

УДК 616.379-008.64:615.015

ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА НА ПОКАЗАТЕЛИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА И ЭЛЕМЕНТНОГО ДИСБАЛАНСА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

Эльбекьян К.С., Муравьева А.Б., Пажитнева Е.В.

ГБОУ ВПО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ставрополь, e-mail: Muraveva.Anya@yandex.ru

Полученные результаты свидетельствуют об эффективности использования мелатонина для коррекции системы антиоксидантной защиты при экспериментальном сахарном диабете и микроэлементного статуса. В экспериментах на животных оценена эффективность терапевтического применения мелатонина при экспериментальном сахарном диабете на состояние про- и антиоксидантной системы организма и в соотношении макро- и микроэлементов. Согласно полученным данным, мелаксен снижает интенсивность перекисного окисления липидов и активирует антиоксидантную защиту в виде повышения активности супероксиддисмутазы и каталазы. Проведенные исследования показали, что у мышей с сахарным диабетом имеют место нарушения различной степени в содержании микро- и макроэлементов. Нарушение биоэлементного обмена неблагоприятно отражаются на течении и исходе сахарного диабета, поэтому целесообразно включать в комплексное исследование больных одновременно определение кальция, натрия, калия, магния, железа, цинка и меди с последующей их коррекцией.

Ключевые слова: мелатонин, диабет, антиоксидантные системы организма, макро-микроэлементы

EFFECT OF MELATONIN ON OXIDATIVE STRESS AND INDICATORS OF THE ELEMENT OF BALANCE IN EXPERIMENTAL DIABETES

Elbekyan K.S., Myraveva A.B., Pazhitneva E.V.

Stavropol State Medical University, Stavropol, e-mail: Muraveva.Anya@yandex.ru

The obtained results prove the efficiency of the use of melatonin for correction of the antioxidant defense system in experimental diabetes mellitus and microelement status. In experiments on animals evaluate the effectiveness of the therapeutic use of melatonin in experimental diabetes mellitus on the state of Pro – and antioxidant system of the organism and in the ratio of macro – and microelements. According to the obtained data, melaxen reduces the intensity of lipid peroxidation and activates antioxidant protection in the form of increasing the activity of superoxide dismutase and catalase. Studies have shown that mice with diabetes are, violations of varying degrees in the content of micro and macroelements. Violation bioelementного, exchange adversely reflected on the course and outcome of diabetes, so it is advisable to include in a comprehensive study of patients simultaneously determination of calcium, sodium, potassium, magnesium, iron, zinc, copper and their subsequent correction.

Keywords: melatonin, diabetes, antioxidant systems of the body, macro-microminerals

Согласно современным представлениям, основным и объективным признаком сахарного диабета (СД) считается наличие хронической гипергликемии, причинами которой является окислительный стресс, развивающийся как следствие повышенного аутоокисления глюкозы при одновременном снижении активности антиоксидантной системы.

При нормальных условиях беспредельному увеличению количества свободных радикалов и продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) препятствуют системы естественных антиоксидантов, способных ингибировать свободнорадикальное окисление липидов. В организме одним из основных показателей гомеостаза является сохранение равновесия между скоростью ПОЛ и активностью антиоксидантной систем.

Нарушению гомеостаза могут способствовать и изменения в обмене микроэлементов, которые являются ценными участниками обменных процессов как в норме, так и при патологии. Однако, как показывают факты, элементный дисбаланс не просто со-

провождает, но может и провоцировать развитие различных заболеваний, переводить заболевания в хроническую форму. Кроме того, изменить фармакокинетический ответ на лекарственное воздействие [2].

За последние годы в медицинской науке резко возрос интерес к изучению лечебных возможностей уникального индоламина – мелатонина (МТ). В настоящее время экспериментально обоснованы его универсальные терапевтические свойства в борьбе со многими заболеваниями. В круг его терапевтических возможностей входят разного рода возрастные патологии, органические поражения головного мозга, сердечно-сосудистые расстройства, заболевания ротовой полости и пр. [1]. В основе столь разнообразных форм патологии лежит формирование чрезмерного окислительного стресса. Однако, как показывает литературный анализ, МТ обладает выраженным антиоксидантным, антиоксидантным, антистрессорным действием.

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния мелаксена (синте-

ческий аналог мелатонина) на показатели окислительного стресса и элементного дисбаланса при аллоксан-индуцированном сахарном диабете.

Материалы и методы исследования

Эксперименты были проведены на лабораторных мышках, у которых путем однократного подкожного введения аллоксана тетрагидрата в дозе 150 мг/кг был вызван аллоксановый диабет. Экспериментальных животных ($n = 40$) делили на 4 группы: первая группа – интактные животные, вторая – мыши, получавшие ежедневно в течение 14 дней мелаксен (0,1 мг/кг), третья группа – мыши с аллоксановым диабетом, четвертая – животные, получавшие мелаксен на фоне аллоксана.

На 15 сутки наблюдений животных декапитировали, забирали кровь для определения состояния про- и антиоксидантной системы и содержание макро- и микроэлементов.

Состояние антиоксидантной системы оценивали по активности ферментов супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы (КАТ) в сыворотке крови, а выраженность окислительного стресса – по концентрации малонового диальдегида (МДА) [4, 5, 6]. Содержание макро-(Na, K, Ca) и микро-(Zn, Fe, Cu) элементов определяли атомно-абсорбционным способом [3]. Статистическую обработку полученных результатов проводили параметрическим методом с использованием t -критерия Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение

Данные об активности ферментов, обеспечивающих антиоксидантную защиту организма (СОД и КАТ) и показателя интенсивности свободнорадикального окисления (МДА) представлены в табл. 1.

Таблица 1

Показатели влияния мелаксена на выраженность ПОЛ и активности ферментов антиоксидантной защиты у животных с аллоксановым сахарным диабетом

Животные ($n = 10$)	Активность СОД, ед. изм	Активность КАТ, мкат/л	МДА, нмоль/мл	Глюкоза, ммоль/л
Интактные	2,55 ± 0,16	225,6 ± 2,1	3,72 ± 0,16	4,05 ± 0,39
Мелаксен	2,35 ± 0,09	227,2 ± 2,8	2,3 ± 0,21*	5,27 ± 0,30
С аллоксановым диабетом (контроль)	1,45 ± 0,04*	345,3 ± 3,3*	8,2 ± 0,41*	6,92 ± 0,88*
Аллоксан. диабет+ мелаксен	2,88 ± 0,10**	219,5 ± 2,8**	3,2 ± 0,13**	3,66 ± 1,05**

Примечания: * – $p < 0,05$. – достоверность различий при сравнении показателей опытных групп с интактными. ** $p < 0,05$ – достоверность различий при сравнении показателей опытных групп с контролем.

Согласно полученным данным, мелаксен снижает интенсивность перекисного окисления ПОЛ, что выражается в снижении содержания МДА до $2,3 \pm 0,21$ нмоль/мл в сравнении с величинами интактных животных $3,72 \pm 0,16$ нмоль/мл ($p < 0,05$). Активность СОД оказалась на 7,8% ниже, чем у интактных мышей, однако эта разница была статистически недостоверной. Содержание КАТ оставалось неизменным.

Изучение в данной группе состояния микро- и макроэлементного статуса выявило, что мелаксен вызывает сдвиги в содержании изучаемых элементов, но и здесь заметных сдвигов не было обнаружено.

Во второй серии экспериментов у животных вызывали аллоксановый диабет. На 10-е сутки после однократного введения аллоксана наблюдалась выраженная гипергликемия (табл.1), что свидетельствовало о развитии СД. Содержание МДА в сыворотке крови у этих животных оказалось на 120% выше, чем у интактных ($3,72 \pm 0,16$ нмоль/мл в контроле), что указывало на активацию перекисного окисления липидов (ПОЛ). Активность СОД составляло $1,45 \pm 0,04$ ед.,

что на 43% меньше, чем у интактных, а количество Кат больше на 53%. Иными словами, развивался окислительный стресс, который привел к нарушению равновесия про- и антиоксидантного баланса.

Биохимические исследования элементного статуса также демонстрировали заметные сдвиги. Так, было установлено, что на 10-е сутки после введения аллоксана у животных снижалось содержание натрия (на 9,5%) и калия (на 37%). Концентрация кальция в крови у мышей с аллоксановым диабетом увеличивалась до $5,23 \pm 0,06$ ммоль/л (у интактных животных $1,85 \pm 0,06$). При этом величина калий-кальциевого коэффициента уменьшилась до 0,37, в то время как у интактных животных данный коэффициент составлял 1,6 (табл. 2).

При изучении содержания меди, железа и цинка в крови животных с аллоксановым диабетом было зарегистрировано снижение уровня меди до $8,34 \pm 0,31$ мкмоль/л (в контроле $9,07 \pm 0,152$ мкмоль/л $p < 0,01$), железа до $31,86 \pm 2,65$ мкмоль/л (при $41,39 \pm 0,432$ мкмоль/л в контрольной группе, $p < 0,01$) и цинка до $21,56 \pm 0,34$ мкмоль/л.

Таблица 2

Содержание микро- и макроэлементов в сыворотке крови у мышей с аллоксан-индуцированным сахарным диабетом

	Натрий, ммоль/л	Калий, ммоль/л	Кальций, моль/л	Цинк, мкмоль/л	Железо, мкмоль/л	Медь, мкмоль/л
Интактные	188,49 ± 1,27	3,049 ± 0,16	1,85 ± 0,06	25,49 ± 1,61	42,74 ± 0,43	9,07 ± 0,10
Мелатонин	182,43 ± 1,27	2,95 ± 0,16	1,71 ± 0,064*	24,58 ± 1,61	41,39 ± 0,43	9,07 ± 0,15
Аллоксан	170,87 ± 7,03*	1,94 ± 0,11*	5,24 ± 0,06*	16,27 ± 0,88*	31,86 ± 2,65*	8,34 ± 0,31*
Аллоксан+ мелатонин	156,38 ± 5,58*	2,28 ± 0,14*	5,85 ± 0,23*	21,56 ± 0,34*	53,58 ± 1,90*	8,85 ± 0,59*

Примечание: * – $p < 0,01$.

Для коррекции избыточного процесса ПОЛ и нарушений антиоксидантной системы мышам с экспериментальным СД вводили мелаксен. Введение препарата сопровождалось снижением концентрации МДА на 60%. На фоне введения адаптогена улучшилась и активность ферментов антиоксидантной защиты. Активность СОД практически восстановилась до уровня контроля. Содержание каталазы в сыворотке крови мышей демонстрировало тенденцию к снижению, но оставалось достоверно выше значений, характерных для контрольных животных.

Полученные результаты свидетельствуют об эффективности использования мелатонина для коррекции системы антиоксидантной защиты в экспериментальном сахарном диабете и соотношения между эссенциальными макро- и микроэлементами.

Результаты наших исследований подтверждают существование у мелатонина защитных, антиоксидантных, антидиабетических свойств. С приведёнными сведениями совпадают результаты исследований *in vitro*. Например, в островковом аппарате Лангерганса мышей с аллоксановым диабетом неизменно отмечались тяжёлые дегенеративные изменения. Если же таким животным предварительно вводили МТ (ежедневно по 0,15 мг/кг в течение 2 недель), то число и ультраструктура выделенных у них бета-клеток не отличались от аналогичных морфологических характеристик у нормальных и, что особенно показательное, – у старых мышей. С другой стороны, у эпифизэктомированных крыс показано снижение плотности островков и гибель их клеточных элементов [8, 12]. Добавление МТ в инкубационную среду, содержащую культуру гепатоцитов, полученных от мышей с алиментарным диабетом, увеличивало в них синтез гликогенов через повышение фосфорилирования при участии протеинкиназы, и такое действие устранял антагонист МТ лузиндол [14]. Интересно, что МТ облегчал также приживление пересаженного островкового аппарата поджелудочной железы мышам с диабетом [10].

Результаты пока немногочисленных исследований на людях в принципе совпа-

дают с экспериментальными находками и подтверждают вероятность существования у МТ защитных, антидиабетических свойств. В развитии метаболического синдрома, ассоциированного с диабетом 2 типа и сердечно-сосудистыми расстройствами, как известно, ключевую роль играет резистентность к инсулину. Судя по наблюдениям за больными, страдающими такой патологией, у них зачастую расстраивается нормальное соотношение между содержанием в плазме крови МТ и инсулина, что позволяет авторам подозревать участие эпифизарной недостаточности в патогенезе метаболического синдрома [13]. При назначении пожилым пациентам с инсулиннезависимым диабетом на протяжении месяца МТ (по 5 мг ежедневно) продемонстрировано улучшение их клинического состояния при одновременном ослаблении проявлений оксидантного стресса в виде повышения активности эритроцитарной супероксиддисмутазы и снижения уровня малонового диальдегида [9].

Участие МТ в контроле за метаболизмом углеводов и его вклад в происхождение сахарного диабета реализуется, очевидно, несколькими путями, но главную роль, по всей вероятности, следует отнести прямому вмешательству в функцию клеточных элементов островков Лангерганса поджелудочной железы. И осуществляется такое воздействие посредством специфических МТ рецепторов 1 и 2 типа, идентифицированных на поверхности мембран бета- и альфа-клеток как грызунов, так и человека. При этом в первых клетках найдена экспрессия мРНК рецепторов МТ2, а во вторых – МТ1 рецепторов [11].

Проведённые нами исследования микроэлементного статуса животных с аллоксан-индуцированным сахарным диабетом показали также заметные нарушения в содержании макро- и микроэлементов. Снижение содержания цинка, меди и железа, возможно, объясняются целым рядом интересных функциональных и морфологических связей. Так, например, цинк играет существенную роль при синтезе, накоплении и освобождении инсулина в клетках поджелудочной железы [7]. Инсулин нака-

пливается в поджелудочной железе в форме комплекса «цинк-инсулин», в котором содержится прибл. 0,5% цинка. В исследованиях *in vitro* цинк повышает связывание инсулина с мембраной клетки, тормозит липолиз и повышает липогенез; далее повышается перенос глюкозы, а также окисление в адипоцитах. У крыс с дефицитом цинка активность фермента карбоксипептидазы, которая преобразует проинсулин в инсулин, снижается вдвое при одновременном компенсаторном увеличении активности трипсина на 100%. Это объясняется тем, что ионы цинка, с одной стороны, повышают растворимость проинсулина, с другой, снижают растворимость инсулина, то есть осаждение и кристаллизация инсулина зависимы от цинка [7]. К одному из важных факторов развития диабета и его сосудистых осложнений, как ранее говорилось, относится развитие окислительного стресса. Учитывая, что медь является кофактором фермента супероксиддисмутазы, а избыток железа в организме может играть роль промотора перекисного окисления липидов и способствовать развитию окислительного стресса [2], то следует отметить, что нарушения обмена МЭ не всегда являются первичными и ведущими, но они могут быть существенными для диагностики и лечения. Поскольку выявляемые даже незначительные нарушения их метаболизма позволяют обеспечить своевременную донозологическую диагностику заболеваний и контролировать эффективность лечения [2], то подкомитет ООН по здравоохранению и медицинской технике рекомендует контроль содержания в организме человека, по крайней мере, таких элементов, как Na, K, Mg, Ca, Fe, Zn, Cu, Co, Se, Ni.

Список литературы

1. Арушанян Э.Б. Ограничение окислительного стресса как основная причина универсальных защитных свойств мелатонина // Эксп и клин фарм. – 2012. – т. 75, № 5. – С. 44–49.
2. Гуревич К.Г. Нарушения обмена микроэлементов и их коррекция // Фарматека. – 2001. – № 3. – С. 45–53.
3. Кирсанов А.И., Долгодворов А.Ф., Леонтьев В.Г. // Клин. лабор. диагностика. – 2001. – № 3. – С. 16–20.
4. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова, В.Е. Токарев // Лаб. Дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
5. Стальная И.Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных жирных кислот // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1997. – С. 63–64.
6. Чевари С., Чаба И., Секкей Й. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения её в биологических материалах // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.
7. Emdin S.O., Dodson G.G., Cutfield J.M., Cutfield S.M. Role of zinc in insulin biosynthesis. Some possible zinc-insulin interactions in the pancreatic B-cell / Diabetologia. – 1980. – Vol. 19, № 3. – P. 174–182.
8. Kasradze D., Tavartkiladze A., Kasradze M. The study of melatonin protective activity on pancreatic beta-cells under the condition of alloxan-induced diabetes during aging. Georgian Med. News 2010; 189: 56–63.
9. Kedziora-Kornatowska, Szewczyk-Golec K., Kozakiewicz M. et al. Melatonin improves oxidative stress parameters measured in the blood of elderly type 2 diabetic patients. J. Pineal Res. 2009; 46: 333–337.

10. Lin G.J., Huang S.H., Hueng D.J. et al. Melatonin prolongs islet graft survival in diabetic NOD mice. J. Pineal Res. 2009; 47: 284–292.
11. Nagorny C.L., Sathanoori R., Voss U. et al. Distribution of melatonin receptors in murine pancreatic islets. J. Pineal Res. 2011; 50: 412–417.
12. Picinato M.C., Hirata A.E., Cipolla-Neto J. et al. Activation of insulin and IGF-1 signaling pathways by melatonin through MT1 receptor in isolated rat pancreatic islets. J. Pineal Res. 2008; 44: 88–94.
13. Robeva R., Kiriliv G., Tomova A. Melatonin-insulin interactions in patients with metabolic syndrome. J. Pineal Res. 2008; 44: 52–56.
14. Shieh J.M., Wu H.T., Cheng K.C. Melatonin ameliorates high fat diet-induced diabetes and stimulates glycogen synthesis via a PKCzeta-Akt-Gsk3-beta pathway in hepatic cells. J. Pineal Res. 2009; 47: 339–344.
15. Sullivan J.L. Iron and the sex difference in heart disease risk // Lancet. – 1981. – Vol. 1, № 3. – P. 1293–1294.

References

1. Arushanyan E.B., Restriction of oxidative stress as the main cause of universal protective properties of melatonin. Experimental and clinical pharmacology. 2012, T.75, no. 5, pp. 44–49.
2. Gurevich K.G., Metabolism of trace elements and their correction. Farmateka. 2001, no. 3, pp. 45–53.
3. Kirsanov A.I., Dolgodvorov A.F., Leontyev B.G., Wedge. laboratory diagnostics. 2001, no. 3, pp. 16–20.
4. Korolyuk M.A., Ivanovo L.I., Mayorov I.G., Tokarev V.E. Method for determination of catalase activity. Lab. Case. 1988. no. 1, pp. 16–19.
5. Stalnaya I.D., The method of determining the process of diene conjugation of unsaturated fatty acids. Modern methods in biochemistry. M: Medicine. 1997. pp. 63–64.
6. Chevary S., Chaba I., Sekkey Y. The role of superoxide dismutase in oxidizing processes, the cells and the method of its in biological materials. Lab. case. 1985, no. 11, pp. 678–681.
7. Emdin S.O., Dodson G.G., Cutfield J.M., Cutfield S.M. Role of zinc in insulin biosynthesis. Some possible zinc-insulin interactions in the pancreatic B-cell. Diabetologia. 1980. Vol. 19, no. 3, pp. 174–182.
8. Kasradze D., Tavartkiladze A., Kasradze M. The study of melatonin protective activity on pancreatic beta-cells under the condition of alloxan-induced diabetes during aging. Georgian Med. News 2010; 189: 56–63.
9. Kedziora-Kornatowska, Szewczyk-Golec K., Kozakiewicz M. et al. Melatonin improves oxidative stress parameters measured in the blood of elderly type 2 diabetic patients. J. Pineal Res. 2009; 46: 333–337.
10. Lin G.J., Huang S.H., Hueng D.J. et al. Melatonin prolongs islet graft survival in diabetic NOD mice. J. Pineal Res. 2009; 47: 284–292.
11. Nagorny C.L., Sathanoori R., Voss U. et al. Distribution of melatonin receptors in murine pancreatic islets. J. Pineal Res. 2011; 50: 412–417.
12. Picinato M.C., Hirata A.E., Cipolla-Neto J. et al. Activation of insulin and IGF-1 signaling pathways by melatonin through MT1 receptor in isolated rat pancreatic islets. J. Pineal Res. 2008; 44: 88–94.
13. Robeva R., Kiriliv G., Tomova A. Melatonin-insulin interactions in patients with metabolic syndrome. J. Pineal Res. 2008; 44: 52–56.
14. Shieh J.M., Wu H.T., Cheng K.C. Melatonin ameliorates high fat diet-induced diabetes and stimulates glycogen synthesis via a PKCzeta-Akt-Gsk3-beta pathway in hepatic cells. J. Pineal Res. 2009; 47: 339–344.
15. Sullivan J.L. Iron and the sex difference in heart disease risk. Lancet. 1981. Vol. 1, no. 3, pp. 1293–1294.

Рецензенты:

Бейер Э.В., д.м.н., профессор кафедры фармакологии Ставропольского государственного медицинского университета, г. Ставрополь;

Алиева Е.В., д.м.н., заведующая лабораторией МУЗ «Детская клиническая поликлиника № 3», г. Ставрополь.

Работа поступила в редакцию 01.08.2013.