and-health-2085792>. Accessed 5 July 2021.

61. Chen C, Xia S, He J, Lu G, Xie Z, Han H. Roles of taurine in cognitive function of physiology, pathologies and toxication. *Life Sciences*. Elsevier BV. 2019;231:116584. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lfs.2019.116584>.

62. Chen YH, Feng HL, Jeng SS. Zinc Supplementation Stimulates Red Blood Cell Formation in Rats. *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG. 2018;19(9):2824. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms19092824>.

63. Cheng M, Hu Z, Lu X, Huang J, Gu D. Caffeine intake and atrial fibrillation incidence: dose response meta-analysis of prospective cohort studies. *Canadian Journal of Cardiology*. 2014;30:448-454.
64. Cho HJ, Choi SH, Kim HJ, Lee BH, Rhim H, Kim HC et al. Bioactive lipids in gintonin-enriched fraction from ginseng. *J Ginseng Res*. 2019;43:209e17.
65. Choi SY, Kim KJ, Song JH, Lee BY. Ginsenoside Rg5 prevents apoptosis by modulating heme-oxygenase-1/nuclear factor E2-related factor 2 signaling and alters the expression of cognitive impairment-associated genes in thermal stress-exposed HT22 cells. *J Ginseng Res*. 2018;42:225e8.
66. Clapp O, Morgan MZ, Fairchild RM. The top five selling UK energy drinks: implications for dental and general health. *British Dental Journal*. Springer Science and Business Media LLC. 2019;226:493–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41415-019-0114-0>.
67. Collins JF. Copper: Basic Physiological and Nutritional Aspects. In: Collins JF, editor. *Mol Genet Nutr Asp Major Trace Miner*. Cambridge: Academic Press. 2016;69–83.
68. Czarnek K, Terpiłowska S, Siwicki AK. Review paper Selected aspects of the action of cobalt ions in the human body. *Central European Journal of Immunology*. Termedia Sp. z.o.o. 2015;2:236–42. Available from: <http://dx.doi.org/10.5114/ceji.2015.52837>.
69. D'Alessandro A, Anastasiadi AT, Tzounakas VL, Nemkov T, Reisz JA, Kriebardis AG, et al. Red Blood Cell Metabolism In Vivo and In Vitro. *Metabolites*. MDPI AG. 2023;13:793. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/metabo13070793>.
70. D'Alessandro A, Hansen KC, Eisenmesser EZ, Zimring JC. Protect, repair, destroy or sacrifice: a role of oxidative stress biology in inter-donor variability of blood storage? *Blood Transfusion*. 2019;17:281–8. Available from: <https://doi.org/10.2450/2019.0072-19>.
71. de Aquino Gondim T, Guedes JAC, de Godoy Alves Filho E, da Silva GS, Nina NV dos S, do Nascimento Filho FJ, et al. Metabolomic approaches to

explore chemodiversity in seeds of guaraná (*Paullinia cupana*) using UPLC-QTOF-MSE and NMR analysis. *Analytical Methods*. Royal Society of Chemistry (RSC). 2024;16:1158–74. Available from: <http://dx.doi.org/10.1039/D3AY01737K>.

72. de Aquino JCD, Souza CFC, de Jesus Santos JR, Joachim-Bravo IS. Adding guarana powder to medfly diets: an alternative for improving the Sterile Insect Technique. *Scientia Agricola*. 2016;73(3):294-298.

73. Demasi M, Augusto O, Bechara EJH, Bicev RN et al. Oxidative modification of proteins: from damage to catalysis, signaling, and beyond. *Antioxidants & Redox Signaling*. 2021;35(12):1016-1080. <https://doi.org/10.1089/ars.2020.8176>.

74. Demkovych A, Shcherba V, Yaremchuk O, Stoikevych H, Machogan V, Luchynskiy V. Effects of flavonol quercetin on syndrome of endogenous intoxication in experimental periodontitis. *Pharmacia*. 2021;68(3):627-632. <https://doi.org/10.3897/pharmacia.68.e67341>.

75. Dias Teixeira C, Oliveira Barbosa P, Oliveira de Souza M. Effects of guarana (*Paullinia cupana*) powder on obesity-associated diseases in animal models: A systematic review. *Journal of Functional Foods*. Elsevier BV. 2024;112:105944. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2023.105944>.

76. Dias TR, Alves MG, Bernardino RL, Martins AD, Moreira AC, Silva J, Barros A, Sousa M, Silva BM, Oliveira PF. Dose-dependent effects of caffeine in human Sertoli cells metabolism and oxidative profile: Relevance for male fertility. *Toxicology*. 2015;328:12-20.

77. Długaszek M. Studies on relationships between essential and toxic elements in selected body fluids, cells and tissues. *Chemico-Biological Interactions*. Elsevier BV. 2019;297:57–66. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbi.2018.10.011>.

78. Dotsenko OI, Taradina GV, Voronych MV. Enzyme protection systems of erythrocytes in conditions of ascorbate recirculation and oxidative loading. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. Oles Honchar Dnipropetrovsk

National University. 2018;9(4):584–90. Available from: <http://dx.doi.org/10.15421/021887>.

79. Dudok KP, Burda VA, Liuta MYa, Fedorovych AM, Bilyi OI, et al. Physicochemical properties of hemoglobin ligand forms under experimental streptozotocin-induced diabetes and alcohol intoxication. *Studia Biologica*. Ivan Franko National University of Lviv. 2017;11:23–36. Available from: <http://dx.doi.org/10.30970/sbi.1102.527>.

80. Ehlers A, Marakis G, Lampen A, Hirsch-Ernst KI. Risk assessment of energy drinks with focus on cardiovascular parameters and energy drink consumption in Europe. *Food and Chemical Toxicology*. Elsevier BV. 2019;130:109–21. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2019.05.028>.

81. Eltahir HM, Alamri G, Alamri A, Aloufi A, Nazmy M, Elbadawy H, et al. The metabolic disorders associated with chronic consumption of soft and energy drinks in rats*. *Acta Biochimica Polonica*. Polskie Towarzystwo Biochemiczne (Polish Biochemical Society);19 March 2020. Available from: http://dx.doi.org/10.18388/abp.2020_2914.

82. Enegeta OA, Anjum F. Pyruvate Kinase Deficiency, in *StatPearls (Treasure Island (FL))*. 2021.

83. Espinosa JC, Sobrino MF. Caffeine and headache: specific remarks. *Neurologia (Barcelona, Spain)*. 2015.

84. European Food Safety Authority (EFSA) Science Strategy 2012—2016. 39c. Available from: <http://www.efsa.europa.eu/en/corporate/pub/sciencestrategy12>.

85. European Food Safety Authority (EFSA), Álvarez F, Camargo AM, Devos Y. Assessment of the 2017 post-market environmental monitoring report on the cultivation of genetically modified maize MON 810. *EFSA*. 2019;17(4):5742 Available from: <https://data.europa.eu/doi/10.2903/j.efsa.2019.5742>.

86. Fernández-Lázaro D, Fernandez-Lazaro CI, Mielgo-Ayuso J, Navascués LJ, Córdova Martínez A, Seco-Calvo J. The Role of Selenium Mineral Trace Element in Exercise: Antioxidant Defense System, Muscle Performance,

Hormone Response, and Athletic Performance. A Systematic Review. *Nutrients*. MDPI AG. 2020;12(6):1790. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/nu12061790>.

87. Fletcher EA, Lacey CS, Aaron M, Kolasa M, Occiano A, Shah SA. Randomized Controlled Trial of High-Volume Energy Drink Versus Caffeine Consumption on ECG and Hemodynamic Parameters. *Journal of the American Heart Association* 2017;6(5):1-8.

88. Forrester SJ, Kikuchi DS, Hernandez MS, Xu Q, Griendling KK. Reactive oxygen species in metabolic and inflammatory signaling. *Circ Res*. 2018;122(6):877-902.

89. Franco R, Navarro G, Martínez-Pinilla E. Antioxidant Defense Mechanisms in Erythrocytes and in the Central Nervous System. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*. 2019;8(2):46.

90. Fructose and fatty liver – why sugar is a toxin (<https://www.dietdoctor.com/fructose-fatty-liver-sugar-toxin>).

91. Ganz T. Erythropoietic regulators of iron metabolism. *Free Radical Biology and Medicine*. Elsevier BV. 2019;133:69–74. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.07.003>.

92. Gebicka L, Krych-Madej J. The role of catalases in the prevention/promotion of oxidative stress. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 2019;197:110699. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2019.110699>.

93. Gheith I. Clinical Pathology of caffeinated and non-caffeinated energy drinks: Review. *Life Sci J*. 2017;14:16.

94. Ghozayel M, Ghaddar A, Farhat G, Nasreddine L, Kara J, Jomaa L. Energy drinks consumption and perceptions among University Students in Beirut, Lebanon: A mixed methods approach. *PLOS ONE*. Public Library of Science (PLoS). 2020;15(4):e0232199. Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0232199>.

95. Goldfarb M, Tellier C, Thanassoulis G. Review of published cases of adverse cardiovascular events after ingestion of energy drinks. *The American journal of cardiology*. 2014;113(1):168-172.

96. González W, Altieri P, Alvarado E, Banchs H, Colón E, Escobales N, et al. Celiac trunk and branches dissection due to energy drink consumption and heavy resistance exercise: case report and review of literature. *Boletín de la Asociación Médica de Puerto Rico*. 2014;107(1):38-40.

97. Grace RF, Zanella A, Neufeld EJ, Morton DH, Eber S, Yaish H, et al. Erythrocyte pyruvate kinase deficiency: 2015 status report. *American Journal of Hematology*. Wiley. 2015;90:825–30. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/ajh.24088>.

98. Graneri LT, Mamo JCL, D'Alonzo Z, Lam V, Takechi R. Chronic Intake of Energy Drinks and Their Sugar Free Substitution Similarly Promotes Metabolic Syndrome. *Nutrients*. MDPI AG. 2021;13:1202. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/nu13041202>.

99. Grasser EK, Dulloo AG, Montani JP. Cardiovascular and Cerebrovascular Effects in Response to Red Bull Consumption Combined With Mental Stress. *The American Journal of Cardiology*. Elsevier BV. 2015;115:183–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.amjcard.2014.10.017>.

100. Grasser EK, Yepuri G, Dulloo AG, Montani JP. Cardio- and cerebrovascular responses to the energy drink Red Bull in young adults: a randomized cross-over study. *European Journal of Nutrition*. Springer Science and Business Media LLC. 2014;53:1561–71. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s00394-014-0661-8>.

101. Greene E, Oman K, Lefler M. Energy Drink–Induced Acute Kidney Injury. *Annals of Pharmacotherapy*. 2014;48(10):1366-1370.

102. Greenwood DC, Threapleton DE, Evans CEL, Cleghorn CL, Nykjaer C, Woodhead C, et al. Association between sugar-sweetened and artificially sweetened soft drinks and type 2 diabetes: systematic review and dose–response meta-analysis of prospective studies. *British Journal of Nutrition*. Cambridge

University Press (CUP). 2014;112:725–34. Available from: <http://dx.doi.org/10.1017/S0007114514001329>.

103. Grgic J, Mikulic P, Schoenfeld BJ, Bishop DJ, Pedisic Z. The Influence of Caffeine Supplementation on Resistance Exercise: A Review. *Sports Medicine*. Springer Science and Business Media LLC. 2018;49:17–30. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s40279-018-0997-y>.

104. Gröber U, Schmidt J, Kisters K. Magnesium in Prevention and Therapy. *Nutrients*. MDPI AG. 2015;7:8199–226. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/nu7095388>.

105. Grochowski C, Blicharska E, Baj J, Mierzwińska A, Brzozowska K, Forma A, et al. Serum iron, Magnesium, Copper, and Manganese Levels in Alcoholism: A Systematic Review. *Molecules*. MDPI AG. 2019;24:1361. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules24071361>.

106. Gross D, Tolba RH. Ethics in Animal-Based Research. *Eur Surg Res*. 2015 Apr;55(1-2), 43-57. Available from: <http://dx.doi.org/10.1159/000377721>.

107. Guo J, Gao Y, Cao X, Zhang J, Chen W. Cholesterol-lowering effect of taurine in HepG2 cell. *Lipids in Health and Disease*. Springer Science and Business Media LLC. 2017;16:56. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s12944-017-0444-3>.

108. Han SY, Kim J, Kim E, Kim SH, Seo DB, Kim JH et al. AKT-targeted anti-inflammatory activity of Panax ginseng calyx ethanolic extract. *J Ginseng Res*. 2018;42:496e503.

109. Harpaz E, Tamir S, Weinstein A, Weinstein Y. The effect of caffeine on energy balance. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*. Walter de Gruyter GmbH. 2017;28:1–10. Available from: <http://dx.doi.org/10.1515/jbcpp-2016-0090>.

110. Hawkins CL, Davies MJ. Detection, identification, and quantification of oxidative protein modifications. *Reviews*. 2019;294(51): 19683-19708. <https://doi.org/10.1074/jbc.REV119.006217>.

111. Hazegh K, Fang F, Bravo MD, Tran JQ, Muench MO, Jackman RP, et al. Blood donor obesity is associated with changes in red blood cell metabolism and susceptibility to hemolysis in cold storage and in response to osmotic and oxidative stress. *Transfusion*. Wiley. 2020;61:435–48. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/trf.16168>.

112. He W, Hu S, Du X, Wen Q, Zhong XP, Zhou X et al. Vitamin B5 reduces bacterial growth via regulating innate immunity and adaptive immunity in mice infected with mycobacterium tuberculosis. *Front Immunol*. 2018;9:365.

113. Heffernan S, Horner K, De Vito G, Conway G. The Role of Mineral and Trace Element Supplementation in Exercise and Athletic Performance: A Systematic Review. *Nutrients*. MDPI AG. 2019;11(3): 696. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/nu11030696>.

114. Hess JR, Solheim BG. Red blood cell metabolism, preservation, and oxygen delivery. Rossi's Principles of Transfusion Medicine. John Wiley & Sons, Ltd. 2016;97–109. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/9781119013020.ch09>.

115. Hicks W, Jana S, Kassa T, Prince R, Cabrales P, Friedman J, et al. Biopreservation and Reversal of Oxidative Injury During Blood Storage by a Novel Curcumin-based Gel Formulation . Research Square Platform LLC. 2024. Available from: <http://dx.doi.org/10.21203/rs.3.rs-4277591/v1>.

116. Hosoi T, Toyoda K, Nakatsu K, Ozawa K. Caffeine attenuated ER stress-induced leptin resistance in neurons. *Neuroscience Letters*. Elsevier BV. 2014;569:23–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neulet.2014.03.053>.

117. Huang B, Kunkel D, El Kabany M. Acute Liver Failure Following One Year of Daily Consumption of a Sugar-Free Energy Drink. *ACG case reports journal*. 2014;1(4):214.

118. Ismail TA, Nassan MA, Alkhedaide AQ, Soliman MM, Mohamed DI. Molecular, biochemical, and pathological impacts of energy drinks on renin–angiotensin–aldosterone pathway in Wistar rats. *Natl J Physiol Pharm Pharmacol*. 2018;8(8):1140-1146.

119. Jia W, Guo A, Zhang R, Shi L. Mechanism of natural antioxidants regulating advanced glycosylation end products of Maillard reaction. *Food Chem.* 2023;404(Pt A):134541. doi: 10.1016/j.foodchem.2022.134541 .

120. Jouda J, Al-Sudani AJ, Al-Jaff SHK. Incomplete Spermatogenesis, Leukocytosis and Thrombocytosis Appeared with Energy Drink Consumption in Mice at Differences Consuming Periods and Concentrations. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*. ResearchersLinks Ltd. 2019;7 Available from: <http://dx.doi.org/10.17582/journal.aavs/2019/7.5.356.360>.

121. K, Pathak VK, Chamola SK. Association of hypertension with consumption of energy drinks in an adolescent male. *International Journal Of Community Medicine And Public Health*. Medip Academy. 2023;10(5):1939–41. Available from: <http://dx.doi.org/10.18203/2394-6040.ijcmph20231300>.

122. Kadam A, Deshmukh R. Energy Drinks Market by Type (Alcoholic, Nonalcoholic), by End User (Kids, Adults, Teenagers): Global Opportunity Analysis and Industry Forecast, 2020–2031. 2022. Available from: <https://www.alliedmarketresearch.com/energy-drink-market> (2022).

123. Kaestner L, Minetti G. The potential of erythrocytes as cellular aging models. *Cell Death & Differentiation*. Springer Science and Business Media LLC. 2017;24:1475–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/cdd.2017.100>.

124. Kennedy DO. B vitamins and the brain: mechanisms, dose and efficacy a review. *Nutrients*. 2016;8:68.

125. Khayyat L, Essawy A, Sorour J, Al Rawi M. Impact of Some Energy Drinks on the Structure and Function of the Kidney in Wistar Albino Rats. *Life Sci J*. 2014;11(10):1131-1138.

126. Khouja C, Kneale D, Brunton G, Raine G, Stansfield C, Sowden A, et al. Consumption and effects of caffeinated energy drinks in young people: an overview of systematic reviews and secondary analysis of UK data to inform policy. *BMJ Open*. BMJ. 2022;12:e047746. Available from: <http://dx.doi.org/10.1136/bmjopen-2020-047746>.

127. Kim H, Park J, Lee S, Lee SA, Park EC. Association between energy drink consumption, depression and suicide ideation in Korean adolescents. *International Journal of Social Psychiatry*. SAGE Publications. 2020;66:335–43. Available from: <http://dx.doi.org/10.1177/0020764020907946>.

128. Kim KH, Lee D, Lee HL, Kim CE, Jung K, Kang KS. Beneficial effects of Panax ginseng for the treatment and prevention of neurodegenerative diseases: past findings and future directions. *J Ginseng Res*. 2018;42:239e47.

129. Kim MK, Kang H, Baek CW, Jung YH, Woo YC, Choi GJ, Shin HY, Kim KS. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of ginsenoside Rf in a rat model of incisional pain. *J Ginseng Res*. 2018;42:183e91.

130. Kober H, Tatsch E, Torbitz VD, Cargnin LP, Sangoi MB, Bochi GV et al. Genoprotective and hepatoprotective effects of guarana (*Paullinia cupana* Mart. var. *sorbilis*) on CCl₄-induced liver damage in rats. *Drug and Chemical Toxicology*. 2016;39(1):48-52.

131. Kopylchuk H, Nykolaichuk I, Kliuchnyk Y. The content of methemoglobin and carboxyhemoglobin in rats red blood cell under the toxic damage after alimentary protein deprivation. *Biologichni systemy. Yuriy Fedkovych Chernivtsi National University*. 2019;11:122–31. Available from: <http://dx.doi.org/10.31861/biosystems2019.02.122>.

132. Kopylchuk H, Nykolaichuk I. Basic components of glutathion system in rat erythrocytes under conditions of toxic damage on the background of an alimental protein lack. *Biologichni systemy. Yuriy Fedkovych Chernivtsi National University*. 2020;12:31–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.31861/biosystems2020.01.031>.

133. Kosmachevskaya OV, Novikova NN, Topunov AF. Carbonyl Stress in Red Blood Cells and Hemoglobin. *Antioxidants*. MDPI AG. 2021;10:253. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/antiox10020253>.

134. Kuhn V, Diederich L, Keller TCS IV, Kramer CM, Lückstädt W, Panknin C, et al. Red Blood Cell Function and Dysfunction: Redox Regulation, Nitric Oxide Metabolism, Anemia. *Antioxidants & Redox Signaling*. Mary

Ann Liebert Inc. 2017;26(13):718–42. Available from: <http://dx.doi.org/10.1089/ars.2016.6954>.

135. Kursov S., Nikonov V., Biletskyi O., Feskov O. Formation of excessive amount of endogenous carbon monoxide and increase of carboxylated hemoglobin content in patients with polytrauma. *Georgian Med News*. 2019;(288):20-26.

136. Kursov SV, Nikonov VV, Biletskyi OV, Feskov OE, Skoroplit SM. Physiology of magnesium metabolism and the use of magnesium in intensive care (part 2). *Emergency medicine*. Publishing House Zaslavsky. 2021;17(6):17–27. Available from: <http://dx.doi.org/10.22141/2224-0586.17.6.2021.242323>.

137. Lambert IH, Kristensen DM, Holm JB, Mortensen OH. Physiological role of taurine – from organism to organelle. *Acta Physiologica*. Wiley. 2014;231(1):191–212. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/apha.12365>.

138. Lee A, Lim W, Kim S, Khil H, Cheon E, An S, et al. Coffee Intake and Obesity: A Meta-Analysis. *Nutrients*. MDPI AG. 2019;11(6):1274. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/nu11061274>.

139. Lee BH, Choi SH, Kim HJ, Park SD, Rhim H, Kim HC et al. Gintonin absorption in intestinal model systems. *J Ginseng Res*. 2018;42:35e41.

140. Lee D, Lee DS, Jung K, Hwang GS, Lee HL, Yamabe N et al. Protective effect of ginsenoside Rb1 against tacrolimus-induced apoptosis in renal proximal tubular LLC-PK1 cells. *J Ginseng Res* 2018;42:75e80.

141. Lewandowski Ł, Kepinska M, Milnerowicz H. Inhibition of copper-zinc superoxide dismutase activity by selected environmental xenobiotics. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. Elsevier BV. 2018;58:105–13. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.etap.2017.12.022>.

142. Leyssens L, Vinck B, Van Der Straeten C, Wuyts F, Maes L. Cobalt toxicity in humans—A review of the potential sources and systemic health effects. Elsevier BV. 2017;387:43–56. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tox.2017.05.015>.

143. Li S, Tan HY, Wang N. et al. The role of oxidative stress and antioxidants in liver diseases. *Int. J. Mol. Sci.* 2015;16:26087-26124. <https://doi.org/10.3390%2Fijms161125942>.

144. Lima AKO, Silveira AP, Silva RC, Machado YAA, de Araújo AR, de Mendonça Araujo SS, et al. Phytosynthesis of silver nanoparticles using guarana (*Paullinia cupana* Kunth) leaf extract employing different routes: characterization and investigation of in vitro bioactivities. *Biomass Conversion and Biorefinery*. Springer Science and Business Media LLC. 2024. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s13399-023-05250-1>.

145. Luzzatto L, Nannelli C, Notaro R. Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency. *Hematology/Oncology Clinics of North America*. Elsevier BV. 2016;30(2):373–93. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.hoc.2015.11.006>.

146. Lyhatskyi PH, Fira LS, Fira DB, Kuzmak IP. Molecular mechanisms of metabolic disorders in the organs of rats of different ages affected by sodium nitrite in the context of tobacco intoxication. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. Oles Honchar Dnipropetrovsk National University. 2017;8:259–64. Available from: <http://dx.doi.org/10.15421/021740>.

147. Lykhatskyi PH, Fira LS. Activity of oxidative processes in the rats' body of different age, affected by sodium nitrite, on the background of tobacco intoxication. *The Pharma Innovation*. India. 2017;6(6):18–24.

148. Lys OB, Regeda MS. Endogenic intoxication in blood under conditions of combination pathology – immobilizational stress and adrenaline myocardial damage and correction of L-arginin. *Journal of Education, Health and Sport*. 2019;9(3):218-224. <https://doi.org/10.5281/zenodo.2592532>.

149. M'Touguy I, Iounes N, Mahfoud FZ, Chhail M, Khatib AE, Saile R, et al. Survey of the Consumption of Energy Drinks and Frequency of Obesity in a Population of Academics from Casablanca. *OALib*. Scientific Research Publishing, Inc. 2016;3:1–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.4236/oalib.1103259>.

150. Macdonald IA. A review of recent evidence relating to sugars, insulin resistance and diabetes. *European Journal of Nutrition*. Springer Science and Business Media LLC. 2016;55:17–23. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s00394-016-1340-8>.

151. Machado VS, Oikonomou G, Lima SF, Bicalho MLS, Kacar C, Foditsch C, et al. The effect of injectable trace minerals (selenium, copper, zinc, and manganese) on peripheral blood leukocyte activity and serum superoxide dismutase activity of lactating Holstein cows. *The Veterinary Journal*. Elsevier BV. 2014;200(2):299–304. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2014.02.026>.

152. Mansy W, Alogaiel DM, Hanafi M, Zakaria E. Effects of chronic consumption of energy drinks on liver and kidney of experimental rats. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. African Journals Online (AJOL). 2018;16(2):2849. Available from: <http://dx.doi.org/10.4314/tjpr.v16i12.8>.

153. Margaritis I. Energy Drinks: A Widely Underestimated Public Health Problem. 2014; Available from: <http://www.atlantico.fr/decryptage/boissons-energisantes-probleme-sante-publique-largement-estime-irene-margaritis-960520.html/page/0/1>.

154. Marques LLM, Ribeiro FM, Nakamura CV, Simionato AS, Andrade G, Zielinski AAF, et al. Metabolomic profiling and correlations of supercritical extracts of guarana. *Natural Product Research*. Informa UK Limited; 2022;38:347–53. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/14786419.2022.2116705>.

155. Masengo L, Sampasa-Kanyinga H, Chaput JP, Hamilton HA, Colman I. Energy drink consumption, psychological distress, and suicidality among middle and high school students. *Journal of Affective Disorders*. Elsevier BV. 2020;268:102–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jad.2020.03.004>.

156. Maurya PK, Kumar P, Chandra P. Biomarkers of oxidative stress in erythrocytes as a function of human age. *World Journal of Methodology*. Baishideng Publishing Group Inc. 2015;5(4):216. Available from: <http://dx.doi.org/10.5662/wjm.v5.i4.216>.

157. Maurya R, Namdeo M. Superoxide Dismutase: A Key Enzyme for the Survival of Intracellular Pathogens in Host. *Reactive Oxygen Species*. IntechOpen. 2022. Available from: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.100322>.

158. Maynar M, Bartolomé I, Alves J, Barrientos G, Grijota FJ, Robles MC, et al. Influence of a 6-month physical training program on serum and urinary concentrations of trace metals in middle distance elite runners. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*. Informa UK Limited. 2019;16(1):53. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s12970-019-0322-7>.

159. Maynar M, Grijota FJ, Siquier-Coll J, Bartolome I, Robles MC, Muñoz D. Erythrocyte concentrations of chromium, copper, manganese, molybdenum, selenium and zinc in subjects with different physical training levels. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*. Informa UK Limited. 2020;17:1–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s12970-020-00367-4>.

160. Meyer-Ficca M, Kirkland JB. Niacin. *Adv Nutr* (Bethesda, Md).2016;7:556–558.

161. Mittal M, Siddiqui MR, Tran K, Reddy SP, Malik AB. Reactive Oxygen Species in inflammation and tissue injury. *Antioxid Redox Signal*. 2014;20(7):1126-67.

162. Mohammed S. Short-term effects of energy drink on the body's health among young adults in Erbil city. *Zanco Journal of Medical Sciences*. Hawler Medical University. 2018;22(3):342–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.15218/zjms.2018.044>.

163. Moraes DPD, Ferreira DF, Cichoski AJ, Barcia MT, Barin JS. Ultrasound combined with microwave hydrodiffusion and gravity for enhancement of caffeine extraction from guarana powder. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. FapUNIFESP (SciELO). 2024;96(2). Available from: <http://dx.doi.org/10.1590/0001-3765202420230840>.

164. Morais JBS, Severo JS, Santos LR dos, de Sousa Melo SR, de Oliveira Santos R, de Oliveira ARS, et al. Role of Magnesium in Oxidative Stress in Individuals with Obesity. *Biological Trace Element Research*. Springer Science

and Business Media LLC. 2016;176:20–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s12011-016-0793-1>.

165. Moustakas D, Mezzio M, Rodriguez BR, Constable MA, Mulligan ME, Voura EB. Guarana provides additional stimulation over caffeine alone in the planarian model. *PloS one*.2015; e.0123310.

166. Mozaffarian D, Fahimi S, Singh GM, Micha R, Khatibzadeh S, Engell RE, et al. Global Sodium Consumption and Death from Cardiovascular Causes. *New England Journal of Medicine*. Massachusetts Medical Society. 2014;371(7):624–34. Available from: <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1304127>.

167. Muckenthaler MU, Rivella S, Hentze MW, Galy B. A Red Carpet for Iron Metabolism. *Cell*. Elsevier BV. 2017;168:344–61. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2016.12.034>.

168. Mulhern, Meredith and Sinha, Michael S. Labeling Energy Drinks: Tackling a Monster of a Problem (March 12, 2024). Saint Louis U. Legal Studies Research Paper No. 2024-05, *Journal of Food Law & Policy*, Forthcoming, Fall 2024, Available at SSRN: <https://ssrn.com/abstract=4782029>.

169. Munawar S, Nasreen S, Sharif K, Suhail M. Effects Of Caffeinated Soft Drinks & Energy Drinks On Adult Rat Body Weight, Liver Weight And Relative Tissue Weight Index *Pak Postgrad Med J* Apr. 2019;30(2):82-86.

170. Nadeem IM, Shanmugaraj A, Sakha S, Horner NS, Ayeni OR, Khan M. Energy Drinks and Their Adverse Health Effects: A Systematic Review and Meta-analysis. *Sports Health: A Multidisciplinary Approach*. SAGE Publications. 2020;13(3):265–77. Available from: <http://dx.doi.org/10.1177/1941738120949181>.

171. Nagai R, Shirakawa J ichi, Fujiwara Y, Ohno R ichi, Moroishi N, Sakata N, et al. Detection of AGEs as markers for carbohydrate metabolism and protein denaturation. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*. The Society for Free Radical Research Japan. 2014;55:1–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.3164/jcfn.13-112>.

172. Narain A, Kwok CS, Mamas MA. Soft drinks and sweetened beverages and the risk of cardiovascular disease and mortality: a systematic review

and meta-analysis. *International Journal of Clinical Practice*. Hindawi Limited. 2016;70:791–805. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/ijcp.12841>.

173. Nemkov T, Skinner SC, Nader E, Stefanoni D, Robert M, Cendali F, et al. Acute Cycling Exercise Induces Changes in Red Blood Cell Deformability and Membrane Lipid Remodeling. *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG. 2021;22:896. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms22020896>.

174. Nowak D, Jasionowski A. Analysis of the Consumption of Caffeinated Energy Drinks among Polish. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. MDPI AG. 2015;12:7910–21. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/ijerph120707910>.

175. O’Mathúna DP. Energy drinks to improve performance. Available from: <https://www.reliasmedia.com/articles/77975-energy-drinks-to-improve-performance>. Accessed 5 July 2021.

176. Oberhoffer FS, Li P, Jakob A, Dalla-Pozza R, Haas NA, Mandilaras G. Energy Drinks: Effects on Blood Pressure and Heart Rate in Children and Teenagers. A Randomized Trial. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. Frontiers Media SA. 2022;9. Available from: <http://dx.doi.org/10.3389/fcvm.2022.862041>.

177. Ojeka SO, Ukoro B, Onwoke EE. Antioxidant Effects of Vitamin C on Some Hematological Parameters of Male Wistar Rats Exposed to Lead Acetate. *International Blood Research & Reviews*. Sciencedomain International. 2024;15:10–21. Available from: <http://dx.doi.org/10.9734/ibrr/2024/v15i2335>.

178. Ostapiv RD, Humenyuk VV, Manko SL. Activity and isozyme content of lactate dehydrogenase under long-term oral taurine administration to rats. *The Ukrainian Biochemical Journal*. 2015;87(4):54-62. Available from: http://nbuv.gov.ua/UJRN/BioChem_2015_87_4_10.

179. Pagano M, Faggio C. The use of erythrocyte fragility to assess xenobiotic cytotoxicity. *Cell Biochemistry and Function*. Wiley. 2015;33(6):351–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/cbf.3135>.

180. Paik DJ, Lee CH. Review of cases of patient risk associated with ginseng abuse and misuse. *Journal of Ginseng Research*. Elsevier BV. 2015;39(2):89–93. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jgr.2014.11.005>.

181. Paliichuk VI, Rozhko MM, Ersteniuk HM. Biokhimichni pokaznyky krovi eksperymentalnykh tvaryn pry implantatsii zrazkiv iz plastmass "Biocril-C" ta "Ftoraks". *Sovremennaia stomatolohyia*. 2014; 5:83-87. http://nbuv.gov.ua/UJRN/ss_2014_5_20.

182. Partsei KYu, Ersteniuk HM, Shkurashivska SV, Kindrat I.P, Senchiy VM. Status of pro- and antioxidant system of rats under conditions of energy drink consumption. *World of Medicine and Biology*. 2023;1(83):218-223. <https://doi.org/10.26724/2079-8334-2023-1-83-218-223>.

183. Pearson AB, Hückstädt LA, Kinsey ST, Schmitt TL, Robeck TR, St. Leger J, et al. Relationship between red blood cell lifespan and endogenous carbon monoxide in the common bottlenose dolphin and beluga. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. American Physiological Society. 2024;32:134–46. Available from: <http://dx.doi.org/10.1152/ajpregu.00172.2023>.

184. Peveler W, Sanders GJ, Marczynski CA, Holmer B. Effects of Energy Drinks on Economy and Cardiovascular Measures. *Journal of Strength and Conditioning Research*. 2017;31(4):882-887.

185. Piccioni A, Covino M, Zanza C, Longhitano Y, Tullo G, Bonadia N, et al. Energy drinks: a narrative review of their physiological and pathological effects. *Internal Medicine Journal*. Wiley. 2021;51:636–46. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/imj.14881>.

186. Pinto JT, Zemleni J. Riboflavin. *Adv. Nutr.* (Bethesda, Md). 2016;7:973–975.

187. Plattner H, Verkhatsky A. The remembrance of the things past: Conserved signalling pathways link protozoa to mammalian nervous system. *Cell Calcium*. Elsevier BV. 2018;73:25–39. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ceca.2018.04.001>.

188. Pober JS, Sessa WC. Inflammation and the blood microvascular system. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2015;7(1):a016345.

189. Podsiedlik M, Markowicz-Piasecka M, Sikora J. Erythrocytes as model cells for biocompatibility assessment, cytotoxicity screening of xenobiotics and drug delivery. *Chemico-Biological Interactions.* Elsevier BV. 2020;332:109305. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbi.2020.109305>.

190. Pollak CP, Bright D. Caffeine consumption in children: implications for sleep. *Pediatric Clinics of North America.* 2018;65(2):361-372.

191. Poojary MM, Lund MN. Chemical Stability of Proteins in Foods: Oxidation and the Maillard Reaction. *Annu Rev Food Sci Technol.* 2022;13:35-58. doi: 10.1146/annurev-food-052720-104513.

192. Posokhov YO, Tkachenko AS, Nakonechna OA, Onishchenko AI, et al. Experimental study of erythrocyte membranes in rats orally exposed to caffeinated energy drinks by fluorescent probe technique. *Studia Universitatis "Vasile Goldis" Arad. Seria Stiintele Vietii (Life Sciences Series).* 2019;29(3):129-133.

193. Rab MAE, Van Oirschot BA, Kosinski PA, Hixon J, Johnson K, Chubukov V, et al. AG-348 (Mitapivat), an allosteric activator of red blood cell pyruvate kinase, increases enzymatic activity, protein stability, and ATP levels over a broad range of PKLR genotypes. *Haematologica.* Ferrata Storti Foundation (Haematologica). 2020;106:238–49. Available from: <http://dx.doi.org/10.3324/haematol.2019.238865>.

194. Rasheed A, Aslam I, Tafweez R, Bashir Kiani MR, Ameer MK, Saeed AA. Histological consequences of consumption of energy drink on renal tubules. *Pak Armed Forces Med J. Army Medical College.* 2021;71(5):1736–40. Available from: <http://dx.doi.org/10.51253/pafmj.v71i5.6326>.

195. Ratan ZA, Haidere MF, Hong YH, Park SH, Lee JO, Lee J, Cho JY. Pharmacological potential of ginseng and its major component ginsenosides. *Journal of Ginseng Research.* Elsevier BV. 2021;45:199–210. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jgr.2020.02.004>.

196. Razzaque M. Magnesium: Are We Consuming Enough? *Nutrients*. MDPI AG. 2018;10(12):1863. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/nu10121863>.
197. Reis R, Charehsaz M, Sipahi H, Ekici AI, Macit Ç, Akkaya H, Aydın A. Energy Drink Induced Lipid Peroxidation and Oxidative Damage in Rat Liver and Brain When Used Alone or Combined with Alcohol. *J. Food Sci.* 2017;82:1037–1043.
198. Repsold L, Joubert AM. Eryptosis: An Erythrocyte's Suicidal Type of Cell Death. *BioMed Research International*. Hindawi Limited. 2018;2018:1–10. Available from: <http://dx.doi.org/10.1155/2018/9405617>.
199. Ribeiro RA, Bonfleur ML, Batista TM, Borck PC, Carneiro EM. Regulation of glucose and lipid metabolism by the pancreatic and extra-pancreatic actions of taurine. *Amino Acids*. Springer Science and Business Media LLC. 2018;50:1511–24. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s00726-018-2650-3>.
200. Rodak K, Kokot I, Kratz EM. Caffeine as a Factor Influencing the Functioning of the Human Body—Friend or Foe? *Nutrients*. MDPI AG. 2021;13:3088. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/nu13093088>.
201. Rogers PJ. Effects of caffeine on mood and performance: a review of recent research. *Current Mental Health Reports*. 2019;6(3):127-135.
202. Romani M, Hofer DC, Katsyuba E, Auwerx J. Niacin: an old lipid drug in a new NAD⁺ dress. *Journal of Lipid Research*. Elsevier BV. 2019;60(4):741–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1194/jlr.S092007>.
203. Roy MK, Cendali F, Ooyama G, Gamboni F, Morton H, D'Alessandro A. Red Blood Cell Metabolism in Pyruvate Kinase Deficient Patients. *Frontiers in Physiology*. Frontiers Media SA. 2021;12:735543 Available from: <http://dx.doi.org/10.3389/fphys.2021.735543>.
204. Ruchel JB, Rezer JFP, Thorstenberg ML, dos Santos CB, Cabral FL, Lopes STA, et al. Hypercholesterolemia and Ecto-enzymes of Purinergic System: Effects of Paullinia cupana. *Phytotherapy Research*. Wiley. 2015;30(1):49–57. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/ptr.5499>.

205. Salih N, Abdul-Sadaand I, Abdulrahman N. Histopathological effect of energy drinks (Red Bull) on Brain, Liver, Kidney, and Heart in Rabbits. *Medical Journal of Babylon*. Medknow. 2018;15:16. Available from: http://dx.doi.org/10.4103/MJBL.MJBL_5_18.

206. Sandireddy R, Yerra VG, Areti A, Komirishetty P, Kumar A. Neuroinflammation and Oxidative Stress in Diabetic Neuropathy: Futuristic Strategies Based on These Targets. *International Journal of Endocrinology*. Hindawi Limited. 2014;2014:1–10. Available from: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/674987>.

207. San-Millán I, Stefanoni D, Martinez JL, Hansen KC, D'Alessandro A, Nemkov T. Metabolomics of Endurance Capacity in World Tour Professional Cyclists. *Frontiers in Physiology*. Frontiers Media SA. 2020;11:578. Available from: <http://dx.doi.org/10.3389/fphys.2020.00578>.

208. Sarwar N. Jafar. Changes in biochemical and sperm parameters of rats drinking energy drinks. *Cellular and Molecular Biology*. CMB Association. 2024;70212–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.14715/cmb/2024.70.2.30>.

209. Sattari MR. Obesity and Taurine. *Advances in Obesity, Weight Management & Control*. MedCrave Group, LLC. 2015;2(4):70-71. Available from: <http://dx.doi.org/10.15406/aowmc.2015.02.00022>.

210. Schaffer S, Kim HW. Effects and Mechanisms of Taurine as a Therapeutic Agent. *Biomolecules & Therapeutics*. The Korean Society of Applied Pharmacology. 2018;23(3):225–41. Available from: <http://dx.doi.org/10.4062/biomolther.2017.251>.

211. Schulze KA, Santucci NM, Surti B, Habelitz S, Bhattacharyya M, Noble W. Evaluation of Enamel Volume Loss after Exposure to Energy Drinks. *Oral*. MDPI AG. 2024;4:101–12. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/oral4010009>.

212. Shah SA, Szeto AH, Farewell R, Shek A, Fan D, Quach KN, et al. Impact of High Volume Energy Drink Consumption on Electrocardiographic and Blood Pressure Parameters: A Randomized Trial. *Journal of the American Heart*

Association. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). 2019;8: e011318. Available from: <http://dx.doi.org/10.1161/JAHA.118.011318>.

213. Sharma D, Sangha GK. Triazophos induced oxidative stress and histomorphological changes in liver and kidney of female albino rats. *Pestic Biochem Physiol*. 2014;110:71-80.

214. Shearer J, Reimer RA, Hittel DS, Gault MA, Vogel HJ, Klein MS. Caffeine Containing Energy Shots Cause Acute Impaired Glucoregulation in Adolescents. *Nutrients*. MDPI AG. 2020;12:3850. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/nu12123850>.

215. Shim JS, Song MY, Yim SV, Lee SE, Park KS. Global analysis of ginsenoside Rg1 protective effects in beta-amyloid-treated neuronal cells. *J Ginseng Res*. 2017;41:566e71.

216. Shkurashivska S, Ersteniuk H. The effect of adrenaline on the mineral and trace element status in rats. *Open Life Sciences*. Walter de Gruyter GmbH. 2019;14:158–64. Available from: <http://dx.doi.org/10.1515/biol-2019-0018>.

217. Sierra-Campos E, Valdez-Solana MA, Campos-Almazán MI, Avitia-Domínguez C, Hernández-Rivera JL, JA de Lira-Sánche et al. Nitrate and nitrite in drinking water affect antioxidant enzymes in erythrocytes of rats. *Ukr. Biochem. J.*, 2018;90(4):90-101.

218. Sies H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. *Redox Biology*. 2015;4:180–183. doi:10.1016/j.redox.2015.01.002.

219. Sikalidis AK, Kelleher AH, Maykish A, Kristo AS. Non-Alcoholic Beverages, Old and Novel, and Their Potential Effects on Human Health, with a Focus on Hydration and Cardiometabolic Health. *Medicina*. MDPI AG. 2020;56(10):490. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/medicina56100490>.

220. Silva CP da, Soares-Freitas RAM, Sampaio GR, Camargo AC de, Torres EAFS. Guarana as a source of bioactive compounds. *Journal of Food Bioactives*. International Society for Nutraceuticals & Functional Foods (ISNFF). 2019;6. Available from: <http://dx.doi.org/10.31665/JFB.2019.6182>.

221. Silva CP, Sampaio GR, Freitas RAMS, Torres EAFS. Polyphenols from guaraná after in vitro digestion: Evaluation of bioaccessibility and inhibition of activity of carbohydrate-hydrolyzing enzymes. *Food Chemistry*. Elsevier BV. 2018;267:405–9. Available from:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.08.078>.

222. Silva LNR, Oliveira ECP, Baratto LC. Amazonian useful plants described in the book “Le Pays des Amazones” (1885) of the Brazilian propagandist Baron de Santa-Anna Nery: a historical and ethnobotanical perspective. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*. Springer Science and Business Media LLC. 2024;20. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s13002-024-00663-2>.

223. Silva-Herdade AS, Andolina G, Faggio C, Calado Â, Saldanha C. Erythrocyte deformability — A partner of the inflammatory response. *Microvascular Research*. Elsevier BV. 2016;107:34–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mvr.2016.04.011>.

224. Slivinska O. M., Iskra R. Ja. A complex influence of chromium and zinc citrates on antioxidant defense system in rats' organism with an experimentally induced diabetes mellitus. *Медична та клінічна хімія*. 2017; 19(1): 31-39.

225. Soares TA, Torres AHF, Dalcin LDL, Gonçalves LCO, Neto AM de M, Honorio-França AC, et al. Modified Caffeine Release System and Its Immunomodulatory Effects on Breast Tumor Cells and Blood Phagocytes. *Advances in Biological Chemistry*. Scientific Research Publishing, Inc. 2023;13:25–41. Available from: <http://dx.doi.org/10.4236/abc.2023.131003>.

226. Soós R, Gyebrovski Á, Tóth Á, Jeges S, Wilhelm M. Effects of Caffeine and Caffeinated Beverages in Children, Adolescents and Young Adults: Short Review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. MDPI AG. 2021;18(23):12389. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/ijerph182312389>.

227. Stapay PV, Stakhiv NP, Salyha YT. Mineral elements in sheep nutrition and wool processes. Achievements and research prospects in animal husbandry and veterinary medicine. Izdevnieciba "Baltija Publishing". 2023; 327–49. Available from: <http://dx.doi.org/10.30525/978-9934-26-316-3-16>.

228. Stephens MB, Attipoe S, Jones D, Ledford CJ, Deuster PA. Energy drink and energy shot use in the military. *Nutr. Rev.* 2014;72(1):72–77.

229. Strilchuk LM, Kondratyuk MO. Endogenous intoxication syndrome activity in biliary autonomic viscerovisceral cardioneuropathy. *Eastern Ukrainian Medical Journal.* 2021;9(2):151-156. [https://doi.org/10.21272/eumj.2021;9\(2\):151-156](https://doi.org/10.21272/eumj.2021;9(2):151-156).

230. Styburski D, Dec K, Baranowska-Bosiacka I, Goschorska M, Hołowko J, Żwierello W, et al. Can Functional Beverages Serve as a Substantial Source of Macroelements and Microelements in Human Nutrition?—Analysis of Selected Minerals in Energy and Isotonic Drinks. *Biological Trace Element Research.* Springer Science and Business Media LLC 2019;197:341–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s12011-019-01973-3>.

231. Surajudeen YA, Sheu RK, Ayokulehin KM, Olatunbosun AG. Oxidative stress indices in Nigerian pesticide applicators and farmers occupationally exposed to organophosphate pesticides. *International Journal of Applied and Basic Medical Research.* 2014;4(3):37.

232. Suwannasom N, Kao I, Pruß A, Georgieva R, Bäumler H. Riboflavin: the health benefits of a forgotten natural vitamin. *Int J Mol Sci.* 2020;21:950.

233. Svikis DS, Dillon PM, Meredith SE, Thacker LR, Polak K, Edwards AC, et al. Coffee and energy drink use patterns in college freshmen: associations with adverse health behaviors and risk factors. *BMC Public Health.* Springer Science and Business Media LLC. 2022;22:594 Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s12889-022-13012-3>.

234. Szczuka D, Nowak A, Zakłós-Szyda M, Kochan E, Szymańska G, Motyl I, et al. American Ginseng (*Panax quinquefolium* L.) as a Source of

Bioactive Phytochemicals with Pro-Health Properties. *Nutrients*. MDPI AG. 2019;11(5): 1041. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/nu11051041>.

235. Temple JL, Bernard C, Lipshultz SE, Czachor JD, Westphal JA, Mestre MA. The Safety of Ingested Caffeine: A Comprehensive Review. *Frontiers in Psychiatry*. Frontiers Media SA. 2017;8:80. Available from: <http://dx.doi.org/10.3389/fpsy.2017.00080>.

236. The History Of Energy Drinks Timeline | Preceden. Preceden Timeline Maker: Create a Professional Timeline in Minutes, www.preceden.com/timelines/66113-the-history-of-energy-drinks.

237. Toro-Román V, Siquier-Coll J, Bartolomé I, Grijota FJ, Muñoz D, Maynar-Mariño M. Copper concentration in erythrocytes, platelets, plasma, serum and urine: influence of physical training. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*. Informa UK Limited. 2021;18 Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s12970-021-00426-4>.

238. Torres EAFS, Pinaffi-Langley AC da C, Figueira M de S, Cordeiro KS, Negrão LD, Soares MJ, et al. Effects of the consumption of guarana on human health: A narrative review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. Wiley. 2021;21(1):272–95. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/1541-4337.12862>.

239. Trapp G, Hurworth M, Jacoby P, Christian H, Ambrosini G, Oddy W, et al. Energy drink intake and metabolic syndrome: A prospective investigation in young adults. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. Elsevier BV. 2020;30:1679–84. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.numecd.2020.06.012>.

240. Unlu A, Kirca O, Ozdogan M, Nayır E. High-dose vitamin C and cancer. *J Oncol Sci*. 2016;1:10–12.

241. Vafaie M, Mahram M, Farshadmoghadam H. Triosephosphate Isomerase Deficiency: The First Case Report from I.R. Iran. *Iranian Journal of Pediatrics*. Briefland. 2022;32(2). Available from: <http://dx.doi.org/10.5812/ijp-113274>.

242. Vasavada A, Sanghavi D. Cyanocobalamin. In: StatPearls. StatPearls, Treasure Island, FL. Accessed 8 Aug 2021. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK555964>.

243. Vatansever R, Ozyigit II, Filiz E. Essential and beneficial trace elements in plants, and their transport in roots: A review. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2017;181: 464–482.

244. Vercammen KA, Koma JW, Bleich SN. Trends in Energy Drink Consumption Among U.S. Adolescents and Adults, 2003–2016. *Am. J. Prev. Med.* 2019;56:827–833.

245. Verma A, Vemra N, Siddiqui ME. The effect of frequent consumption of energy drinks on blood pressure, heart rate and blood glucose in healthy adults working out in the gymnasium. *Journal of Hypertension*. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). 2021;39:e139. Available from: <http://dx.doi.org/10.1097/01.hjh.0000745888.85789.22>.

246. Vinjamur DS, Wade KJ, Mohamad SF, Haar JL, Sawyer ST, Lloyd JA. Kruppel-like transcription factors KLF1 and KLF2 have unique and coordinate roles in regulating embryonic erythroid precursor maturation. *Haematologica*. Ferrata Storti Foundation (Haematologica). 2014;99(10):1565–73. Available from: <http://dx.doi.org/10.3324/haematol.2014.104943>.

247. Viskupicova J, Blaskovic D, Galiniak S, Soszyński M, Bartosz G, Horakova L, Sadowska-Bartosz I. Effect of high glucose concentrations on human erythrocytes in vitro. *Redox Biology*. 2015;5:381–387. <http://dx.doi.org/10.1016/j.redox.2015.06.011>.

248. Vitak TY, Wasser SP, Nevo E, Sybirna NO. Enzymatic System of Antioxidant Protection of Erythrocytes in Diabetic Rats Treated with Medicinal Mushrooms *Agaricus brasiliensis* and *Ganoderma lucidum* (Agaricomycetes). *International Journal of Medicinal Mushrooms*. Begell House; 2017;19:697–708. Available from: <http://dx.doi.org/10.1615/intjmedmushrooms.2017021305>.

249. Wassef B, Kohansieh M, Makaryus AN. Effects of energy drinks on the cardiovascular system. *World Journal of Cardiology*. Baishideng Publishing

Group Inc. 2017;9(1):796–806. Available from:
<http://dx.doi.org/10.4330/wjc.v9.i11.796>.

250. Wee JH, Min C, Park MW, Park IS, Park B, Choi HG. Energy-drink consumption is associated with asthma, allergic rhinitis, and atopic dermatitis in Korean adolescents. *European Journal of Clinical Nutrition*. Springer Science and Business Media LLC. 2020;75:1077–87. Available from:
<http://dx.doi.org/10.1038/s41430-020-00812-2>.

251. Whelton PK, Carey RM, Aronow WS, Casey DE Jr, Collins KJ, Dennison Himmelfarb C, et al. 2017 ACC/AHA/AAPA/ABC/ACPM/AGS/APhA/ASH/ASPC/NMA/PCNA Guideline for the Prevention, Detection, Evaluation, and Management of High Blood Pressure in Adults: Executive Summary: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *Hypertension*. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health); 2018;71(6):1269–1324. Available from:
<http://dx.doi.org/10.1161/HYP.0000000000000066>.

252. White DJ, Camfield DA, Maggini S, Pipingas A, Silberstein R, Stough C et al. The effect of a single dose of multivitamin and mineral combinations with and without guarana on functional brain activity during a continuous performance task. *Nutr Neurosci* (Epub ahead of print). 2014.

253. Wikoff D, Welsh BT, Henderson R, et al. Systematic review of the potential adverse effects of caffeine consumption in healthy adults, pregnant women, adolescents, and children. *Food and Chemical Toxicology*. 2017;109(1):585-648.

254. Wu H, Bogdanov M, Zhang Y, Sun K, Zhao S, Song A, et al. Hypoxia-mediated impaired erythrocyte Lands' Cycle is pathogenic for sickle cell disease. *Scientific Reports*. Springer Science and Business Media LLC. 2016;6:29637. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/srep29637>.

255. Yu Q, Sun X, Zhao J, Zhao L, Chen Y, Fan L, et al. The effects of zinc deficiency on homeostasis of twelve minerals and trace elements in the serum,

feces, urine and liver of rats. *Nutrition & Metabolism*. Springer Science and Business Media LLC. 2019;16:73. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s12986-019-0395-y>.

256. Yu T, Yang Y, Kwak Y-S, Song GG, Kim M-Y, Rhee MH et al. Ginsenoside Rc from *Panax ginseng* exerts anti-inflammatory activity by targeting TANKbinding kinase 1/interferon regulatory factor-3 and p38/ATF-2. *J Ginseng Res*. 2017;41:127e33.

257. Yusupova NA, Oripov FS, Baxriyeva O, Nazarova S. Influence of energy drinks components on different human organs and systems. *Open Access Repository*. 2023;4(2):578–588. Available from: <https://dx.doi.org/10.17605/OSF.IO/9V3DG>.

258. Zhang Y, Xu Y, Zhang S, Lu Z, Li Y, Zhao B. The regulation roles of Ca²⁺ in erythropoiesis: What have we learned? *Experimental Hematology*. Elsevier BV. 2022;106:19–30. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.exphem.2021.12.192>.

259. Zhang Y, Yang W, Xue Y, Hou D, Chen S, Xu Z, et al. Timing Matters: Time of Day Impacts the Ergogenic Effects of Caffeine—A Narrative Review. *Nutrients*. MDPI AG. 2024;16:1421. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/nu16101421>.

260. Zoroddu MA, Aaseth J, Crisponi G, Medici S, Peana M, Nurchi VM. The essential metals for humans: a brief overview. *Journal of Inorganic Biochemistry*. Elsevier BV. 2019;195(6):120–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2019.03.013>.

ДОДАТОК А**СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Парцей ХЮ, Артиш МБ, Литвинюк НІ, Слободян ЗО, Ерстенюк АМ. Стан еритроцитарних мембран та гематологічні індекси щурів за умов споживання енергетичного напою. Український журнал медицини, біології та спорту. 2017;5:188-191. <https://doi.org/10.26693/jmbs02.05.188>.
2. Парцей ХЮ, Ерстенюк ГМ. Активність глутатіонової системи еритроцитів за умов споживання енергетика. Sciences of Europe. 2022;92:3-7. <https://doi.org/10.5281/zenodo.6532820>.
3. Парцей ХЮ. Зміни показників вуглеводного обміну еритроцитів щурів за умов споживання енергонапою. Medical and Clinical Chemistry. 2022;2:61-67. <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2022.i2.13207>.
4. Partsei KYu, Ersteniuk HM, Shkurashivska SV, Kindrat I.P, Senchiy VM. Status of pro- and antioxidant system of rats under conditions of energy drink consumption. World of Medicine and Biology. 2023;1(83):218-223. <https://doi.org/10.26724/2079-8334-2023-1-83-218-223>.
5. Парцей ХЮ, Лихацький ПГ. Стан еритроцитарних мембран та ендогенної інтоксикації еритроцитів за умов споживання енергетичного напою. Medical and Clinical Chemistry. 2024;1:35-39. <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2024.i1.14595>.
6. Парцей ХЮ, Ерстенюк ГМ. Дослідження форм гемоглобіну за умов споживання енергетичного напою. The Animal Biology. 2024;26(1):40-44. <https://doi.org/10.15407/animbiol26.01.00>
7. Парцей ХЮ, Олексин МБ, Литвинюк НІ, Слободян ЗО, Ерстенюк ГМ. Вміст мікро- та макроелементів в еритроцитах щурів під впливом енергетичних напоїв. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю “Бабенківські читання; 2015 жовт. 29-30; Івано-Франківськ. Івано-Франківськ: ІФНМУ: 2015, с. 87.

8. Парцей ХЮ, Олексин МБ, Литвинюк НІ, Слободян ЗО, Николин АМ. Стан про- та антиоксидантної системи під впливом енергетичних напоїв. Матеріали 85-ої науково-практичної конференції студентів та молодих вчених із міжнародною участю “Інновації в медицині”; 2016 бер. 24-25; Івано-Франківськ. Івано-Франківськ: ІФНМУ; 2016, с.249.

9. Парцей ХЮ, Олексин МБ, Литвинюк НІ, Слободян ЗО, Николин АМ, Ерстенюк ГМ. Стан еритроцитарних мембран, про- та антиоксидантного захисту в експериментальних тварин за умов споживання енергетичних напоїв. Матеріали всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених “Медична наука в практику охорони здоров’я”; 2016 грудн.9; Полтава. Полтава; 2016, с.102-103.

10. Парцей ХЮ, Артиш МБ, Токарик ГВ, Литвинюк НІ, Слободян ЗО, Ерстенюк АМ. Мікроелементи еритроцитів та печінки щурів під впливом енергетичних напоїв. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю “Бабенківські читання”; 2017 жовтн.26-27; Івано-Франківськ. Івано-Франківськ: ІФНМУ; 2017, с. 81.

11. Парцей ХЮ, Артиш МБ, Литвинюк НІ, Слободян ЗО, Ерстенюк АМ. Стан еритроцитарних мембран та гематологічні індекси щурів за умов споживання енергетичного напою. Матеріали II міжнародної заочної науково-практичної конференції “Проблеми, досягнення та перспективи розвитку медико-біологічних і спортивних наук”; 2017 жовт.30; Миколаїв. Миколаїв; 2017, с. 188-191.

12. Парцей ХЮ, Николин АМ, Олексин МБ, Литвинюк НІ, Слободян ЗО, Ерстенюк ГМ. Гематологічні показники у щурів під впливом ксенобіотиків. Матеріали науково-практичної конференції “Бюлетень XVI читання ім.В.В. Підвисоцького”; 2017 трав. 18-19; Одеса. Одеса; 2017, с. 265-267.

13. Парцей ХЮ, Артиш МБ, Токарик ГВ, Литвинюк НІ, Слободян ЗО, Ерстенюк АМ. Вміст мікроелементів та гематологічні індекси у щурів під впливом енергетичних напоїв. Матеріали науково-практичної конференції з

міжнародною участю “Актуальні питання сучасної мікроелементології присвяченій пам’яті академіка Ю.І. Кудієва ”; 2018 жовтн. 4-5; Київ. Київ; 2018, с. 42-43

14. Парцей ХЮ, Артиш МБ, Литвинюк НІ, Кіндрат ПІ, Токарик ГВ, Ерстенюк ГМ. Вміст мікроелементів в еритроцитах щурів під впливом енергетичних напоїв. Матеріали науково-практичної конференції “Бюлетень XVIII читання ім.В.В. Підвисоцького”; 2019 травн. 21-22; Одеса. Одеса; 2019, с. 160-162.

15. Парцей ХЮ, Луцишин УТ, Романюк ТВ. Показники вуглеводного обміну в еритроцитах щурів під впливом енергетичного напою. Матеріали 90-ої науково-практичної конференції студентів та молодих вчених із міжнародною участю “Інновації в медицині та фармації”; 2021 бер. 25-27; Івано-Франківськ. Івано-Франківськ: ІФНМУ; 2021, с. 10.

16. Парцей ХЮ, Ерстенюк ГМ. Стан прооксидантної системи в еритроцитах щурів внаслідок споживання енергонапою. Матеріали XII міжнародної науково-практичної конференції «International scientific innovations in human life»; 2022 червн. 8-10; Манчестер, Великобританія. Манчестер, Великобританія; 2022, с. 56-59.

17. Парцей ХЮ, Ерстенюк ГМ. Вплив енергонапою на антиоксидантну систему експериментальних щурів. Матеріали III міжнародної науково-практичної конференції «Modern research in world science»; 2022 черв.12-14; Львів. Львів; 2022, с. 118-120.

18. Парцей ХЮ, Ерстенюк ГМ. Вміст різних форм гемоглобіну в еритроцитах щурів за умов споживання енергонапою. Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Стан та тенденції розвитку науки, освіти та суспільства»; 2022 червн. 7; Полтава. Полтава; 2022, с. 35-36.

19. Парцей ХЮ, Ерстенюк ГМ. Активність ензимів вуглеводного обміну еритроцитів щурів за умов вживання енергонапою. Матеріали XIII

міжнародної науково-практичної конференції «Modern directions of scientific research development»; 2022 червн. 15-17; Чикаго. Чикаго; 2022, с. 60-64.

20. Парцей ХЮ, Ерстенюк ГМ. Динаміка показників ендогенної інтоксикації еритроцитів щурів за умов вживання енергонапою. Матеріали XXXV міжнародної науково-практичної конференції «Science, development and the latest development trends»; 2022 вер. 06-09; Париж. Париж; 2022, с. 56-58.

21. Парцей ХЮ, Ерстенюк ГМ, Токарик ГВ, Слободян ЗО, Мойсеева УЮ. Вміст мікроелементів в еритроцитах за умов вживання енергонапою. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю “Бабенківські читання”; 2023 жовтн. 26-27; Івано-Франківськ. Івано-Франківськ: ІФНМУ: 2017, с. 67.

ДОДАТОК Б

Відомості про апробацію результатів дисертації:

1. Науково-практична конференція з міжнародною участю “Бабенківські читання” (м. Івано-Франківськ, 29-30 жовтня 2015 р.) – *постерна доповідь, публікація тез.*

2. 85-та науково-практична конференція студентів та молодих вчених із міжнародною участю “Інновації в медицині” (м. Івано-Франківськ, 24-25 березня 2016 р.) – *усна доповідь, публікація тез.*

3. Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених “Медична наука в практику охорони здоров’я” (м. Полтава, 9 грудня 2016 р.) – *публікація тез.*

4. Науково-практична конференція з міжнародною участю “Бабенківські читання” (м. Івано-Франківськ, 26-27 жовтня 2017 р.) – *постерна доповідь, публікація тез.*

5. II міжнародна заочна науково-практична конференція “Проблеми, досягнення та перспективи розвитку медико-біологічних і спортивних наук” (м. Миколаїв, 30 жовтня 2017 р.) – *публікація тез.*

6. Науково-практична конференція “Бюлетень XVI читання ім. В. В. Підвисоцького” (м. Одеса, 18-19 травня 2017 р.) – *публікація тез.*

7. Науково-практична конференція з міжнародною участю “Актуальні питання сучасної мікроелементології присвяченій пам’яті академіка Ю.І. Кудієва” (м. Київ, 4-5 жовтня 2018 р.) – *постерна доповідь, публікація тез.*

8. Науково-практична конференція “Бюлетень XVIII читання ім. В. В. Підвисоцького” (м. Одеса, 21-22 травня 2019 р.) – *публікація тез.*

9. 90-та науково-практична конференція студентів та молодих вчених із міжнародною участю “Інновації в медицині та фармації” (м. Івано-Франківськ, 25-27 березня 2021 р.) – *публікація тез.*

10. XII міжнародна науково-практична конференція «International scientific innovations in human life» (м. Манчестер, 8-10 червня 2022 р.) – *публікація тез.*

11. III міжнародна науково-практична конференція «Modern research in world science» (м. Львів, 12-14 червня 2022 р.) – *публікація тез.*

12. Міжнародна науково-практична конференція «Стан та тенденції розвитку науки, освіти та суспільства» (м. Полтава, 7 червня 2022 р.) – *усна доповідь, публікація тез.*

13. XIII міжнародна науково-практична дистанційна конференція «Modern directions of scientific research development» (м. Чикаго, 15-17 червня 2022 р.) – *публікація тез.*

14. XXXV міжнародна науково-практична конференція «Science, development and the latest development trends» (м. Париж, 06-09 вересня 2022 р.) – *публікація тез.*

15. Науково-практична конференція з міжнародною участю “Бабенківські читання” (м. Івано-Франківськ, 26-27 жовтня 2023 р.) – *усна доповідь, публікація тез.*

ДОДАТОК В.1

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Проректор з науково-педагогічної роботи
 Тернопільського національного
 медичного університету
 імені І.Я.Горбачевського МОЗ України
 професор Аркадій ШУЛЬГАЙ

« 15 » 02 2024 року

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** «Особливості впливу енергетичного напою на стан про- та антиоксидантної систем еритроцитів експериментальних тварин».
2. **Установа-розробник:** Тернопільський національний медичний університет імені І.Я.Горбачевського МОЗ України, кафедра медичної біохімії, м. Тернопіль, вул. майдан Волі 1, 46001
3. **Розробник:** Парцей Христина Юріївна.
4. **Джерела інформації:**
 1. Partsei KYu, Ersteniuk HM, Shkurashivska SV, Kindrat LP, Senchiy VM. Status of pro- and antioxidant system of rats under conditions of energy drink consumption. World of Medicine and Biology. 2023;1(83):218-223. <https://doi.org/10.26724/2079-8334-2023-1-83-218-223>.
 2. Парцей ХЮ, Ерстеньюк ГМ. Активність глутатіонової системи еритроцитів за умов споживання енергетика. Sciences of Europe. 2022;92:3-7. <https://doi.org/10.5281/zenodo.6532820>.
5. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Тернопільський національний медичний університет, кафедра медичної біохімії.
6. **Термін впровадження:** 2023-2024 навчальний рік.
7. **Форма впровадження:** в науково-навчальний процес – у матеріали лекцій і практичних занять для студентів, аспірантів, здобувачів.
8. **Ефект від впровадження:** використання результатів досліджень у науково-навчальному процесі дозволить поглибити знання студентів з питань порушень стану про- та антиоксидантної систем еритроцитів за умов впливу енергетика
9. **Зауваження, пропозиції:** не вносилися

Відповідальна за впровадження:
 Завідувачка кафедри медичної біохімії
 Тернопільського національного медичного університету
 імені І.Я.Горбачевського МОЗ України
 доктор медичних наук, доцент



Світлана ПІДРУЧНА

ДОДАТОК В.2

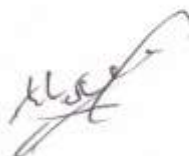
«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 В.о.проректора з наукової роботи
 Івано-Франківського національного
 медичного університету
 д.мед.н., проф. Олена ДМИТРИШИН
 « 08 » 2024 року



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** «Особливості впливу енергетичного напою на лігандні форми гемоглобіну експериментальних тварин.
2. **Установа-розробник:** Тернопільський національний медичний університет імені І.Я.Горбачевського МОЗ України, кафедра медичної біохімії, м. Тернопіль, вул. майдан Волі 1, 46001
3. **Розробник:** Парцей Христина Юріївна.
4. **Джерела інформації:**
 1. Парцей ХЮ, Артиш МБ, Литвинюк НІ, Слободян ЗО, Ерстенюк АМ. Стан еритроцитарних мембран та гематологічні індекси щурів за умов споживання енергетичного напою. Український журнал медицини, біології та спорту. 2017;5:188-191. <https://doi.org/10.26693/jmbs02.05.188>.
 2. Парцей ХЮ, Ерстенюк ГМ. Вміст різних форм гемоглобіну в еритроцитах щурів за умов споживання енергонапою. Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Стан та тенденції розвитку науки, освіти та суспільства»; 2022 червн.7; Полтава. Полтава; 2022, с. 35-36.
5. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра біологічної та медичної хімії імені академіка Г. О. Бабенка, Івано-Франківський національний медичний університет.
6. **Термін впровадження:** 2023-2024 навчальний рік.
7. **Форма впровадження:** в науково-навчальний процес кафедри кафедри біологічної та медичної хімії імені академіка Г. О. Бабенка.
8. **Ефект від впровадження:** використання результатів досліджень у науково-навчальному процесі дозволить поглибити знання студентів з питань порушень структури гемоглобіну за умов впливу споживання енергетика.
9. **Зауваження, пропозиції:** не вносилися

Відповідальний за впровадження:
 Завідувач кафедри кафедри біологічної та медичної хімії
 імені академіка Г. О. Бабенка.
 Івано-Франківського національного
 медичного університету
 кандидат біологічних наук, доцент



Тарас МАКСИМЧУК

ДОДАТОК В.3

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Т.в.о. директора Інституту
ДУ «Інститут медицини праці імені
Ю.І.Кундієва Національної академії
медичних наук України»
д.мед.наук, д.політ. наук професор
Костянтин ШЦЕПКИН



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** «Зміни макро- та мікроелементного складу еритроцитів експериментальних тварин за умов споживання енергетичного напою».
2. **Установа–розробник:** Тернопільський національний медичний університет імені І.Я.Горбачевського МОЗ України, кафедра медичної біохімії, м. Тернопіль, вул. майдан Волі 1, 46001
3. **Розробник:** Парцей Христина Юріївна.
4. **Джерела інформації:**
 1. Partsei KYu, Ersteniuk HM, Shkurashivska SV, Kindrat LP, Senchiy VM. Status of pro- and antioxidant system of rats under conditions of energy drink consumption. World of Medicine and Biology. 2023;1(83):218-223. <https://doi.org/10.26724/2079-8334-2023-1-83-218-223>.
 2. Парцей ХЮ, Ерстенюк ГМ, Токарік ГВ, Слободян ЗО, Мойсеєва УЮ. Вміст мікроелементів в еритроцитах за умов вживання енергонапою. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю “Бабенківські читання”; 2023 жовтн.26-27; Івано-Франківськ. Івано-Франківськ: ІФНМУ: 2017, с.67.
5. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Державна установа «Інститут медицини праці імені Ю.І.Кундієва Національної академії медичних наук України»
6. **Термін впровадження:** 2023-2024 навчальний рік.
7. **Форма впровадження:** в науковий процес сектору з вивчення мікроелементозів лабораторії медико-біологічних критеріїв ДУ Інститут медицини праці імені Ю.І.Кундієва Національної академії медичних наук України»
8. **Ефект від впровадження:** використання результатів досліджень у науковому процесі дозволить поглибити знання з питань порушень обміну мікроелементів та метаболічних процесів у живому організмі за умови споживання енергетичного напою та дасть змогу обґрунтувати біологічні нормативи щодо вмісту макро- та мікроелементів у біологічних середовищах тварин.
9. **Зауваження, пропозиції:** не вносилися

Відповідальний за впровадження:

Завідувач сектору з вивчення мікроелементозів
ДУ «Інститут медицини праці імені Ю.І.Кундієва
НАМН України»
д.біол н., с.н.с.

I.M.Андрусішина

ДОДАТОК В.4



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. *Пропозиція для впровадження:* «Особливості впливу енергетичного напою на показники ендогенної інтоксикації в організмі експериментальних тварин».
2. *Установа-розробник:* Тернопільський національний медичний університет імені І.Я.Горбачевського МОЗ України, кафедра медичної біохімії, м. Тернопіль, вул. майдан Волі 1, 46001
3. *Розробник:* Парцей Христина Юрївна.
4. *Джерела інформації:*
 1. Parisei KYu, Ersteniuk NM, Shkurashivska SV, Kindrat LP, Senchiy VM. Status of pro- and antioxidant system of rats under conditions of energy drink consumption. World of Medicine and Biology. 2023;1(83):218-223. <https://doi.org/10.26724/2079-8334-2023-1-83-218-223>.
 2. Парцей ХЮ, Ерстенюк ГМ. Динаміка показників ендогенної інтоксикації еритроцитів щурів за умов вживання енергонапою. Матеріали XXXV міжнародної науково-практичної конференції «Science, development and the latest development trends»; 2022 вер. 06-09; Франція, Париж. Франція, Париж; 2022, с. 56-58.
5. *Базова установа, яка проводить впровадження:* кафедра біологічної хімії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.
6. *Термін впровадження:* 2023-2024 навчальний рік.
7. *Форма впровадження:* в науково-навчальний процес кафедри біологічної хімії.
8. *Ефект від впровадження:* використання результатів досліджень у науково-навчальному процесі дозволить поглибити знання студентів з питань порушень метаболічних процесів у живому організмі за споживання енергетичного напою.
9. *Зуваження, пропозиції:* не вносилися

Відповідальна за впровадження:
Завідувачка кафедри біологічної хімії
Львівського національного
медичного університету імені Данила Галицького
кандидат медичних наук, доктор біологічних наук, професор

Леся КОБИЛІНСЬКА

ДОДАТОК Д

Схема впливу енергетичного напою на метаболічні процеси в еритроциті експериментальних тварин.

