

## ВПЛИВ 14-ДОБОВОГО ВВЕДЕННЯ МЕЛАТОНІНУ НА СТАН ОКСИДАНТНОЇ ТА АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМ І ВМІСТ ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ В КРОВІ ЩУРІВ ПРИ АЛОКСАНОВОМУ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТИ

*Встановлено, що алоксановий діабет супроводжується збільшенням вмісту ТБК-активних продуктів та окисномодифікованих білків у крові на фоні зниження вмісту гідроген сульфід у зростання активності каталази і церулоплазміну. Введення екзогенного мелатоніну впродовж 14 днів сприяло нормалізації рівня базальної глікемії, вмісту гідроген сульфід та викликало виражений антиоксидантний ефект шляхом нормалізації активності ферментів антиоксидантного захисту.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** цукровий діабет, мелатонін, алоксан, гідроген сульфід, антиоксидантна система.

**ВСТУП.** Пошук засобів, які здатні покращити лікування цукрового діабету (ЦД), у зв'язку зі значною поширеністю та розвитком ускладнень цього захворювання, залишається одним з найбільш актуальних завдань у сучасній медицині. Досить поширеною є експериментальна модель алоксанового діабету, яку широко використовують для вивчення різних сторін патогенезу та патоморфології ЦД [12]. Відомо, що при ЦД відбуваються активація вільнорадикального окиснення біомолекул, виснаження антиоксидантної системи, зокрема порушується обмін сірковмісних амінокислот [1]. Порушення метаболізму вищевказаних амінокислот є істотним чинником ризику серцево-судинних захворювань, уражень нервової системи, хвороб нирок та інших патологічних станів організму. Продуктом обміну сірковмісних амінокислот є біологічно активна молекула гідроген сульфід ( $H_2S$ ). Цікавість до біологічної ролі  $H_2S$  значно посилилась у зв'язку з появою даних про його причетність до регуляції судинного тону, нейромодуляції, процесів запалення та апоптозу, агрегації тромбоцитів [9, 11].

Останнім часом науковці та медики активно вивчають фізіологічні ефекти мелатоніну на різні органи і системи організму, оскільки цей гормон епіфіза володіє сомногенним ефектом, є регулятором циркадіанної системи організму, стимулятором імунної системи, антиоксидантом, проявляє геро-, канцеро- та стресопротекторні властивості. Мелатонін має позитивний вплив на про- та антиоксидантну системи [7, 10].

© І. В. Геруш, Н. М. Лугініч, 2014.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Експерименти проводили на 50 білих статевозрілих щурах-самцях масою 0,16–0,18 кг. Цукровий діабет було викликано шляхом внутрішньочеревного введення 5 % розчину моногідрату алоксану в дозі 150 мг/кг [11]. Тварин поділили на групи: 1-ша – контрольні тварини; 2-га – тварини з явним цукровим діабетом (базальна глікемія 12,8–17,2 ммоль/л); 3-тя – тварини з явним діабетом, яким о 8<sup>00</sup> щодня впродовж 14 днів інтрагастрально вводили мелатонін у дозі 10 мг/кг.

Кров у щурів отримували шляхом декапітації під легким ефірним наркозом. У крові вміст глюкози визначали глюкозооксидазним методом з використанням набору реактивів “Філісіт-Діагностика” (Україна). У плазмі крові визначали вміст гідроген сульфід [11], SH-груп [5], окисномодифікованих білків (ОМБ) [8], активність церулоплазміну [2]; в гемолізаті еритроцитів – вміст ТБК-активних продуктів [4], активність каталази [6]. Результати оброблено статистично за допомогою програми STATISTICA 10 з використанням непараметричних методів варіаційної статистики: розрахунок середніх значень (M), похибки середніх значень (m), U-критерію Уїлкоксона. Вірогідною вважали різницю при  $p < 0,05$ .

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Встановлено, що за умов алоксанового цукрового діабету посилювались процеси вільнорадикального пошкодження біомолекул, про що свідчило зростання вмісту ТБК-активних продуктів у крові на 32 % (табл.).

Таблиця – Показники рівня базальної глікемії, вмісту гідроген сульфїду, стан оксидантно-антиоксидантної системи крові щурів при алоксановому цукровому діабеті та впливі мелатонїну ( $M \pm m$ ;  $n=11$ )

Показник	Група тварин		
	1-ша (контроль)	2-га (цукровий діабет)	3-тя (цукровий діабет+ мелатонін)
Глюкоза, мкмоль/л	6,8±0,28	14,48±0,39*	8,75±0,5**
H <sub>2</sub> S, мкмоль/л	58,1±2,66	25,9±1,38*	46,4±1,92**
SH-групи, ммоль/л	8,56±1,12	9,5±1,06	8,4±0,84
ТБК-активні продукти, нмоль/мл еритроцитів	8,23±1,02	10,86±1,51*	8,44±1,27
Окисномодифіковані білки, мкмоль/г білка	0,63±0,01	1,02±0,03*	0,58±0,01**
Каталаза, мкмоль/хв·л	10,75±1,42	12,1±1,56*	10,92±1,29
Церулоплазмін, мг/л	117,41±5,62	162,28±6,12*	127,05±5,73**

Примітки:

1. \* –  $p < 0,05$  порівняно з показниками контрольної групи.

2. \*\* –  $p < 0,05$  порівняно з показниками тварин із цукровим діабетом.

Окиснювальна модифікація та деструкція білків є одним із раних і найбільш важливих індикаторів пошкодження тканин при вільнорадикальній патології [3]. Встановлено зростання вмісту ОМБ плазми крові щурів із алоксановим цукровим діабетом на 62 % вище рівня контролю.

Важливим показником перебігу вільнорадикальних реакцій є активність ферментів антиоксидантного захисту, одним із найважливіших з яких є каталаза. Встановлено, що алоксановий цукровий діабет супроводжувався зростанням активності каталази в крові щурів на 13 % вище рівня контролю.

Активність церулоплазміну плазми крові щурів із алоксановим цукровим діабетом перевищувала показники контрольної групи тварин на 38 %. Тому виявлене в експерименті зростання рівня його активності може бути пов'язане з активуванням антиоксидантної системи захисту.

Невід'ємну частину біокаталітичної системи живого організму складають функціональні SH-групи білків. Сульфгідрильні групи білків не тільки виконують каталітичну функцію, але й захищають білки від пошкоджувальної дії несприятливих факторів зовнішнього середовища [3]. Було встановлено незначне збільшення вмісту SH-груп плазми крові щурів із алоксановим цукровим діабетом порівняно з контролем. Вміст гідроген сульфїду в плазмі крові щурів із алоксановим цукровим діабетом зменшувався на 55 % порівняно з показниками контрольних тварин. Це свідчить про виснаження буферної ємності антиоксидантної системи крові.

Мелатонін є одним із найбільш сильних і універсальних ендогенних антиоксидантів, які

присутні в усіх клітинних структурах, включаючи ядро. Антиоксидантний ефект розглядають як головний біохімічний механізм дії гормону [6].

Встановлено, що введення щурам з алоксановим цукровим діабетом мелатонїну в дозі 10 мг/кг о 8<sup>00</sup> щодня впродовж 14 днів сприяло зниженню базальної глікемії, вмісту ТБК-активних продуктів в еритроцитах щурів та вмісту ОМБ у плазмі крові щурів на 43 % порівняно з показниками нелікованих тварин. Поряд із цим, введення мелатонїну сприяло й нормалізації активності антиоксидантних ферментів крові щурів з алоксановим цукровим діабетом: активність каталази вірогідно не відрізнялася від контролю, а активність церулоплазміну еритроцитів була нижчою на 22 % порівняно з показниками нелікованих тварин.

Введення мелатонїну щурам з алоксановим цукровим діабетом сприяло зростанню вмісту гідроген сульфїду в крові щурів на 79 %.

**ВИСНОВКИ.** Алоксановий цукровий діабет супроводжується збільшенням вмісту ТБК-активних продуктів та окисномодифікованих білків у крові на фоні зниження вмісту гідроген сульфїду та зростання активності каталази і церулоплазміну. За умов явного цукрового діабету введення щурам з алоксановим цукровим діабетом екзогенного мелатонїну в дозі 10 мг/кг о 8<sup>00</sup> щодня впродовж 14 днів сприяло нормалізації вмісту гідроген сульфїду, викликало виражену антиоксидантну дію, знижуючи вільнорадикальне окиснення та нормалізуючи активність ферментів антиоксидантного захисту в крові тварин.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Вплив гідроген сульфїду на систему гемостазу щурів / Н. В. Заїчко, Т. М. Платонова, Т. М. Чернишенко [та ін.] // Мед. перспективи. – 2010. – **15**, № 1. – С. 15–20.
2. Выдыборец С. В. Метод диагностики металлодефицитных состояний у доноров крови / С. В. Выдыборец // Лаб. диагностика. – 1999. – № 1. – С. 16–18.
3. Дубинина Е. Е. Окислительная модификация протеинов, ее роль при патологических состояниях / Е. Е. Дубинина, А. В. Пустигина // Укр. біохім. журн. – 2008. – **8**, № 6. – С. 5–17.
4. Камышников В. С. Справочник по клинико-химической лабораторной диагностике : в 3 т. / В. С. Камышников. – Мн. : Беларусь, 2002. – Т. 1. – 463 с.
5. Колориметрический метод определения SH-групп и -S-S- связей в белках при помощи 5/5/-диотиобис (2-нитробензойной кислоты) // Современные методы в биохимии. – М. : Медицина, 1977. – С. 223–231.
6. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
7. Мещишен І. Ф. Мелатонін: обмін та механізм дії / І. Ф. Мещишен, В. П. Пішак, І. І. Заморський // Бук. мед. вісн. – 2001. – **5**, № 2. – С. 4–11.
8. Мещишен І. Ф. Метод визначення окиснювальної модифікації білків плазми (сироватки) / І. Ф. Мещишен // Бук. мед. вісн. – 1998. – **2**, № 1. – С. 156–158.
9. Мясоедова О. А. Роль сероводорода в реализации физиологических функций организма / О. А. Мясоедова, В. И. Коржов // Журн. НАМН України. – 2011. – **17**, № 3. – С. 191–200.
10. Цвях О. О. Вплив стресу на стан прооксидантно-антиоксидантної системи шлунку щурів при нестачі та надлишку мелатоніну / О. О. Цвях // Вісник проблем біології і медицини. – 2013. – № 3. – С. 254–258.
11. Dombrowski A. Ryan Hydrogen sulfide as an endogenous regulator of vascular smooth muscle tone in trout / Ryan A. Dombkowski, Michael J. Russell, Kenneth R. Olson // J. Regul., Integr. and Compar. Phys. – 2004. – № 286. – P. 678–685.
12. Histopathological changes of the kidneys and liver in alloxan-induced diabetic mice treated with goutweed (*Aegopodium podagraria* L.) medicines / O. V. Tovchiga, V. O. Synytsia, S. Yu. Shtrygol', N. V. Besditko // Клін.фарм. – 2014. – Т. 18, № 2. – С. 22–28.
13. Shetti A. A. Antidiabetic effect of ethanolic leaf extract of *Phyllanthus amarus* in alloxan induced diabetic mice / A. A. Shetti, R. D. Sanakal, B. B. Kaliwal // Asian J. Plant Sci. Res. – 2012. – № 2. – P. 11–15.

**И. В. Геруш, Н. М. Лугинич**

БУКОВИНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ЧЕРНОВЦЫ

## ВЛИЯНИЕ 14-СУТОЧНОГО ВВЕДЕНИЯ МЕЛАТОНИНА НА СОСТОЯНИЕ ОКСИДАНТНОЙ И АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМ И СОДЕРЖАНИЕ ГИДРОГЕН СУЛЬФИДА В КРОВИ КРЫС ПРИ АЛЛОКСАНОВОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

### Резюме

Установлено, что аллоксановый диабет сопровождается увеличением содержания ТБК-активных продуктов и окислительно-модифицированных белков в крови на фоне снижения содержания гидроген сульфиды и роста активности каталазы и церулоплазмينا. Введение экзогенного мелатонина в течение 14 дней способствовало нормализации уровня базальной гликемии, содержания гидроген сульфиды и вызвало выраженный антиоксидантный эффект путем нормализации активности ферментов антиоксидантной защиты.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: сахарный диабет, мелатонин, аллоксан, гидроген сульфид, антиоксидантная система.

**I. V. Herush, N. M. Luhinich**

BUKOVYNA STATE MEDICAL UNIVERSITY, CHERNIVTSI

## INFLUENCE OF 14-DAYS INTRODUCTION OF MELATONIN ON THE STATE OF THE OXIDANT AND ANTIOXIDANT SYSTEMS AND ON THE CONTENT OF HYDROGEN SULFIDE IN THE BLOOD OF ALLOXAN DIABETIC RATS

### Summary

Research has established that alloxan diabetes is accompanied by increased content of TBA-reactive products and oxidatively modified proteins in the blood on the background of decrease in the content of hydrogen sulfide and increased activity of catalase and ceruloplasmin. 14 Days introduction of exogenous melatonin promotes normalization of basal glycemia level, the hydrogen sulfide content, caused the pronounced antioxidant effect and normalized antioxidant enzymes activity in the blood of rats.

KEY WORDS: diabetes mellitus, melatonin, alloxan, hydrogen sulfide, antioxidant system.

Отримано 10.07.14

Адреса для листування: І. В. Геруш, Буковинський державний медичний університет, Театральна площа, 2, Чернівці, 58002, Україна.