

УДК 616.379 – 008.64:577.114

О. Ю. Кушнір
І. Ф. Мецишен
І. М. Яремій

Буковинський державний медичний
університет, м. Чернівці

ВПЛИВ МЕЛАТОНІНУ НА СТАН ВУГЛЕВОДНОГО ОБМІНУ В ПЕЧІНЦІ АЛОКСАНДІАБЕТИЧНИХ ЩУРІВ

Ключові слова: мелатонін,
алоксановий діабет, вуглеводний
обмін, печінка, щурі.

Резюме. У статті показано, що в печінці алоксандіабетичних щурів із явним цукровим діабетом у порівнянні з контролем рівень базальної глікемії, активність лактатдегідрогенази та глюкозо-6-фосфатази зростають відповідно на 139, 61 та 186%, у той час як уміст глікогену, активності піруваткінази та глюкозо-6-фосфатдегідрогенази знижувалися на 15, 35 та 42% відповідно. Рівень базальної глікемії, вміст глікогену та активність піруваткінази в печінці алоксандіабетичних щурів із прихованим діабетом вірогідно не відрізнялися від показників інтактних щурів, проте активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, лактатдегідрогенази та глюкозо-6-фосфатази були на 77, 20 та 43% відповідно вищими, ніж у тварин контрольної групи. Уведення алоксандіабетичним щурам мелатоніну в дозі 10 мг/кг упродовж тижня сприяло нормалізації показників обміну вуглеводів у групі тварин із прихованим діабетом. Семиденне введення цієї ж дози мелатоніну алоксандіабетичним щурам із явним цукровим діабетом сприяло нормалізації рівня базальної глікемії, вмісту глікогену, активності піруваткінази і лактатдегідрогенази в печінці щурів, а також суттєвому зниженню активності глюкозо-6-фосфатази та підвищенню активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, рівень якої перевищує на 40% даний показник у контрольній групі тварин.

Вступ

Цукровий діабет (ЦД) є найрозповсюдженішим ендокринологічним захворюванням. Кількість хворих на цю тяжку недугу невпинно зростає, а сам діабет “молодшає”. Тому, розробка нових підходів до фармакотерапії цього захворювання залишається актуальним на сьогодні питанням. Завданням протидіабетичних препаратів є нормалізування рівня глюкози та сприяння регенерації β -клітин підшлункової залози, відновлення вторинних порушень обміну речовин [7]. Перспективним у цьому плані є дослідження впливу мелатоніну [6, 13].

Мета дослідження

Дослідити вплив мелатоніну на рівень базальної глікемії в крові, вміст глікогену й активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г-6-ФДГ), піруваткінази (ПК), лактатдегідрогенази (ЛДГ) та глюкозо-6-фосфатази (Г-6-Ф-ази) в печінці щурів при алоксановому цукровому діабеті за умов природного освітлення.

Матеріал і методи

Експерименти проведені на 88 статевозрілих самцях безпородних білих щурів масою 0,18–

0,20 кг. Тварин утримували за умов природного освітлення та вільного доступу до води та їжі. Алоксановий діабет, викликали шляхом введення щурам 5%-го розчину алоксану моногідрату внутрішньоочеревинно в дозі 170 мг/кг одноразово, після 24-годинного голодування [10]. Кров для дослідження відбирали з хвостової вени. Визначення рівня базальної глікемії (БГ) проводили за допомогою приладу One Touch Ultra Easy (виробник “Johnson & Johnson”, США). На третю (критичну) добу спостерігали загибель 50% алоксандіабетичних щурів. Дослідних тварин було розділено на шість груп: 1) інтактні щурі (контрольна група); 2) щурі з явним цукровим діабетом; 3) щурі з явним цукровим діабетом, яким починаючи з 5-ої доби після введення алоксану впродовж тижня щоденно о 8 годині ранку внутрішньоочеревинно вводили препарат мелатоніну в дозі 10 мг/кг [14]; 4) щурі з явним цукровим діабетом, які починаючи з 5-ої доби після введення алоксану отримували ін'єкції інсуліну (Фармасулін Н NP, виробник ВАТ “Фармак”, Україна) з розрахунку, що 1 ОД інсуліну утилізує 2 ммоль/л глюкози [11]; 5) щурі з прихованим цукровим діабетом, 6) щурі з прихованим цукровим діабетом, яким

упродовж тижня вводили мелатонін. У роботі використаний препарат мелатоніну (виробник "Sigma", США), який вводили алоксандіабетичним щурам упродовж семи діб щоденно внутрішньоочеревинно в дозі 10 мг/кг починаючи з 5 доби після алоксану. Тварин забивали шляхом декапітації під легким ефірним наркозом на 12 добу від початку експерименту у відповідності до етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2000), що узгоджується з положеннями Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей. У супернатанті, отриманому після центрифугування 5%-го гомогенату печінки при 900g, визначали вміст глікогену та активності ферментів за стандартними методиками [1, 2, 5, 8]. Статистичну обробку результатів дослідження проводили за допомогою статистичного модуля комп'ютерної програми Microsoft Office Excel 2007.

Обговорення результатів дослідження

Алоксан, як відомо [12, 9, 15], вибірково пошкоджує значну частину β -клітин острівцевої тканини підшлункової залози. Згідно отриманих результатів (табл. 1), у частини щурів введення алоксану моногідрату викликало різке зростання рівня базальної глікемії натще (на 139% порівняно з показниками контрольної групи тварин); такі тварини сформували групу щурів із явним цукровим діабетом ($BG \geq 8,0$ ммоль/л) [12]. У решті алоксандіабетичних тварин рівень базальної глікемії вірогідно не відрізнявся від показників інтактних щурів ($BG \leq 6,9$ ммоль/л); таких тварин було об'єднано в групу алоксандіабетичних щурів із прихованим цукровим діабетом [10]. Семидобове введення мелатоніну сприяло нормалізуванню рівня базальної глікемії (БГ) в групі тварин із явним цукровим діабетом та зниженню рівня БГ (на 37% порівняно з інтактними щурами) у тва-

рин із прихованим цукровим діабетом, що вказує на гіпоглікемічну дію препарату мелатоніну.

У печінці щурів із явним цукровим діабетом різко зросли (табл. 2) активності ЛДГ та Г-6-Ф-ази (в середньому на 61 та 186% відповідно у порівнянні з контролем). Вміст глікогену, активності ПК і Г-6-ФДГ в печінці щурів із явним цукровим діабетом знизилися порівняно з показниками контролю в середньому на 15, 35 і 42% відповідно. Таким чином, при явному алоксановому діабеті в печінці щурів активується фосфороліз глікогену і гліюконеогенез; пригнічуються – гліколіз та окисна стадія пентозо-фосфатного шляху (ПФШ) окиснення глюкозо-6-фосфату [4]. Досліджувані показники вуглеводного обміну в групі алоксандіабетичних тварин із явним діабетом, які впродовж тижня отримували регулярні ін'єкції інсуліну, вірогідно не відрізнялися від показників контрольної групи тварин, що свідчить про компенсацію вуглеводного обміну в тварин даної групи, адже позитивний вплив інсуліну на обмін вуглеводів у печінці, як і його гіпоглікемічна дія є загальновідомими [3]. Семидобове введення щурам із явним цукровим діабетом препарату мелатоніну сприяло нормалізуванню в печінці тварин вмісту глікогену й активностей ПК і ЛДГ; зниженню активності Г-6-Ф-ази (цей показник був на 35% нижчим, ніж у нелікованих тварин, проте вірогідно відрізнявся від показників контролю) та підвищенню активності Г-6-ФДГ (даний показник був на 148% вищим ніж у нелікованих тварин та на 40% вищим ніж показники контролю).

У печінці щурів із прихованим цукровим діабетом виявлено підвищення активності Г-6-ФДГ, ЛДГ та Г-6-Ф-ази (на 77, 20 та 43% порівняно з інтактними тваринами); вміст глікогену та активність ПК не відрізнялися від показників інтактних тварин. Уведення мелатоніну щурам із прихованим цукровим діабетом сприяло нормалізації всіх досліджуваних показників обміну вуглеводів у печінці тварин.

Таблиця 1

Рівень базальної глікемії натще (ммоль/л), ($M \pm m$)

Групи	Показники	На 4-ту добу (до введення засобів корекції)	На 12-ту добу після введення алоксану
1.	Інтактний контроль, n=12	5,6 \pm 0,44	5,7 \pm 0,53
2.	Явний цукровий діабет, n=6	11,1 \pm 2,45 ^a	13,7 \pm 2,51 ^a
3.	Явний цукровий діабет + інсулін, n=6	11,2 \pm 1,40 ^a	5,1 \pm 0,88 ^{b,d}
4.	Явний цукровий діабет + мелатонін, n=6	10,3 \pm 0,95 ^a	5,9 \pm 0,58 ^{b,d}
5.	Прихований цукровий діабет, n=13	5,2 \pm 0,36 ^b	5,3 \pm 0,45 ^b
6.	Прихований цукровий діабет + мелатонін, n=7	5,2 \pm 0,31 ^b	3,2 \pm 0,79 ^{a,b,c,d}

Примітка. a – зміни вірогідні стосовно інтактного контролю ($p < 0,05$); b – зміни вірогідні стосовно явного цукрового діабету ($p < 0,05$); c – зміни вірогідні стосовно прихованого цукрового діабету ($p < 0,05$); d – зміни вірогідні в межах групи стосовно 4 доби ($p < 0,05$).

Таблиця 2

Вплив лікування мелатоніном на вміст глікогену та активність деяких ферментів печінки за інтоксикації алоксаном моногідратом (M±m)

Показники / Групи	Глікоген, мг%	Глюкозо-6-фосфат-дегідрогеназа, нмоль / хв×мг білка	Піруваткіназа, мкмоль/хв×мг білка	Лактат-дегідрогеназа, нмоль/хв×мг білка	Глюкозо-6-фосфатаза, мкг/хв×мг білка
Контроль, n=12	3212,6±73,97	6,7±0,48	52,2±1,48	2,5±0,03	21,8±1,67
Явний цукровий діабет, n=6	2736,5±59,70 ^a	3,9±0,31 ^a	34,1±3,25 ^a	4,0±0,05 ^a	62,5±5,20 ^a
Явний цукровий діабет + інсулін, n=6	3174,0±60,28 ^b	6,7±0,42 ^b	54,4±4,09 ^b	2,4±0,04 ^b	23,8±3,46 ^b
Явний цукровий діабет + мелатонін, n=6	3052,7±30,32 ^b	9,6±0,81 ^{a,b}	49,8±3,14 ^b	2,5±0,05 ^b	46,0±4,69 ^{a,b}
Прихований цукровий діабет, n=13	3051,6±38,79 ^b	11,9±2,12 ^{a,b}	48,0±2,65 ^b	3,1±0,10 ^{a,b}	31,2±4,07 ^{a,b}
Прихований цукровий діабет + мелатонін, n=7	3319,4±89,77 ^b	7,1±0,44 ^{b,c}	55,0±3,49 ^b	2,7±0,09 ^{b,c}	20,8±1,97 ^{b,c}

Примітка. а – зміни вірогідні стосовно інтактного контролю ($p < 0,05$); б – зміни вірогідні стосовно явного цукрового діабету ($p < 0,05$); с – зміни вірогідні стосовно прихованого цукрового діабету ($p < 0,05$).

Позитивний вплив екзогенного мелатоніну на обмін вуглеводів у печінці алоксандіабетичних щурів ймовірно може опосередковуватися як шляхом впливу на ферменти метаболізму вуглеводів у печінці (активація гліколізу, пригнічення глюконеогенезу, нормалізування інтенсивності перебігу ПФШ окиснення глюкозо-6-фосфату), так і шляхом стимулювання острівкового апарату підшлункової залози. Окремі дослідники припускають [14], що мелатонін має здатність регенерувати β -клітини острівців Лангерганса підшлункової залози.

Висновок

Уведення мелатоніну в дозі 10 мг/кг щоденно впродовж 7 днів алоксандіабетичним щурам із явним і прихованим цукровим діабетом виявляє корегуючий вплив на рівень базальної глікемії та показники обміну вуглеводів у печінці щурів.

Перспективи подальших досліджень

У подальшому планується вивчення впливу мелатоніну на гістологічні показники підшлункової залози за умов алоксанового діабету.

Література. 1. Бабич Н. О. Влияние тироксина на активность некоторых ферментов энергетического обмена в миелиодных клетках костного мозга и нейтрофилах крови поросят / Н. О. Бабич, Г. Л. Антоняк, М. Ф. Тымочко // Вопросы медицинской химии. - 2000. - № 2. - Режим доступа до журн.: <http://medi.ru/pbmc/8800209.htm> 2. Биохимические методы исследования в клинике: справочник / под ред. А. А. Покровского. - М.: Медицина, 1969. - 629 с. 3. Городецкий В. К. Патологическая физиология углеводного обмена: лекция / В. К. Городецкий // Клиническая лабораторная диагностика. - 2006. - №2. - С. 25-32. 4. Эндокринология / [Боднар П. М., Приступок О. М., Щербак О. В. та ін.]; за ред. П. М. Боднара. - К.: Здоров'я, 2002. - 512с. 5. Захарьин Ю. Л. Метод определения активности глюкозо-6- фосфатдегідрогеназы и 6-фосфоглюко-

натдегідрогеназы / Ю. Л. Захарьин // Лаб. дело. - 1967. - №6. - С. 327 - 330. 6. Мелатонин в норме и патологии; под ред. Ф. И. Комарова, С. И. Рапопорта, Н. К. Малиновской, В. Н. Анисимова. - М.: ИД Медпрактика - М., 2004. - 524с. 7. Мерещкий В. М. Нарушения липидного та углеводного обміну і методи їх корекції при експериментальному цукровому діабеті / В. М. Мерещкий // Медична хімія. - 2007. - Т. 9, № 3. - С. 83- 86. 8. Методы биохимических исследований; под ред. М. И. Прохоровой. - Ленинград: Изд-во Ленингр. ун-та, 1982. - С. 239 - 240. 9. Морфологические аспекты алоксанового диабета после трансплантации культуры клеток поджелудочной железы (сообщение 3) / В. К. Гринь, В. Ю. Михайличенко, А. А. Селезнев [и др.] // Экспериментальные исследования. - 2004. - № 2. - С. 326 - 332. 10. Пальчикова Н. А. Качественная оценка чувствительности экспериментальных животных к диабетогенному действию аллоксана / А. А. Пальчикова, В. Г. Селятинская, Ю. П. Шорин // Проблемы эндокринологии. - 1987. - Т. 33, № 4. - С. 65 - 68. 11. Паньків В. І. Ендокринологія / В. І. Паньків, Й. І. Пічкар. - Київ, 2007. - 258 с. 12. Патологические аспекты аллоксанового диабета / В. К. Гринь, О. И. Миминошвили, В. Ю. Михайличенко [и др.] // Вестник неотложной и восстановительной медицины. - 2003. - Т. 4, №2. - С. 337- 343. 13. Труфакин В. А. Проблемы центральной регуляции биоритмов иммунной системы. Роль мелатонина / В. А. Труфакин, А. В. Шурльгина // Вестник Российской АМН. - 2006. - № 9 - 10. - С. 121- 127. 14. Depression of glucose levels and partial restoration of pancreatic β -cell damage by melatonin in streptozotocin-induced diabetic rats / Kanter Mehmet, Uysal Hamdi, Karaca Turan, Sagmanligil Hulvia Ozdemir // Arch. Toxicol. - 2006. - Vol. 80, № 6. - P. 362 - 369. 15. Importance of the GLUT 2 glucose transporter for pancreatic beta cell toxicity of alloxan / Elsner M., Tiedge M., Gludbakke B., Munday R., Lenzen S. // Diabetologia. - 2002. - Vol. 45, № 11. - P. 1542 - 1549.

ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА НА СОСТОЯНИЕ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА В ПЕЧЕНИ АЛЛОКСАНДИАБЕТИЧЕСКИХ КРЫС

А. Ю. Кулинич, И. Ф. Мецишен, И. Н. Яремий

Резюме. В статье показано, что в печени аллоксандиабетичных крыс с явным сахарным диабетом уровень базальной гликемии, активности лактатдегідрогеназы и глюкозо-6-фосфатазы возрастают соответственно на 139, 61 и 186% в сравнении с контролем, в то время как содержание глікогена, активности піруваткіназы и глюкозо-6-фосфатдегідрогеназы снижались на 15, 35 и 42% соответ-

ственно, по сравнению с животными контрольной группы. Уровень базальной гликемии, содержание гликогена и активность пируваткиназы в печени аллоксандиабетичных крыс со скрытым диабетом достоверно не отличались от показателей интактных крыс, однако активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, лактатдегидрогеназы и глюкозо-6-фосфатазы были на 77, 20 и 43% соответственно выше, чем у животных контрольной группы. Введение аллоксандиабетичным крысам мелатонина в дозе 10 мг/кг на протяжении недели способствовало нормализации показателей обмена углеводов в группе животных со скрытым диабетом. Семидневное введение этой же дозы мелатонина аллоксандиабетичным крысам с явным сахарным диабетом способствовало нормализации уровня базальной гликемии, содержания гликогена, активности пируваткиназы, и лактатдегидрогеназы в печени крыс, а также существенному снижению активности глюкозо-6-фосфатазы и повышению активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, уровень которой превысил на 40% данный показатель в контрольной группе животных.

Ключевые слова: мелатонин, аллоксановый диабет, углеводный обмен, печень, крысы.

THE EFFECT OF MELATONIN ON THE STATE OF CARBOHYDRATE METABOLISM IN THE LIVER OF ALLOXAN DIABETIC RATS

O. Yu. Kushmir, I. F. Meshchysheh, I. M. Yaremii

Abstract. The paper demonstrates that the level of basal glycemia, the activity of lactate dehydrogenase and glucose-6-

phosphatase increase respectively by 139, 61 and 186% in the liver of alloxan diabetic rats with overt diabetes compared with the control value, whereas the content of glycogen, the activity of pyruvate kinase and glucose-6-phosphate dehydrogenase decreased by 15, 35, and 42% respectively. The level of basal glycemia, the content of glycogen and the activity of pyruvate kinase in the liver of alloxan diabetic rats with occult diabetes didn't reliably differ from the indices of intact rats, however, the activities of glucose-6-phosphate dehydrogenase, lactate dehydrogenase and and glucose-6-phosphatase were by 77, 20 and 43% respectively higher than in the animals of the control group. The injection of melatonin in a dose of 10 mg/kg to the alloxan diabetic rats was conducive to a normalization of the indices of carbohydrate metabolism in the group of animals with occult diabetes. A 7-day injection of the same dose of melatonin to the alloxan diabetic rats over diabetes contributed to a normalization of the level of basal glycemia, the content of glycogen, the activity of pyruvate kinase and lactate dehydrogenase in the rat liver, as well as to a considerable decrease of the activity of glucose-6-phosphatase and an increase of the activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase, whose level exceeded by 40% this particular index in the control group of animals.

Key words: melatonin, alloxan diabetes, carbohydrate metabolism, liver, rats.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Clin. and experim. pathol. - 2009. - Vol.8, №2. - P.37-40.

Надійшла до редакції 26.05.2009

Рецензент – проф. В. Ф. Мислицький
