

LABA может быть рекомендован в качестве селективного гистохимического маркера сосудистого эндотелия надпочечника крысы.

Ключевые слова: надпочечная железа, крыса, экспериментальный гипотирозидизм, лектины.

Стаття надійшла 11.04.2012 р.

LABA can be recommended as selective histochemical marker of the rat adrenal gland vascular endothelium.

Key words: adrenal gland, rat, experimental hypothyroidism, lectins.

УДК 577.1

І.Ф. Мешинен, І.М. Яремій, О.Ю. Кушнір
Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

ВПЛИВ МЕЛАТОНІНУ НА ГЛІКОЗИЛЮВАННЯ ГЕМОГЛОБІНУ В КРОВІ ТА ФУНКЦІОНУВАННЯ ГЛУТАТІОНОВОЇ СИСТЕМИ В ПЕЧІНЦІ АЛОКСАНДІАБЕТИЧНИХ ЩУРІВ

В статті показано, що у алоксандіабетичних щурів з явним та латентним діабетом порівняно з контролем відбувалися зміни рівня базальної глікемії, глікозилюваного гемоглобіну (HbA_{1c}) - в крові; відновленого глутатіону (G-SH), активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, глутатіонредуктази, глутатіонпероксидази - в печінці. Уведення алоксандіабетичним щурам мелатоніну в дозі 10 мг/кг маси впродовж 6-ти тижнів сприяло нормалізації вищезазначених показників.

Ключові слова: мелатонін, алоксановий діабет, глутатіонова система, печінка, щури.

Алоксан впливає на експресію генів, викликає апоптоз, а також пригнічення глюкозостимульованої секреції інсуліну [3]. Він реагує із сульфгідрильними групами, тому порушує синтез інсуліну. За рахунок зв'язування SH-груп інактивуються тіолові ферменти, які беруть участь у синтезі інсуліну. Розвиток алоксанового діабету в тварин відбувається за участю активних форм кисню [5]. У присутності внутрішньоклітинних тіолів, особливо глутатіону, алоксан генерує активні радикали кисню в циклі редокс-реакцій [2].

Мелатонін, як відомо [7], є одним із ендогенних антиоксидантів. Припускають [8], що дефіцит цього гормону може спричинити порушення толерантності до глюкози.

Метою роботи було з'ясувати вплив мелатоніну на рівень базальної глікемії (БГ), глікозилюваного гемоглобіну (HbA_{1c}) у крові, відновленого глутатіону (G-SH), глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г-6-ФДГ), глутатіонредуктази (ГР), глутатіонпероксидази (ГП) в печінці щурів.

Матеріал та методи дослідження. Експерименти проведені в лютому-березні на 70 статевозрілих самцях безпородних білих щурів масою 0,18 - 0,20 кг. Алоксановий діабет, викликали шляхом введення щурам 5%-го розчину алоксану моногідрату внутрішньоочеревинно в дозі 170 мг/кг одноразово, після 24-годинного голодування. Кров для дослідження відбирали з хвостової вени. Визначення рівня БГ проводили за допомогою приладу One Touch Ultra Easy (виробник "Johnson & Johnson", США). На третю (критичну) добу спостерігалась загибель $\approx 50\%$ алоксандіабетичних щурів. Дослідних тварин було розділено на шість груп: 1) контрольна група; 2) щури з явним ЦД; 3) щури з явним ЦД, які починаючи з 5-ої доби після введення алоксану отримували ін'єкції інсуліну (Фармасулін Н НР, виробник ВАР "Фармак", Україна) з розрахунку, що 1 ОД інсуліну утилізує 2 ммоль/л глюкози; 4) щури з явним ЦД, яким починаючи з 5-ої доби після введення алоксану впродовж 6-ти тижнів щоденно о 8 годині ранку внутрішньоочеревинно вводили мелатонін (виробник "Sigma", США) в дозі 10 мг/кг маси; 5) щури з латентним ЦД; 6) щури з латентним ЦД, яким аналогічно впродовж 6-ти тижнів вводили мелатонін. Дослідних тварин забивали шляхом декапітації на 47-му 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 активності ферментів за стандартними методиками [1].

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 вистовують 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 розбіжностей вважали $p \leq 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення. Згідно отриманих результатів (табл. 1), у частини щурів введення алоксану моногідрату викликало різке зростання рівня БГ натще (на 111% порівняно з показниками контрольної групи тварин); такі тварини сформували групу щурів із явним ЦД ($BG \geq 8,0$ ммоль/л). У решти алоксандіабетичних тварин рівень БГ не відрізнявся від показників інтактних щурів ($BG \leq 6,9$ ммоль/л); таких тварин було об'єднано в групу алоксандіабетичних щурів із латентним ЦД. Уведення мелатоніну впродовж 6-ти тижнів сприяло нормалізуванню рівня БГ в групі тварин із явним ЦД та зниженню рівня БГ (на 37%

порівняно з контролем) у тварин із латентним ЦД, що вказує на гіпоглікемізувальну дію останнього. Вміст HbA_{1c} у крові щурів з явним і латентним ЦД перевищував на 221 і 122% відповідно порівняно з показниками контрольної групи тварин. Уведення мелатоніну впродовж 6-ти тижнів сприяло зниженню вмісту HbA_{1c} у крові щурів з явним ЦД на 45% порівняно з показниками тварин, яким не вводили засобів корекції (проте даний показник залишався вірогідно вищим на 77% від показників контролю). В групі тварин з латентним перебігом ЦД, яким вводили мелатонін, вміст HbA_{1c} повністю нормалізувався.

Таблиця 1

Відповідність вмісту глікозильованого гемоглобіну рівню глюкози в капілярній крові ($x \pm sx$, $n=6$)

Показники Групи	Рівень глюкози на 4-ту добу (до введення засобів корекції), ммоль/л	На 47-му добу після введення алоксану	
		Рівень глюкози, ммоль/л	HbA_{1c} , %
Контроль	5,4±0,38	5,4±0,42	5,0±0,63
Явний цукровий діабет	11,4±2,03 ^a	14,6±2,83 ^a	16,2±1,21 ^a
Явний цукровий діабет + інсулін	12,1±2,32 ^a	5,5±0,65 ^{b,d}	6,9±1,62 ^b
Явний цукровий діабет + мелатонін, 10 мг/кг	12,0±0,76 ^a	5,6±1,34 ^{b,d}	8,2±1,16 ^{a,b}
Латентний цукровий діабет	5,4±0,15 ^b	5,8±0,46 ^b	11,1±0,62 ^{a,b}
Латентний цукровий діабет + мелатонін, 10 мг/кг	5,2±0,44 ^b	3,8±0,41 ^{a,b,c,d}	6,1±0,19 ^{b,c}

Примітка: 1. a, b, c, d - зміни вірогідні ($p \leq 0,05$). 2. a - стосовно контролю; b - стосовно явного цукрового діабету; c - стосовно латентного цукрового діабету; d - в межах групи стосовно 4-ї доби.

Таблиця 2

Вплив мелатоніну на показники глутатіонової системи печінки алоксандіабетичних щурів ($x \pm Sx$, $n=6$)

Показники Групи	Глюкозо-6-фосфат- дегідрогеназа, нмоль / хв×мг	Глутатіон-редуктаза, нмоль/хв×мг	Глутатіон відновлений, мкмоль/г тканини	Глутатіон пероксидаза, нмоль/хв×мг
Контроль	6,6±0,18	4,5±0,32	7,1±0,42	152,8±12,4
Явний цукровий діабет	3,5±0,48 ^a	3,6±0,22 ^a	4,4±0,18 ^a	118,2±9,0 ^a
Явний цукровий діабет + інсулін	6,8±0,25 ^b	4,2±0,65 ^b	6,8±0,45 ^b	148,5±10,1 ^b
Явний цукровий діабет + мелатонін	6,6±0,55 ^b	4,7±0,72 ^b	6,6±0,40 ^b	147,2±9,34 ^b
Латентний цукровий діабет	12,0±0,52 ^{a,b}	5,5±0,30 ^{a,b}	8,7±0,52 ^{a,b}	192,0±12,1 ^{a,b}
Латентний цукровий діабет + мелатонін	7,4±0,16 ^{b,c}	4,5±0,26 ^{b,c}	6,9±0,40 ^{b,c}	148,0±9,0 ^{b,c}

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

У печінці щурів (див. табл. 2) з явним ЦД уміст G-SH знизився (на 40%), у той час як у тварин з латентним ЦД спостерігалось зростання даного показника на 20% порівняно з показниками контролю, що узгоджується із літературними даними [4,6]. Зниження вмісту G-SH у щурів із явним ЦД, найімовірніше, зумовлене посиленням його використання для знешкодження в тканинах надлишку активних форм кисню та пригнічення процесу регенерації його з окисненої форми: активності Г-6-ФДГ та НАДФН-залежної ГР – ферментів, що приймають безпосередню участь у цьому процесі – були на 35 та 32% відповідно нижчими, ніж у контрольних щурів. Не виключено також, що за умов формування алоксанового ЦД, у тканинах щурів, зокрема у печінці, пригнічується біосинтез глутатіону. Активність ГП, яка використовує глутатіон відновлений для знешкодження пероксиду водню й інших гідропероксидів, при цьому була на 22% нижчою, ніж в контрольних щурів.

Підвищення вмісту G – SH (на 22% порівняно з показниками контролю) у щурів з латентним ЦД ймовірно відбувається за рахунок його посиленої регенерації з окисненої форми: у печінці щурів даної групи активності Г-6-ФДГ та НАДФН-залежної ГР були вірогідно на 25% та 21% відповідно вищими ніж в контрольних тварин. Окрім того у тварин даної групи відбувалося зростання активності ГП на 19% порівняно з контрольними тваринами. Це є цілком логічним, адже саме гіперглікемія, а не алоксан, призводить до зниження функціонування глутатіонової системи антиоксидантного захисту. Позитивний ефект від замісної інсулінотерапії, ймовірно, опосередкований нормалізацією рівня БГ, що призвело до припинення токсичної дії гіперглікемії та подальшого ушкодження бета-клітин.

Уведення алоксандіабетичним тваринам обох груп мелатоніну сприяло нормалізуванню всіх досліджуваних показників печінки щурів. Отже, екзогенний мелатонін активує знижену за умов явного ЦД Г-6-ФДГ та НАДФН-ГР, що в кінцевому рахунку забезпечує підвищення в тканинах умісту G-SH – одного з основних ендогенних антиоксидантів.

Надумок

Таким чином, введення мелатоніну впродовж шести тижнів алоксандіабетичним щурам сприяє зниженню в останніх рівня базальної глікемії та HbA_{1c} , а також – стабілізації, порушених в умовах абсолютного дефіциту інсуліну, показників системи антиоксидантного захисту організму.

Перспективи подальших досліджень у даному напрямку. Використання мелатоніну в щурів з експериментальним діабетом першого типу може бути теоретичною основою для аргументації використання даного препарату як засобу патогенетичної корекції функціональної спроможності глутатионової системи антиоксидантного захисту при захворюваннях печінки та підшлункової залози.

Література

1. Бабич Н. О. Влияние тироксина на активность некоторых ферментов энергетического обмена в миелидных клетках костного мозга и нейтрофилах крови поросят / Н. О. Бабич, Г. Л. Антомяк, М. Ф. Тымочко // Вопросы медицинской химии. - 2000. - № 2. - Режим доступа до журн. : <http://medi.ru/pbmc/8800209.htm>
2. Мерецький В. М. Порушення ліпідного та вуглеводного обміну і методи їх корекції при експериментальному цукровому діабеті / В. М. Мерецький // Медична хімія. - 2007. - Т. 9, № 3. - С. 83 - 86.
3. 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.
4. Радченко О. М. Глікозилований гемоглобін – метаболічний маркер пошкодження / О. М. Радченко // Проблеми ендокринної патології. - 2008. - № 1. - 104 - 107.
5. Скрипник Н. В. Рівні адипонектину та резистину у хворих на цукровий діабет 2 типу з метаболічним синдромом / Н. В. Скрипник // Ендокринологія. - 2008. - Т. 13. - № 2. - С. 234 - 241.
6. Шумейко А. Г. Защитный эффект экстракта из мидии черноморской (*Mytilus galloprovincialis lam.*) при моделировании алоксанового диабета у крыс / А. Г. Шумейко // Проблеми ендокринної патології. - 2008. - № 3. - С. 49 - 54.
7. Elmar Peschke Melatonin, endocrine pancreas and diabetes / Elmar Peschke // Journal of Pineal Research. - 2008. - № 44. - P. 26 - 40.
8. The insulin-melatonin antagonism: studies in the LEW.1AR1-iddm rat (an animal model of human type 1 diabetes mellitus) / E. Peschke, K. Hofmann, I. Bähr et al. // Diabetologia. - 2011. - V. 54, № 7. - P. 1831 - 1840.

Реферати

ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА НА ГЛИКОЗИЛИРОВАНИЕ ГЕМОГЛОБИНА В КРОВИ И ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ГЛУТАТИОНОВОЙ СИСТЕМЫ В ПЕЧЕНИ АЛОКСАНДИАБЕТИЧЕСКИХ КРЫС

Мещиш И.Ф., Яремий И.М., Кушнир О.Ю.

В статье показано, что у алоксандиабетических крыс с явным и латентным сахарным диабетом в сравнении с контролем происходили изменения уровня базальной гликемии, гликозилированного гемоглобина (HbA_{1c}) - в крови; восстановленного глутатиона (G-SH), активностей глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, глутатионредуктазы, глутатионпероксидазы - в печени. Введение алоксандиабетическим крысам мелатонина в дозе 10 мг/кг на протяжении 6-ти недель способствовало нормализации показателей.

Ключевые слова: мелатонин, алоксановый диабет, глутатионовая система, печень, крысы.

Стаття надійшла 3.04.2012 р.

THE EFFECT OF MELATONIN ON GLYCOSYLATION OF HEMOGLOBIN IN THE BLOOD AND FUNCTIONING OF THE GLUTATHIONE SYSTEM IN THE LIVER OF ALLOXAN DIABETIC RATS

Meshchyshe I.F., Yaremii I.M., Kushnir O.Yu.

The paper demonstrates that in alloxan diabetic rats with occult and overt diabetes, compared with the control value, took place changes the level of basal glycemia, glycosylated hemoglobin (HbA_{1c}), - in the blood; reduced glutathione (G-SH), activity of glucose-6-phosphatdehydrogenase, glutathioneperoxydase and glutathionereductase - in the liver. A 6-week injection of melatonin in a dose of 10 mg/kg to the alloxan diabetic rats was conducive to a normalization of the indices in the group of animals with occult and overt diabetes.

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

УДК 611.8:611.018.86

Г.М. Мосенця

Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника, м. Івано-Франківськ

СТРУКТУРНІ ТА ЕЛЕКТРОНЕЙРОМІОГРАФІЧНІ ЗМІНИ СКЕЛЕТНОГО М'ЯЗУ ПРИ ЗАГАЛЬНІЙ ДЕГІДРАТАЦІЇ

В експерименті на білих безпородних щурах вивчені електронейроміографічні та морфологічні зміни периферійного нервового апарату в різні терміни після моделювання сублетальної терморобочої дегідратації. Встановлено, що дегідратація проявляється закономірною динамікою гісто-ультраструктурних змін в нервово-м'язових закінченнях скелетних м'язів і підтверджується статистично вірогідними змінами всіх проаналізованих електронейроміографічних показників.

Ключові слова: нервово-м'язові закінчення, дегідратація, електронейроміографія.

Робота є частиною науково-дослідної теми кафедри анатомії та фізіології людини і тварин Прикарпатського національного університету “Морфофункціональні зміни нервово-м'язового апарату при загальній дегідратації організму” (номер держреєстрації 0111U007026).

Діагностика патоморфологічних змін в м'язовій тканині при дегідратації представляє собою досить складне і трудомістке завдання [1,4,7]. На сучасному етапі розвитку медико-біологічних досліджень вона базується на комплексному застосуванні морфологічних і фізіологічних методів [2,5,7]. У цьому напрямку