

## Original researches

### The effect of humic substances on carbohydrate metabolism in alloxan-induced diabetes mellitus in rats

V. A. Utkina, L. M. Stepchenko

Dnipro State Agrarian and Economic University, Dnipro, Ukraine

Received: 04 April 2021

Revised: 13 April 2021

Accepted: 20 May 2021

Dnipro State Agrarian and Economic  
University, S. Efremov Str. 25, 49600, Dnipro,  
Ukraine

Tel.: +38-098-982-10-31

E-mail: utkina\_VA@i.ua

**Cite this article:** Utkina, V. A., & Stepchenko, L. M. (2021). The effect of humic substances on carbohydrate metabolism in alloxan-induced diabetes mellitus in rats. *Theoretical and Applied Veterinary Medicine*, 9(2), 93–97. doi: 10.32819/2021.92015

**Abstract.** The article presents study results of the effect of humic nature biologically active additive «Humilid» on carbohydrate metabolism, namely on glucose, insulin and C-peptide in alloxan-induced diabetes mellitus in rats. The purpose of the experiment was to investigate how «Humilid» affects carbohydrate metabolism in rats; to study and analyze the effect of the humic nature biologically active substance «Humilid» on metabolic processes. In the work we used biochemical methods for studying the blood of experimental rats. Adult male white rats were taken for the experiment, from which four groups were formed. The experiment lasted three weeks, during which the animals from the first experimental group received daily in addition to the main feed an aqueous solution of feed additive «Humilid» at dose 5 mg / kg of body weight of the active substance, and had free access to water. Rats of the second and third groups were injected with alloxan as a single intraperitoneal injection. The rats of the third group additionally received an aqueous solution of feed additive «Humilid». It was identified that «Humilid» has an antioxidant activity, which may be one of the mechanisms of its antidiabetic action, as it is known that alloxan causes free radical damage to  $\beta$ -cells with weak antioxidant protection. The use of a biologically active feed additive of humic nature was found to have a hypoglycemic effect in both healthy animals as well as in rats with alloxan-induced diabetes mellitus. It was found that the use of «Humilid» in rats enhances energy processes in their bodies of experimental animals. There was a decrease in glucose content in rats from second group by 11.9% ( $P \leq 0.001$ ) compared with the control one. At the same time, the glucose content in animals from third and fourth groups was higher by 35.9% ( $P \leq 0.001$ ) and 20% ( $P \leq 0.001$ ) higher than in animals from the control one. The insulin concentration in the blood of rats from the second group was 7.4% higher ( $P \leq 0.05$ ) compared to the animals from first group. The concentration of C-peptide was within the reference values. The levels of insulin and C-peptide concentration in animals of the third and fourth groups were lower by 47.8% ( $P \leq 0.001$ ) and 32.4% ( $P \leq 0.001$ ) and 55.5% ( $P \leq 0.001$ ) and 37.5% ( $P \leq 0.001$ ) in comparison with animals of first group. A pronounced hypoglycemic effect, which was due to an increase in the sensitivity of tissues to glucoregulatory hormones and an increase in the body's tolerance to excessive intake of carbohydrates. The obtained results of the study indicate the regulatory effect of humic feed additive «Humilid» on key links in the regulation of carbohydrate metabolism, which is characterized by the decrease in blood glucose level due to activation of the synthesis and secretion of insulin and C-peptide.

**Keywords:** «Humilid»; feed additive; carbohydrate metabolism disorders; alloxan; rats; glucoregulatory hormones.

### Вплив речовин гумінової природи на вуглеводний обмін при алоксан-індукованому цукровому діабеті у щурів

V. O. Utkina, L. M. Stepchenko

Дніпровський державний аграрно-економічний університет, Дніпро, Україна

**Анотація.** Наведено результати дослідження впливу біологічно активної добавки гумінової природи «Гумілід» на показники вуглеводного обміну, зокрема, вміст глюкози, концентрації інсуліну та С-пептиду при алоксан-індукованому цукровому діабеті у щурів. Статевозрілих самців білих щурів розподілили на чотири групи. Протягом трьох тижнів тварин другої і третьої груп отримували водний розчин кормової добавки «Гумілід» у розрахунку 5 мг/кг маси тіла за діючою речовиною. Щурам третьої і четвертої груп одноразово внутрішньочеревно вводили алоксан. Перша група – інтактні щури (контроль). З'ясовано, що використання біологічно активної кормової добавки гумінової природи проявляє гіпоглікемічний ефект як у здорових тварин, так і у щурів з алоксан-індукованим цукровим діабетом. Встановлено, що застосування Гуміліду щурам посилює енергетичні процеси в організмі. Відмічено зменшення вмісту глюкози у щурів другої групи на 11,9% ( $P \leq 0,001$ ) а у тварин третьої та четвертої – підвищення на 35,9% ( $P \leq 0,001$ ) і 20% ( $P \leq 0,001$ ) порівняно з тваринами контрольної групи. Концентрація інсуліну в крові щурів другої групи вище на 7,4% ( $P \leq 0,05$ ) порівняно із тваринами першої групи, а концентрація С-пептиду знаходилася у межах референтних значень. Показники концентрації інсуліну та С-пептиду у тварин третьої і четвертої груп були нижче на 47,8% ( $P \leq 0,001$ ) і 32,4% ( $P \leq 0,001$ ) та 55,5% ( $P \leq 0,001$ ) і 37,5% ( $P \leq 0,001$ ) порівняно з інтактними тваринами. Отримані результати дослідження

вказують на регуляторний вплив кормової добавки гумінової природи «Гумілід» на ключові ланки регуляції вуглеводного обміну, що характеризується зниженням вмісту глюкози в крові завдяки активації процесу синтезу та секреції інсуліну і С-пептиду.

**Ключові слова:** Гумілід; кормова добавка; порушення вуглеводного обміну; алоксан; щури; глюкорегуляторні гормони.

## Вступ

Цукровий діабет (ЦД) – хронічне захворювання, характеризується відносною або абсолютною недостатністю інсуліну, в результаті чого відбуваються метаболічні порушення, які є основною причиною пізніх ускладнень ЦД (Vergouwe et al., 2019).

За даними наукової літератури вперше модель ЦД була отримана в 1889 році (Mering, Minkowski) в результаті видалення у собаки підшлункової залози. Надалі виявлено, що експериментальний ЦД можна отримати не лише за допомогою панкреатектомії, а й після введення різних хімічних речовин, що руйнують інсулінопродуруючі β-клітини острівців підшлункової залози (Elsner et al., 2000).

Для експериментального моделювання гіперглікемії, зумовленої абсолютною недостатністю інсуліну в організмі, і інших порушень метаболізму, характерних для ЦД I типу, що викликають руйнування β-клітин острівців Лангерганса використовують хімічні сполуки, зокрема алоксан.

У 1943 році алоксан став об'єктом інтересу діабетологів, які дослідженням встановили, що при застосуванні цього препарату спостерігається специфічний некроз β-клітин підшлункової залози (Shaw Dunn & McLetchie, 1943; Dunn, et al., 1943; Pisarev, et al., 2008). Руйнування β-клітин алоксаном викликає зниження синтезу і секреції в кров інсуліну, в результаті чого у тварин розвивається гіперглікемія і діабетичний синдром, аналогічний інсулінозалежному ЦД I типу (Elsner, et al., 2000; Lenzen, 2007).

Після синтезу в підшлунковій залозі, інсулін потрапляє з током крові в печінку, де тимчасово утримується, і лише після цього надходить у кров. Як результат – концентрація інсуліну в крові недостатньо точно показує рівень його синтезу (Goto, et al., 1980; Tangvarasittichai, 2008). Незважаючи на це, лише аналіз на вміст С-пептиду в крові дозволяє однозначно оцінити функцію β-клітин підшлункової залози. Відомо, що С-пептид утворюється в процесі активізації інсуліну. С-пептид стабільний білок і виводиться значно повільніше, ніж інсулін, незважаючи на те, що вони синтезуються в однакових кількостях. Тобто скільки інсуліну виробилося в підшлунковій залозі це точно відображення концентрації саме С-пептиду (Elsner et al., 2000).

У світлі цього, пошук нових методів лікування і дослідження препаратів, зручних у застосуванні, які б володіли незначними побічними діями, на сьогодні залишається відкритим. Актуальний подальший пошук речовин, які проявляють гіпоглікемічні властивості, що регулюють метаболічні процеси і активність системи антиоксидантного захисту.

В останні десятиліття доведено, що застосування антиоксидантів токоферолу ацетат, таурину, літію, α-ліпоєвої кислоти зумовлює поліпшення метаболічного контролю, показників глікемії і сприяє зниженню прогресування ускладнень ЦД (Srivastava et al., 1993; Kaneto et al., 1999).

Однією з груп, перспективних у зазначеному аспекті є гумінової речовини. Найпоширеніше джерело для виробництва препаратів і добавок гумусової природи – це торф. Нині розроблено технології і з нього успішно виготовляють низку препаратів і добавок. Однією з таких є біологічно активна кормова добавка «Гумілід» (ТУ У 15.7-00493675-004:2009), яка розроблена у науково-дослідній лабораторії з гумінових речовин ім. проф. Л. А. Христевої Дніпровського державного аграрно-економічного університету. Гумілід – це комплекс гумінових кис-

лот, відомих своїми антидіарейними, знеболювальними, імуностимулювальними, антимікробними та антиоксидантними властивостями, здатністю впливати на обмін речовин (протеїнового й амінокислотного), конверсію корму, ріст і якість м'яса сільськогосподарських тварин (Stepchenko, 2010; Dyomshina et al., 2017).

Незважаючи на широке використання біологічно активних кормових добавок на основі гумінових речовин у ветеринарії, птахівництві, тваринництві та рослинництві, дослідження їх впливу на вуглеводний обмін вивчено недостатньо.

Прямих даних про вплив гумінових речовин на рівень глюкози в крові й механізми регуляції цього показника гомеостазу в умовах розвитку експериментального ЦД у науковій літературі ми не виявили.

Мета дослідження – вивчити вплив біологічно активної кормової добавки «Гумілід» на показники вуглеводного обміну при алоксан-індукованому цукровому діабеті у щурів.

## Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводили на статевозрілих молодих щурах-самцях віком 4,5 місяці, масою тіла 160–190 г у віварії Дніпровського державного аграрно-економічного університету. Тривалість дослідження експерименту складала 21 добу, протягом якої щурів утримували в стандартних умовах, з вільним доступом до води та корму. Тварин поділили на 4 групи. I група (n = 6) – інтактні щури (контроль), тварини II (n = 6) групи отримували водний розчин кормової добавки «Гумілід» у розрахунок 5 мг/кг маси тіла за діючою речовиною. Тваринам III (n = 6) та IV (n = 6) груп одноразово внутрішньочеревно вводили алоксан, який у вигляді порошку розчиняли у фізіологічному розчині ex tempore щурам вранці після попередньої 24-годинної депривації їжі, при збереженому доступі до води (табл. 1). Дозування діабетогенної дії розраховували індивідуально залежно від маси тіла тварини. Для мишей і щурів частіше вживається внутрішньочеревинне введення алоксана одноразово у вигляді 0,9% нормального сольового розчину в дозі 150 мг/кг або внутрішньовенне введення у вигляді 5% водного розчину в дозі 65 мг/кг (Antia et al., 2005). Щури IV групи додатково отримували водний розчин кормової добавки «Гумілід». Кормову добавку тваринам II та IV і відповідно воду I та III експериментальних груп вводили перорально, індивідуально за допомогою штучно змонтованого зонда протягом 21 доби. Для встановлення діабетичного статусу протягом дослідження здійснювали контроль вмісту глюкози в крові натще, взятої у щурів з хвостового надрізу. Глікемію в капілярній крові визначали кожні три дні за допомогою глюкометра «Healthpro» (Україна) згідно інструкції для визначення вмісту глюкози.

Наприкінці експерименту (на 21 добу) у тварин під ефірним наркозом відбирали кров із правого шлуночка серця в охоло-

**Таблиця 1** – Схема досліджу

Впливові фактори	Групи тварин			
	I	II	III	IV
Гумілід	–	+	–	+
Алоксан	–	–	+	+

джені пробірки об'ємом 5 мл для визначення концентрації гормонів (інсуліну і С-пептиду) імуноферментним методом з використанням тестів Ultrasensitive Insulin ELISA і Ultrasensitive C-peptide ELISA (Mercodia AB, Швеція) на автоматичному рідері для планшетів і стрипів ELx800 (BIO-ТЕК, США) з точністю вимірювання  $\pm 1\%$ .

Під час роботи з тваринами дотримувалися вимог «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (м. Страсбург, 1985 р.). Маніпуляції з тваринами проводили згідно з рекомендаціями PoLASA (Polish Laboratory Animal Science Association) у віварії Дніпровського державного аграрно-економічного університету. Методика досліджень схвалена етичним комітетом Дніпровського державного аграрно-економічного університету. Статистичну обробку експериментальних результатів для визначення біометричних показників здійснювали з використанням програми Microsoft Excel 10.0. Відмінності вважали достовірними за  $P < 0,05$ . У таблицях дані наведені у вигляді середніх значень та їх стандартних похибок ( $x \pm SD$ ).

### Результати

Використання в дослідженні екзогенного алоксана, що вводили внутрішньочеревно щурам, дозволило створити модель експериментального ЦД у тварин. Індукція характерних ознак діабету спостерігали протягом тритижневого експерименту.

Уже на третю добу після ін'єкції алоксана вміст глюкози в крові щурів III та IV групи був вище у 1,3 і 1,2 рази, що складало 22,2% ( $P \leq 0,001$ ) і 18,6% ( $P \leq 0,001$ ) порівняно з тваринами I групи, що свідчить про порушення вуглеводного обміну (рисунк). Тварини цих груп виглядали млявими та споживали велику кількість води.

На шосту добу дослідження відмічено зменшення вмісту глюкози у щурів II групи у 0,9 раз, що складало 9,8% ( $P \leq 0,001$ ) порівняно з I групою. Така тенденція зберігалася протягом усього дослідного періоду. У тварин III групи вміст глюкози був вище у 1,5 та 1,2 рази, що складало 33,7% ( $P \leq 0,001$ ) і 16% ( $P \leq 0,001$ ) порівняно із тваринами I та IV групи.

Вміст глюкози на дев'яту добу дослідження мало стрімке зростання у щурів III групи у 2,3 та 1,9 раз, що складало 56,7%

( $P \leq 0,001$ ) і 46,2% ( $P \leq 0,001$ ), порівняно з тваринами I та IV групи. Тоді, як у тварин IV групи показники вмісту глюкози залишались майже незмінними. Вміст глюкози у тварин IV групи був вище у 1,2 рази, що складало 19,4% ( $P \leq 0,001$ ) порівняно із щурами I групи.

За нашим дослідженням на дванадцять добу дослідження вміст глюкози у щурів III групи зменшився у 0,8 раз, що складало 34,8% порівняно з дев'ятою добою. Відмічалася загальна динаміка щодо збільшення вмісту глюкози III групи у 1,7 та 1,4 рази, що складало 56,7% ( $P \leq 0,001$ ) і 45,8% ( $P \leq 0,001$ ) порівняно із тваринами I та IV групи.

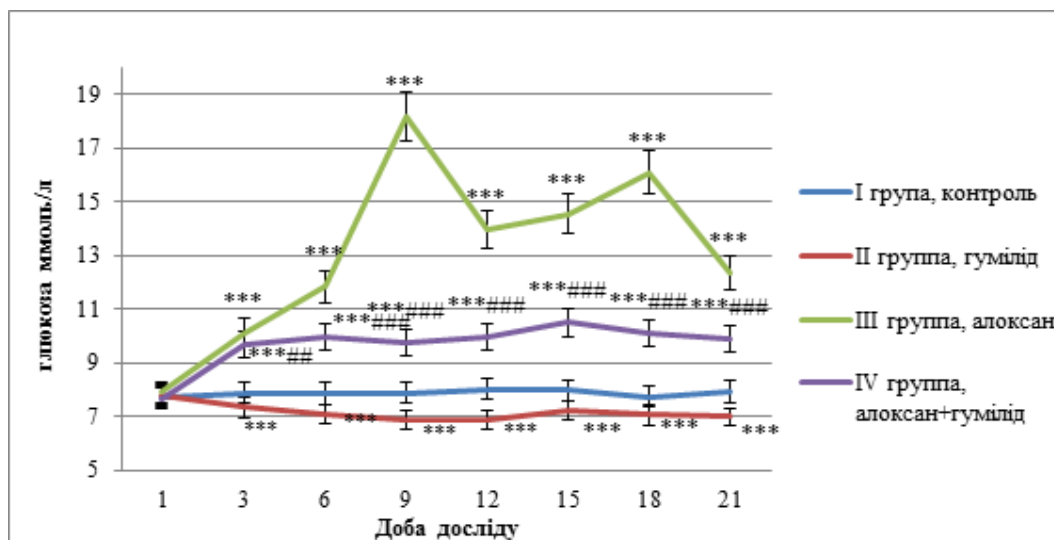
Вміст глюкози на п'ятнадцяту добу у щурів III та IV групи був вище у 1,8 та 1,3 рази, що складало 45,2% ( $P \leq 0,001$ ) і 24,2% ( $P \leq 0,001$ ) порівняно із тваринами I групи.

На вісімнадцяту добу дослідження у щурів III групи знову відмічено стрімке зростання вмісту глюкози на 51,9% ( $P \leq 0,001$ ) і 37,1% ( $P \leq 0,001$ ), що у 2,1 та 1,6 рази вище порівняно із тваринами I та IV групи. Вміст глюкози у тварин IV групи був вище у 1,3 рази, що складало 23,6% ( $P \leq 0,001$ ) порівняно із щурами I групи.

Вміст глюкози на двадцять першу добу дослідження у щурів III та IV групи був вище на 35,9% ( $P \leq 0,001$ ) і 20% ( $P \leq 0,001$ ) порівняно із тваринами I групи. Відмічено зменшення вмісту глюкози у щурів II групи на 11,9% ( $P \leq 0,001$ ) порівняно з I групою.

Отже, в умовах прийому біологічно активної кормової добавки «Гумілід» у щурів II групи спостерігали зниження вмісту глюкози в крові, а у тварин IV групи відбувалося менш значне підвищення і швидше її нормалізація. Це можливо пов'язано з активацією Гумілідом антиоксидантної системи, що забезпечило захист від шкідливої дії алоксана на  $\beta$ -клітини підшлункової залози і відносну безпеку інкреторної функції.

Оскільки в застосованій моделі ЦД порушується інкреторна функція підшлункової залози, тобто вибіркоче пошкодження  $\beta$ -клітин острівців Лангерганса (Behr, 2008), що відповідають за вироблення інсуліну. Важливим було спостереження змін концентрації гормонів інсуліну та С-пептиду, які відбулися у сироватці крові тварин за період дослідження на двадцять першу добу. Аналіз результатів дослідження показав, що у щурів III експериментальної групи концентрація інсуліну в крові на двадцять першу добу спостереження була нижче у 2,25 рази, що становило 55,5% ( $P \leq 0,001$ ) ніж у тварин I групи, що підтверджує факт розвитку ЦД (табл. 2).



**Рисунок.** Динаміка вмісту глюкози в крові піддослідних тварин з алоксановим цукровим діабетом та за дії Гуміліду.

*Примітка:* \*\*\* –  $P \leq 0,001$ , порівняно з контрольною групою; ## –  $P \leq 0,01$ , ### –  $P \leq 0,001$  – від показників III групи, алоксан.

**Таблиця 2** – Концентрація гормонів у крові щурів з алоксановим цукровим діабетом та за дії Гуміліду ( $x \pm SD$ ,  $n = 6$ , тривалість досліду 21 добу)

Група тварин	Інсулін, мкМЕ/л	C-пептид, нг/мл
I група, контроль	3,15 ± 0,062	3,20 ± 0,052
II група, Гумілід	3,40 ± 0,509*	3,15 ± 0,509
III група, алоксан	1,40 ± 0,651***	1,67 ± 0,651***
IV група, алоксан+Гумілід	2,13 ± 0,587***###	2,00 ± 0,587***###

Примітка: \* –  $P \leq 0,05$ , \*\*\* –  $P \leq 0,001$  порівняно з контрольною групою; ### –  $P \leq 0,001$  – від показників III група, алоксан.

Концентрація інсуліну в крові щурів IV групи, яким випоювали біологічно активну кормову добавку «Гумілід» була нижче у 1,5 рази, що становило 32,4% ( $P \leq 0,001$ ) порівняно з тваринами I групи. Слід відмітити, що застосування у II групі кормової добавки «Гумілід» перевищувало показники концентрації інсуліну в крові щурів I групи у 1,1 рази, що становило 7,4% ( $P \leq 0,05$ ), хоча і знаходилось у межах референтних значень.

C-пептид на відміну від інсуліну, не вступає в перехресну реакцію з інсуліновими антитілами, тому клінічна цінність визначення його рівня в крові визначається, перш за все, можливістю оцінки змісту попередника інсуліну.

Аналіз концентрації C-пептиду в крові здорових щурів і на тлі ЦД виявив динаміку, аналогічну тій, що виявлена нами для інсуліну, з достовірними показниками між дослідними групами тварин. А саме, концентрація C-пептиду в крові тварин III та IV групи була достовірно нижче у 1,9 і 1,6 раз, що становило 47,8% ( $P \leq 0,001$ ) та 37,5% ( $P \leq 0,001$ ) порівняно із тваринами I групи. Відмічено тенденцію до показників фізіологічної норми концентрації C-пептиду в крові у щурів II групи, що ймовірно викликало зниженням вмісту глюкози в крові у цих тварин.

Таким чином, біологічно активна кормова добавка «Гумілід» має виражений гіпоглікемічний ефект як у тварин II групи, так і у щурів IV групи, що обумовлено підвищенням чутливості тканин до інсуліну та C-пептиду і їх толерантності до надмірного вступу вуглеводів.

### Обговорення

Основний механізм дії алоксана – це утворення активних форм кисню, які призводять до руйнування  $\beta$ -клітин Лангерганса підшлункової залози, що мають низький антиоксидантний захист (Mathews & Leite, 1999; Vetere et al., 2014).

Перебіг алоксанового ЦД асоційований із вираженістю активації адренкортикальної системи (Selyatitskaya et al., 2012), що дозволяє говорити про важливу роль реактивності цієї гормональної системи в механізмах виникнення ЦД I типу після початкового пошкодження інсулін-продукуючої функції острівців Лангерганса підшлункової залози.

Завдяки особливостям будови гумінових речовин, препарати на їх основі виявляють антиоксидантну дію, знижуючи кількість окиснених продуктів у клітині (Stepchenko, 2010; Paronik et al., 2015; Dyomshina et al., 2017). У науковій літературі наведено докази гормоноподібної дії метаболітів гумінових кислот у печінці свійських тварин. Обмін речовин у печінці супроводжується утворенням біологічно активних гумінових похідних або самих гумінових кислот, які можуть прямо або опосередковано брати участь у регуляції біосинтезу (Stepchenko, 2010).

Біологічно активна кормова добавка гумінової природи «Гумілід» проявляє антидіабетичну активність на моделі з алоксан-індукованим ЦД, що підтверджується збереженістю тварин, запобіганням зниження маси тіла, зниженням вмісту глюкози та концентрації основних глюкорегуляторних гормонів у тварин. Виявлена антиоксидантна активність Гуміліду може бути одним з механізмів його антидіабетичного дії, так як відомо, що алоксан викликає вільнорадикальне пошкодження

$\beta$ -клітин, що мають слабкий антиоксидантний захист (Gogus et al., 1982; Lenzen, 2007).

При додаванні Гуміліду контрольним тваринам ми відмітили зниження вмісту глюкози в крові щурів. Оскільки глюкоза – це основне джерело енергетичних процесів метаболізму, допускаємо, що застосування Гуміліду прискорює та посилює обмінні процеси, впливає на засвоєння глюкози клітинами інсулінозалежних тканин різних органів шляхом поліпшення зв'язування інсуліну з відповідним рецептором.

Збільшення вмісту глюкози та зниження концентрації глюкорегуляторних гормонів у крові дослідних тварин з алоксановим ЦД є закономірним явищем, що відображає розвиток запального процесу в острівковій частині підшлункової залози щурів. Запуск запального процесу викликає введення алоксана, який, як відомо, володіє спрямованою токсичною дією відносно інсуліноцитів (Behr, 2008).

Таким чином, при моделюванні ЦД із використанням алоксана нами була виявлена виражена варіабельність в індивідуальній чутливості до препарату. Гостра фаза захворювання, що супроводжувалася значним збільшенням добового споживання води, гіперглікемією, зниженням глюкорегуляторних гормонів, зменшенням ваги, що обумовлювалось гетерогенністю тварин до алоксану.

Застосування Гуміліду дозволило істотно скоригувати показники порушеного метаболізму і його ендокринної регуляції при розвитку ЦД у щурів.

Тому здатність Гуміліду запобігати гіпоінсулінемії, знижувати гіперглікемію можна пов'язати із захистом  $\beta$ -клітин острівців Лангерганса від загибелі в умовах ЦД.

### Висновки

Пероральний прийом Гуміліда викликає зменшення вмісту глюкози в крові як у контрольних тварин, так і на тлі цукрового діабету, що зумовлено підвищенням чутливості тканин до глюкорегуляторних гормонів і підвищенням толерантності організму до надмірного вступу вуглеводів.

Гіпоглікемічний ефект перорального прийому Гуміліда відповідає потужною антиоксидантною дією, що може бути одним із механізмів його антидіабетичного дії.

Для корекції метаболічного статусу при цукровому діабеті, перспективна розробка біологічно кормових добавок гумінової природи, що містять солі гумінових кислот. Як переваги добавок гумінової природи відносно до відомих груп цукрознижувальних препаратів слід підкреслити широкий терапевтичний інтервал, низьку токсичність і невисоку собівартість виробництва. Механізм антидіабетичного дії біологічно активної кормової добавки «Гумілід» встановлені частково, зокрема тому, що за даними літератури їх гіпоглікемічні та антидіабетичні властивості практично не вивчені. Тому, подальші дослідження будуть спрямовані на детальне вивчення морфологічних змін у різних органах щурів за алоксанового цукрового діабету на тлі застосування біологічно активної кормової добавки гумінової природи «Гумілід».

## References

- Antia, B., Okokon, J., & Okon, P. (2005). Hypoglycemic activity of aqueous leaf extract of *Persea americana* Mill. *Indian Journal of Pharmacology*, 37(5), 325.
- Behr, G. A., da Silva, E. G., Ferreira, A. R., Cerski, C. T. S., Dal-Pizzol, F., & Moreira, J. C. F. (2008). Pancreas  $\beta$ -cells morphology, liver antioxidant enzymes and liver oxidative parameters in alloxan-resistant and alloxan-susceptible Wistar rats: a viable model system for the study of concepts into reactive oxygen species. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 22(6), 657–666.
- Dunn, J. S., Kirkpatrick, J., McLetchie, N. G. B., & Telfer, S. V. (1943). Necrosis of the islets of Langerhans produced experimentally. *The Journal of Pathology and Bacteriology*, 55(3), 245–257.
- Dyomshina, O. O., Ushakova, G. O., & Stepchenko, L. M. (2017). The effect of biologically active feed additives of humilid substances on the antioxidant system in liver mitochondria of gerbils. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 8(2), 185–190.
- Elsner, M., Guldbakke, B., Tiedge, M., Munday, R., & Lenzen, S. (2000). Relative importance of transport and alkylation for pancreatic beta-cell toxicity of streptozotocin. *Diabetologia*, 43(12), 1528–1533.
- Gorus, F. K., Malaisse, W. J., & Pipeleers, D. G. (1982). Selective uptake of alloxan by pancreatic B-cells. *Biochemical Journal*, 208(2), 513–515.
- Goto, Y., Seino, Y., Note, S., & Imura, H. (1980). The Dual Effect of Alloxan Modulated by 3-O-Methylglucose or Somatostatin on Insulin Secretion in the Isolated Perfused Rat Pancreas. *Hormone and Metabolic Research*, 12(04), 140–143.
- Kaneto, H., Kajimoto, Y., Miyagawa, J., Matsuoka, T., Fujitani, Y., Umayahara, Y., Hanafusa, T., Matsuzawa, Y., Yamasaki, Y., & Hori, M. (1999). Beneficial effects of antioxidants in diabetes: possible protection of pancreatic beta-cells against glucose toxicity. *Diabetes*, 48(12), 2398–2406.
- Lenzen, S. (2007). The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*, 51(2), 216–226.
- Mathews, C. E., & Leiter, E. H. (1999). Constitutive differences in antioxidant defense status distinguish alloxan-resistant and alloxan-susceptible mice. *Free Radical Biology and Medicine*, 27(3-4), 449–455.
- Paronik, V. A., Stepchenko, L. M., Djachenko, L. M., Ljevyh, A. E., & Shevcova, A. I. (2015). Vplyv korvitynu ta gumilidu na stan oksydantno-antyoksydantnoi' systemy shhuriv na foni vvedennja adrenalinu [Impact of corvitin and humilid on the state of the oxidant-antioxidant system of rats on the background of the introduction of adrenaline]. *Biologija Tvaryn*, 17(4), 109–114 (in Ukrainian).
- Pisarev, V. B., Snigur, G. L., Spasov, A. A., & Samokhina, M. P. (2008). Kletochnaya gibel' endokrinotsitov pank- reaticheskikh ostrovkov, obuslovlennaya alloksanovoy tsitotoksichnost'yu [Cell death of  $\beta$ -endocrinocytes of pancreatic islets due to alloxan cytotoxicity]. *Volgograd Journal of Medical Research*, 4(20), 24–25 (in Russian).
- Selyatitskaya, V. G., Palchikova, N. A., Kuznetsova, N. V. (2012). Adrenocortical system activity in alloxan-resistant and alloxan-susceptible Wistar rats. *Journal of Diabetes Mellitus*, 2(2), 165–169.
- Shaw Dunn, J., & McLetchie, N. G. B. (1943). Experimental alloxan diabetes in the rat. *The Lancet*, 242(6265), 384–387.
- Srivastava, P., Saxena, A. K., Kale, R. K., & Baquer, N. Z. (1993). Insulin like effects of lithium and vanadate on the altered antioxidant status of diabetic rats. *Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology*, 80(3), 283–293.
- Stepchenko, L. M. (2010). Znachenia katepsinu B ta jogo inhibitoriv v reguljaciji obminnyh procesiv u kurchat-brojleriv za diji rechovyn guminovoji pryrody [The value of cathepsin B and its inhibitors in the regulation of metabolism in broiler chickens for the actions of humic substances]. *Biologija Tvaryn*, 12(2), 180–188 (in Ukrainian).
- Stepchenko, L. M., Harashchuk, M. I., Spitsina, T. L., Platonova, T. S., & Smirnov, D. O. (2020). The effect of a new feed additive of humic nature on metabolic processes in laboratory rats depending on the dose. *Theoretical and Applied Veterinary Medicine*, 8(2), 158–162.
- Tangvarasittichai, S. (2015). Oxidative stress, insulin resistance, dyslipidemia and type 2 diabetes mellitus. *World Journal of Diabetes*, 6(3), 456.
- Vergouwe, Y., Soedamah-Muthu, S. S., Zgibor, J., Chaturvedi, N., Forsblom, C., Snell-Bergeon, J. K., & Moons, K. G. M. (2009). Progression to microalbuminuria in type 1 diabetes: development and validation of a prediction rule. *Diabetologia*, 53(2), 254–262.
- Vetere, A., Choudhary, A., Burns, S. M., & Wagner, B. K. (2014). Targeting the pancreatic  $\beta$ -cell to treat diabetes. *Nature Reviews Drug Discovery*, 13(4), 278–289.