

УДК] 577.175:577.151:616.379 – 008.64] – 092.9

Яремій І.М., Кушнір О.Ю.

Вплив екзогенного мелатоніну на стан глутатіонової системи у яснах щурів із алоксановим діабетомВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці, Україна
alexcv18@qip.ru

Резюме. Вступ. Відомо, що мелатонін не лише здійснює в організмі людини контроль циркадіанних і сезонних біоритмів, але й сприяє підтриманню в організмі оксидантно-антиоксидантного гомеостазу та нормоглікемії.

Мета дослідження: з'ясувати вплив мелатоніну на вміст глутатіону відновленого (Г-SH) й активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г-6-ФДГ), глутатіонредуктази (ГР) та глутатіонпероксидази (ГП) в тканинах ясен щурів із алоксановим цукровим діабетом (ЦД).

Методи дослідження. Тварин було розділено на 5 груп: 1) контроль; 2) щурі з явним ЦД – рівень базальної глікемії (БГ) $\geq 8,0$ ммоль/л; 3) щурі з явним ЦД, яким починаючи з 5-ї доби після введення алоксану впродовж 14-ти днів щоденно о 8:00 пер ос вводили мелатонін з розрахунку 10 мг/кг маси; 4) щурі з латентним ЦД – рівень базальної глікемії (БГ) 6,9 ммоль/л; 3) щурі з латентним ЦД, яким аналогічно впродовж 14 днів вводили мелатонін.

Результати й обговорення. У тканинах ясен щурів із явним ЦД відзначалося зниження вмісту Г-SH (на 27%) та зростання активностей ГП, ГР і Г-6-ФДГ (на 34, 23 і 19% відповідно при порівнянні з інтактними щурами). Двотижневе щоденне введення щурам із явним ЦД мелатоніну з розрахунку 10 мг/кг сприяло нормалізуванню всіх досліджуваних нами показників глутатіонової системи та базальної глікемії.

Висновок: 1. При явному алоксановому ЦД у яснах щурів відбувається зниження вмісту глутатіону відновленого та порушення функціонування глутатіонової системи антиоксидантного захисту. 2. Екзогенний мелатонін сприяє зниженню рівня базальної глікемії та нормалізуванню показників глутатіонової системи в тканинах ясен щурів із явним ЦД.

Ключові слова: глутатіонова система, алоксановий діабет, ясна, мелатонін, щурі.

Дана робота є фрагментом НДР «Стрес-індуковані морфофункціональні та біохімічні зміни хроноперіодичної та гепаторенальної систем у свавців. № держреєстрації 0114U002472».

Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень. Мелатонін не лише здійснює в організмі людини контроль циркадіанних і сезонних біоритмів, але й сприяє підтриманню в організмі оксидантно-антиоксидантного гомеостазу та нормоглікемії [9].

Явний алоксановий цукровий діабет (ЦД) у щурів (рівень базальної глікемії $\geq 8,0$ ммоль/л), як відомо [6], супроводжується суттєвими порушеннями оксидантно-антиоксидантної рівноваги в організмі тварин, зокрема пригніченням функціонування глутатіонової ланки. Раніше нами було показано [10] позитивний вплив екзогенного мелатоніну на функціонування системи глутатіону в печінці та крові щурів при алоксановому ЦД, а також на активності піруваткінази й лактатдегідрогенази в печінці й яснах діабетичних щурів [4,8].

Загальновідомо, що при явному ЦД вміст глюкози зростає не лише у крові, але й у гінгівальній рідині, що зумовлює високу частоту захворювання на гінгівіт і пародонтоз серед хворих на інсулінозалежний ЦД [1,7]. Анти-прооксидантний індекс у яснах щурів за умов постійної темряви (підвищена функція епіфіза) менший, ніж за умов постійного освітлення («фізіологічної» пінеалекомії) [3,5].

Мета дослідження: з'ясувати вплив екзогенного мелатоніну на стан глутатіонової системи в тканинах ясен щурів із алоксановим ЦД.

Матеріал і методи дослідження

Експерименти проведені на 45 статевозрілих самцях безпородних білих щурів масою 0,18 - 0,20 кг. Алоксановий ЦД у щурів викликали шляхом уведення тваринам 5%-го розчину алоксану моногідрату внутрішньоочеревинно в дозі 170 мг/кг маси. Дослідних тварин було розділено на 5 груп: 1) контроль (інтакт-

ний); 2) щурі з ЦД – рівень базальної глікемії (БГ) $\geq 8,0$ ммоль/л; 3) щурі з ЦД, яким починаючи з 5-ї доби після введення алоксану впродовж 14-ти днів щоденно о 8⁰⁰ пер ос вводили мелатонін (Merk, Німеччина) з розрахунку 10 мг/кг маси; 4) щурі з латентним ЦД – рівень базальної глікемії (БГ) $\leq 6,9$ ммоль/л; 3) щурі з латентним ЦД, яким аналогічно впродовж 14 днів вводили мелатонін. Тварин забували шляхом декапітації з дотриманням норм «Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986). Тканини ясен одразу після декапітації забирали на холоді та готували гомогенат на охолодженому 50мМ Трис-НСІ-буфері (рН=7,4) [3]. Рівень БГ визначали за допомогою приладу One Touch Ultra Easy. Вміст глутатіону відновленого (Г-SH) й активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г-6-ФДГ), глутатіонредуктази (ГР) та глутатіонпероксидази (ГП) за раніше описаними методиками [2]. Статистичну обробку результатів дослідження проводили за Стьюдентом. Для визначення адекватного методу статистичної оцінки середньої різниці між групами дослідження проведена попередня перевірка розподілу величин у вибірках. Згідно критерію Shapiro-Wilk, який виривують з метою оцінки нормальності розподілу у вибірках об'ємом $n \leq 50$, для всіх вибірок не отримано даних про відхилення розподілу у вибірках від нормального ($p > 0,05$). Враховуючи наведені дані, застосування критерію Стьюдента вважали достатнім для отримання валідних висновків. Для підвищення надійності висновків паралельно використали непараметричний критерій порівняння Mann-Whitney (Манні-Вітні), який показав подібні результати до обрахунків за допомогою критерію Стьюдента щодо величини p . Достатнім рівнем вірогідності розбіжності вважали $p \leq 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення

У тканинах ясен існує потужна система антиоксидантного захисту [2]. Важливу роль у її функціонуванні відіграє Г-SH, ГП та ферменти, які беруть участь у регенерації Г-SH з окисненої форми (Г-6-ФДГ і ГР) [2].

У яснах щурів із латентним перебігом ЦД, які впродовж експерименту не отримували жодних засобів корекції, а також у щурів, яким вводили мелатонін, вірогідних змін щодо досліджуваних показників глутатіонової системи у тканинах ясен не виявлено (табл. 1). Рівень базальної глікемії у щурів, які на фоні латентного ЦД отримували мелатонін вірогідно не відрізнявся від показників інтактних щурів.

У тканинах ясен щурів із явним ЦД відзначалося (табл. 1) зниження вмісту Г-SH (на 27%) та зростання активностей ГП, ГР і Г-6-ФДГ (на 34, 23 і 19% відповідно при порівнянні з інтактними щурами). Зниження вмісту Г-SH в яснах при явному ЦД, імовірно, зумовлене як пригніченням його синтезу, так і посиленням його використання ГП для знешкодження пероксиду водню й інших гідропероксидів, що утворюються внаслідок посиленого вільнорадикального окиснення ліпідів і біополімерів у тканині ясен. Підвищення активностей ГР і Г-6-ФДГ при цьому, мабуть, є компенсаторною реакцією, направленою на відновлення в яснах вмісту Г-SH, адже Г-6-ФДГ є основним постачальником НАДФН для ГР.

Мелатонін, як відомо [11], стимулює утилізацію глюкози тканинами, сприяє збільшенню в тканинах концентрації АТФ, відновленню порушеного за умов ЦД оксидантно-антиоксидантного гомеостазу. Двотижневе щоденне введення щурам із явним ЦД мелатоніну з розрахунку 10 мг/кг сприяло зниженню вмісту базальної глікемії (на 50% порівняно з діабетичними щурами) та нормалізуванню всіх досліджуваних нами показників глутатіонової системи.

Висновки

1. При явному алоксановому ЦД (глікемія 8,0 ммоль/л) у

Таблиця 1. Вплив мелатоніну на окремі показники глутатионової системи у тканинах ясен діабетичних щурів ($x \pm Sx$, $n=6$)

Групи	Показники	Глюкозо-6-фосфат-дегідрогеназа, мкмоль/хв×мг	Глутатіон відновлений, од.опт.щ./мг білка	Глутатіон пероксид-даза, мкмоль/хв×мг	Глутатіон-редуктаза, мкмоль/хв×мг
Контроль		54,3±2,0	95,0±4,0	442±28	79,7±5,1
Явний цукровий діабет		64,3±3,1 ^a	69,3±4,1 ^a	592±30 ^a	98,2±6,2 ^a
Явний цукровий діабет + мелатонін		55,7±2,2 ^b	95,5±3,3 ^b	439±34 ^b	78,8±5,5 ^b
Латентний цукровий діабет		55,0±2,4 ^b	99,8±4,4 ^b	450±31 ^b	77,0±6,5 ^b
Латентний цукровий діабет + мелатонін		53,0±2,1 ^b	97,0±5,3 ^b	450,0±36 ^b	78,0±6,1 ^b

Примітка: 1. a, b, c - зміни вірогідні ($p \leq 0,05$). 2. a - стосовно контролю; b - стосовно явного цукрового діабету; c - стосовно латентного діабету

яснах щурів відбувається зниження вмісту глутатіону відновленого та порушення функціонування глутатионової системи антиоксидантного захисту.

2. Екзогенний мелатонін (10 мг/кг, per os, щоденно впродовж 14 днів) сприяє зниженню рівня базальної глікемії та нормалізуванню показників глутатионової системи в тканинах ясен щурів із явним ЦД.

Перспективи подальших досліджень: вивчити вплив екзогенного мелатоніну на оксидантно-антиоксидантний гомеостаз тканин ясен при цукровому діабеті за умов світлової депривації.

Література

- Колесова Н.А. Метаболічні та структурні особливості змін тканин ясен у дітей, що страждають на цукровий діабет / Н.А. Колесова, Л.О. Хоменко, К.О. Карачевська // Вісник стоматології. - 2004. - №1. - С.67 - 70.
- Симахов Р.В. Метаболические нарушения в мягких тканях пародонта крыс, подвергшихся воздействию повышенных доз селенита натрия, и их коррекция / Р.В. Симахов, А.Ф. Сулимов, В.Д. Конвай // Проблемы стоматологии. - 2014. - № 2. - С. 22 - 24.
- Ходоровський Г.І. Роль ретино-гіпоталамо-епіфізарної системи в про- і антиоксидантних процесах у тканинах ясен статевозрілих самців білих щурів / Г.І. Ходоровський, Р.Р. Дмитренко, О.В. Ясінська // Фізіол. журн. - 2013. - Т.59, №6. - С.57 - 62.
- Яремій І.М. Вплив екзогенного мелатоніну на активність піруваткінази та лактатдегідрогенази в яснах і крові алоксандіабетичних щурів / І.М. Яремій, О.Ю. Кушнір, Л.Г. Кузик // Медична хімія. - 2014. - Т.16, №4 (61). - С.70 - 72.
- Amelioration of diabetes-induced neurobehavioral and neurochemical changes by melatonin and nicotinamide: Implication of oxidative stress-PARP pathway / A. Jangra, A.K. Datusalia, S. Khandwe et al. // Pharmacology Biochemistry and Behavior. - 2013. - Vol.114 - 115. - P. 43 - 51.
- Effects of melatonin on the glutathione system in the blood of alloxan diabetic rats / Igor Gerush, Taras Boichuk, Iryna Yaremii, Olexandra Kushnir, Oleg Gerush // IUBMB-FEBS (03. 09. 2012 - 09. 09. 2012). - 2012. - Journal 279, Suppl. 1. - P. 88.
- Gumieniczek A. Nitrosative stress and glutathione redox system in four different tissues of alloxan-induced hyperglycemic animals / A.Gumieniczek, M. Wilk // Toxicology Mechanisms and Methods. - 2009. - Vol. 19, 1 4. - P. 302- 307.
- Kushnir A. Impact of melatonin on the activity of pyruvate kinase in the liver of alloxan - diabetic and tetrachlormethane intoxicated rats exposed to light deprivation / A. Kushnir, I. Yaremii, A. Malinevskaya // European Applied Sciences (ISSN 2195 - 2183). - 2014. - №2. - P. 35 - 37.
- Kushnir Olexandra The effect of Melatonin on antioxidant system during Diabetes Mellitus / Olexandra Kushnir, Iryna Yaremii // The journal of scientific articles "Health & education in millennium" - 2013. - tom 15, N [1-4]. -P. 40 - 43.
- Meshchyshe I. Hypoglycemic and antioxidant action of melatonin in alloxan action of melatonin in alloxan diabetic rats / I. Meshchyshe, O. Kushnir, I. Yaremii // Annales Universitatis Marie Curie Skladovska. -2010. -Vol. XXIII, N3 (31). - P. 227 - 230.
- Peschke E. Melatonin, endocrine pancreas and diabetes / E.

Peschke // Journal of Pineal Research. - 2008. - Vol. 44. - P. 26 - 40.

Яремій І.М., Кушнір А.Ю.

Влияние экзогенного мелатонина на состояние глутатионової системи в деснах крыс с алоксановым диабетом

ВГУЗ Украины «Буковинский государственный медицинский университет», г. Черновцы, Украина

alexvcv18@qip.ru

Резюме. Введение. Известно, что мелатонин не только осуществляет в организме человека контроль циркадианных и сезонных биоритмов, но и способствует поддержанию в организме оксидантно-антиоксидантного гомеостаза и нормогликемии.

Цель исследования: выяснить влияние мелатонина на содержание глутатиона восстановленного (Г-SH) и активности глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы (Г-6-ФДГ), глутатионредуктазы (ГР) и глутатионпероксидазы (ГП) в тканях десен крыс с алоксановым сахарным диабетом (СД).

Методы исследования. Животных разделили на 5 групп: 1) контроль; 2) крысы с явным СД - уровень базальной гликемии (БГ) $\geq 8,0$ ммоль / л; 3) крысы с явным СД, которым начиная с пятого дня после введения аллоксана в течении 14 дней ежедневно в 8^{00} per os вводили мелатонин из расчета 10 мг/кг массы; 4) крысы с латентным СД - уровень базальной гликемии (БГ) $\leq 6,9$ ммоль / л; 3) крысы с латентным СД, которым аналогично в течении 14 дней вводили мелатонин.

Результаты и обсуждение. В тканях десен крыс с явным СД отмечалось снижение содержания Г-SH (на 27%) и рост активностей ГП, ГР и Г-6-ФДГ (на 34, 23 и 19% соответственно при сравнении с интактными крысами). Двухнедельное ежедневное введение крысам с явным СД мелатонина из расчета 10 мг/кг способствовало нормализации всех исследуемых нами показателей глутатионової системы и базальной гликемии.

Вывод: 1. При явном алоксановом СД в деснах крыс происходит снижение содержания глутатиона восстановленного и нарушения функционирования глутатионової системы антиоксидантной защиты.

2. Экзогенный мелатонин способствует снижению уровня базальной гликемии и нормализации показателей глутатионової системы в тканях десны крыс с явным СД.

Ключевые слова: глутатионової система, аллоксановый диабет, десна, мелатонин, крысы.

Yaremii I.N., Kushnir O.Yu.

Influence of Exogenous Melatonin on Glutathione System in the Gums of Alloxan-Induced Diabetic Rats

Bukovinian State Medical University, Chernivtsi, Ukraine

alexvcv18@qip.ru

Abstract. Introduction. It is known that melatonin not only perform body control circadian and seasonal biorhythms, but also helps to maintain the body oxidant-antioxidant homeostasis and normoglycemia.

Objective: to determine the influence of melatonin on the content of reduced glutathione (G-SH) and activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-FDG), glutathione reductase (GR) and glutathione peroxidase (GP) in gingival tissues of rats with alloxan diabetes.

Methods. The animals were divided into 5 groups: 1) control; 2) diabetic rats with overt - the level of basal glucose (BG) $\geq 8,0$ mmol / l; 3) rats with overt diabetes, which since the fifth day after alloxan administration within 14 days daily at 8^{00} melatonin administered per os at 10 mg / kg; 4) rats with latent diabetes - a basal level of glucose (BG) $\leq 6,9$ mmol / l; 3) rats with latent diabetes, which similarly administered within 14 days melatonin.

Results and discussion. In the gum tissue of rats with diabetes was determined reduction of G-SH (27%) and increased activity of GP, GR and G-6-FDG (34%, 23% and 19% respectively compared with intact rats). Two week daily administration to rats with diabetes melatonin at 10 mg / kg contributed to the normalization of all parameters studied us glutathione system and basal glycemia.

Conclusion: 1. In gums of alloxan diabetes rats was a decrease of reduced glutathione content and dysfunction of glutathione antioxidant defense system. 2. Exogenous melatonin reduces basal glucose level and indices of glutathione system in the gum tissue of rats with diabetes.

Key words: glutathione system, alloxan diabetes, gum, melatonin, rats.

Надійшла 22.06.2015 року.