

О. І. Белікова¹, В. С. Черно¹, В. О. Костенко²

Поєднаний вплив мелатоніну та метформіну гідрохлориду на біохімічні маркери синдрому інсулінорезистентності за умов експериментального гіпопінеалізму

¹Миколаївський національний університет імені В. О. Сухомлинського²Вищий державний навчальний заклад України

«Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

Ключові слова: синдром інсулінорезистентності, гіпопінеалізм, мелатонін, метформіну гідрохлорид

Синдром інсулінорезистентності (ІР) або метаболічний синдром розглядається як доклінічна стадія розвитку цукрового діабету 2 типу та ішемічної хвороби серця. Згідно з сучасними уявленнями про розвиток цієї патології, порушення обміну ліпідів, ліпопротеїнів та вуглеводів, артеріальна гіпертензія, системна запальна відповідь та окисний стрес, що є компонентами цього синдрому, мають комплексний характер і загальний патогенез [1]. Останніми роками отримала підтвердження точка зору, що молекулярною основою всіх проявів синдрому ІР може бути перманентна активація ядерного чинника κВ (NF-κB) [2, 3]. Було доведено ефективність корекції головних компонентів синдрому ІР у разі застосування інгібіторів активації NF-κB [4].

Нещодавно виявлено, що важливим фактором розвитку ІР є десинхроноз, пов'язаний з дизрегуляцією супрахіазматичного ядра гіпоталамуса з подальшим зниженням пінеальної секреції мелатоніну (особливо за порушення світлового режиму) [5]. За цих умов під час світлової фази в клітинах епіфіза постійно збільшується кількість вільних димерів NF-κB, у той час як у темряві має місце зворотна реакція [6]. На цій підставі можна припустити зв'язок гіпомелатонінемії та надмірної активації NF-κB.

Повідомляється про високий ризик розвитку ІР та інших проявів цього син-

дрому в осіб, які за характером своєї діяльності часто змінюють місце перебування, наприклад, у працівників локомотивних бригад [7]. Окрім того, гіпопінеалізм, індукований тривалим цілодобовим освітленням, викликає розвиток ознак синдрому ІР в експерименті на тваринах. Наприклад, за цих умов у кролів виявляється інтолерантність до глюкози, артеріальна гіпертензія, гіперінсулінемія та дисліпідемія [8].

Мелатонін як ендогенний, так і екзогенний протидіє розвитку ІР, коригує обмін речовин, забезпечує баланс секреції інсуліну, дезактивує активні форми кисню й азоту, у тому числі утворені внаслідок метаболізму атерогенних фракцій ліпопротеїнів [5, 9]. Останнім часом з'являються повідомлення про ефективність мелатоніну в разі застосування цього гормону в хворих з синдромом ІР [5].

Примітно, що пригнічення NF-κB-сигналізації може сприяти збільшенню як пінеальної, так і екстрапінеальної продукції мелатоніну [10].

Показана синергічна дія мелатоніну та засобів, що пригнічують активацію NF-κB. Так, поєднане введення мелатоніну та бортезомібу, що гальмує дію NF-κB шляхом інгібування протеасоми 26S, підвищує апоптоз злоякісних клітин, зменшує їхню резистентність до дії антинеопластичного засобу та його токсичність [11].

Нещодавно доведено здатність відомого протидіабетичного лікарського засобу групи похідних бігуанідів – метформіну (1,1-диметилбігуанід гідрохлориду) пригнічувати активацію NF-κB шляхом гальмування процесів

фосфорилування ІкВ-кінази та деградації інгібіторного білка ІкВа [12].

Проте ефективність поєднаного застосування мелатоніну та інгібітора NF-κB за відтворення синдрому IP раніше не досліджувалася.

Мета дослідження – оцінка поєднаної дії екзогенного мелатоніну та метформіну гідрохлориду на вуглеводний і ліпідний обмін, а також на вільнорадикальні процеси в організмі щурів у разі відтворення вуглеводно-ліпідної моделі синдрому IP за умов гіпопінеалізму, індукованого цілодобовим освітленням.

Матеріали та методи. Дослідження були проведені на 35 білих щурах лінії Вістар масою 215–255 г у 5 серіях дослідів: у першій серії необхідні показники вивчали в інтактних тварин (контрольна), у другій – після моделювання синдрому IP за умов експериментального гіпопінеалізму, у третій і четвертій – протягом останніх 30 діб експерименту вводили відповідно екзогенний мелатонін та метформін гідрохлорид, у п'ятій – наведені сполуки застосовували разом. Тварин декапітували під ефірним наркозом.

Для моделювання синдрому IP щурам протягом 2 місяців призначали висококалорійну вуглеводно-ліпідну дієту (ВЛД), що складається з 20 % водного розчину фруктози для пиття та раціону харчування, який містить наступні складові: рафіновану пшеничну муку – 45 %, сухе знежирене коров'яче молоко – 20 %, крохмаль – 10 %, столовий маргарин (з вмістом жирів 72–82 %) – 20 %, переокиснену соняшникову олію – 4 %, натрію хлорид – 1 % [4]. Крім того, тварин, починаючи з 30 доби експерименту, піддавали цілодобовому освітленню інтенсивністю 1500 лк протягом наступних 30 днів.

Слід зазначити, що щури, як нірні тварини, характеризуються дещо іншим, ніж у людини, біоритмом секреції епіфізом мелатоніну, що обмежує їхнє використання в хронофармакологічних дослідженнях. Проте цілодобове освітлення моделює гіпопінеалізм без суттєвих добових коливань вмісту мелатоніну в крові, що робить відтворення цієї моделі в щурів адекватним

для вивчення метаболічних процесів за умов гіпомелатонінемії [13].

Мелатонін (виробництво «Sigma-Aldrich, Inc.», США) вводили у вигляді водного розчину інтрагастрально за допомогою спеціального зонда в дозі 0,3 мг/кг маси тіла на 1 добу щоденно [13] протягом останніх 30 діб експерименту. Субстанцію метформіну гідрохлориду (виробництво «Wanbury Limited», Індія) застосовували в дозі 200 мг/кг маси тварини щоденно [14], починаючи з 30 доби експерименту.

Концентрацію мелатоніну, інсуліну та фактора некрозу пухлини-α (TNF-α) у сироватці крові визначали імуноферментним методом з використанням наборів Rat Melatonin ELISA Kit (Wuhan EIAab Sci CO., Китай), Rat Insulin ELISA Kit (MyBioSource, США), Rat TNF ELISA Kit (MyBioSource, США). Концентрацію глюкози, загального холестеролу (ХС), триацилгліцеролів (ТАГ) та ХС ліпопротеїнів високої щільності (ХС-HDL) визначали за допомогою набору реактивів фірми «Філісіт-Діагностика». Уміст ХС ліпопротеїнів низької та дуже низької щільності (ХС-LDL і ХС-VLDL) розраховували за формулою Фридвальда: $ХС-LDL = \text{Загальний ХС} - (ХС-HDL + \text{ТАГ}/2,2)$; $ХС-VLDL = \text{ТАГ}/2,2$. Індекс інсулінорезистентності HOMA-IR (Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance) розраховували за формулою: $HOMA-IR = \text{глюкоза натще (ммоль/л)} \cdot \text{інсулін натще (мкОд/мл)}/22,5$. Концентрацію церулоплазміну в сироватці крові визначали за методом, що базується на окисненні п-фенілендіаміну [15].

Рівень переокисного окиснення ліпідів (ПОЛ) у крові оцінювали за утворенням у реакції тіобарбітурової кислоти (ТБК) з ТБК-активними продуктами забарвленого триметинового комплексу до і після 1,5-год інкубації. Активність антиоксидантної (АО) системи оцінювали за приростом концентрації ТБК-активних сполук протягом 1,5-год інкубації в залізоаскорбатному буферному розчині, а також за активністю АО ферментів – супероксиддисмутази (СОД) і каталази [15].

Отримані дані піддавали статистичній обробці. Для перевірки розподілу

на нормальність було застосовано розрахунок критерію Шапіро-Вілка. Якщо дані відповідали нормальному розподілу, то для їхнього порівняння використовували *t*-критерій Стьюдента для незалежних вибірок. У випадку, коли ряди даних не підлягали нормальному розподілу, статистичну обробку здійснювали, використовуючи непараметричний метод – тест Мана-Вітні. Для множинного порівняння застосовували поправку Бонфероні, а в разі розподілу, який відрізняється від нормального, – критерій Краскела-Уоліса. Статистичні розрахунки проводили з використанням програм «Microsoft Excel 2007» та «StatisticSoft 6,0».

Результати та їх обговорення. За даними дослідження, концентрація мелатоніну в сироватці крові інтактних щурів становить $(31,8 \pm 2,5)$ пг/мл. Цілодобове освітлення щурів інтенсивністю 1500 лк протягом перебування їх на вуглеводно-ліпідному раціоні змен-

шує вміст мелатоніну в сироватці крові до $(7,1 \pm 0,7)$ пг/мл, що на 77,7 % ($p < 0,001$) поступається даним інтактної серії та вказує на розвиток експериментального гіпопінеалізму.

Поєднане застосування мелатоніну та метформіну гідрохлориду на тлі гіпомелатонінемії та ВЛД суттєво зменшує концентрацію глюкози в сироватці крові (табл. 1), яка на 53,0 % ($p < 0,001$) поступається даним другої та на 38,6 % ($p < 0,001$) – третьої серій.

Концентрація інсуліну в сироватці крові суттєво зменшується та на 64,6 % ($p < 0,001$) поступається даним другої серії, на 57,0 % ($p < 0,001$) – третьої, на 33,8 % ($p < 0,01$) – четвертої.

Індекс НОМА-ІR знижується до $(0,24 \pm 0,06)$, що на 83,6 % ($p < 0,001$) поступається даним другої серії та на 74,5 % ($p < 0,01$) – третьої.

Позитивний вплив мелатоніну підтверджено при відтворенні в експериментах на гризунах за різних моделей

Таблиця 1

Показники вуглеводного та ліпідного обміну за умов відтворення синдрому інсулінорезистентності та гіпопінеалізму, а також поєднаної дії мелатоніну та метформіну гідрохлориду (M + m, n = 35)

Показник	Інтактні тварини	Модель синдрому інсулінорезистентності та гіпопінеалізму			
		Контроль	+ мелатонін	+ метформіну гідрохлорид	+ мелатонін + метформіну гідрохлорид
Глюкоза, ммоль/л	$4,71 \pm 0,23$	$6,89 \pm 0,25^*$	$5,28 \pm 0,26^{**}$	$3,29 \pm 0,23^{**/**}$	$3,24 \pm 0,23^{**/**/**}$
Інсулін, мкОд/мл	$1,51 \pm 0,26$	$5,42 \pm 0,25^*$	$4,47 \pm 0,41^*$	$2,90 \pm 0,20^{**/**}$	$1,92 \pm 0,20^{**/**/**/**}$
НОМА-ІR	$0,27 \pm 0,06$	$1,46 \pm 0,27^*$	$0,94 \pm 0,19^*$	$0,37 \pm 0,08^{**}$	$0,24 \pm 0,06^{**/**}$
Загальний ХС, ммоль/л	$1,95 \pm 0,25$	$2,16 \pm 0,24$	$2,06 \pm 0,19$	$2,02 \pm 0,24$	$2,25 \pm 0,25$
ХС-HDL, ммоль/л	$0,61 \pm 0,04$	$0,24 \pm 0,04^*$	$0,35 \pm 0,05^*$	$0,43 \pm 0,03^{**/**}$	$0,58 \pm 0,03^{**/**/**/**}$
ХС-LDL, ммоль/л	$1,04 \pm 0,23$	$0,98 \pm 0,20$	$1,07 \pm 0,22$	$0,99 \pm 0,28$	$1,30 \pm 0,25$
ХС-VLDL, ммоль/л	$0,30 \pm 0,03$	$0,94 \pm 0,04^*$	$0,64 \pm 0,06^{**/**}$	$0,60 \pm 0,05^{**/**}$	$0,37 \pm 0,03^{**/**/**/**}$
ТАГ, ммоль/л	$0,67 \pm 0,06$	$2,08 \pm 0,09^*$	$1,40 \pm 0,14^{**/**}$	$1,32 \pm 0,12^{**/**}$	$0,82 \pm 0,06^{**/**/**/**}$

Примітка. Тут і в табл. 2–3: * $p < 0,05$ порівняно з даними першої серії (інтактні тварини); ** $p < 0,05$ порівняно з даними другої серії; *** $p < 0,05$ порівняно з даними третьої серії; **** $p < 0,05$ порівняно з даними четвертої серії.

синдрому IP (щури лінії Zucker, надлишкове введення фруктози та стрептозотоцину), коли спостерігалось зменшення рівня глікемії натще, глікозилюваного гемоглобіну (HbA1c), ліпідів, лептину, інсуліну та індексу HOMA-IR [16, 17]. Автори пов'язують ці ефекти зі стимулюючою дією мелатоніну на секрецію глікогену за рахунок фосфорилування синтази кінази 3β (GSK- 3β) у клітинах печінки та зв'язування з MT1-рецепторами α -клітин підшлункової залози.

Метаболічна дія метформіну гідрохлориду тісно пов'язана з його здатністю пригнічувати активацію NF- κ B [4]. У цьому разі зменшується NF- κ B-залежний синтез прозапальних цитокінів і пов'язане з ними фосфорилування за серином субстрату інсулінового рецептора-1 (IRS-1). Це усуває важливий механізм формування IP – порушення передачі інсулінового сигналу [2].

За нашими даними, поєднане застосування мелатоніну потенціює здатність метформіну гідрохлориду зменшувати гіперінсулінемію.

Поєднане застосування мелатоніну та метформіну гідрохлориду за умов експерименту суттєво не впливає на концентрацію загального ХС та ХС-LDL.

За цих умов нормалізується вміст ХС-HDL, який у 2,41 разу ($p < 0,001$) перевищує результат другої серії, на 65,7 % ($p < 0,01$) – третьої та на 34,9 % ($p < 0,01$) – четвертої.

Концентрація ХС-VLDL і ТАГ зменшується та поступається, відповідно, на 60,6 % ($p < 0,001$) і 60,6 % ($p < 0,001$)

даним другої серії, на 42,2 % ($p < 0,01$) і 41,4 % ($p < 0,01$) – третьої та на 38,3 % ($p < 0,01$) і 37,9 % ($p < 0,01$) – четвертої серії.

Раніше було виявлено, що мелатонін здатний пригнічувати стрес-індукований ліполіз, знижувати за цих умов вміст загального ХС, ТАГ і неестерифікованих жирних кислот, підвищувати ХС-HDL [5]. В експерименті на діабетичних щурах лінії OLETF (Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty) показано, що введення мелатоніну суттєво зменшує гіпертріацилгліцеролемію та відновлює печінкову $\Delta 5$ -десатуразу [18].

Відомою є й здатність метформіну гідрохлориду за умов експериментального метаболічного синдрому обмежувати прояви дисліпопротеїнемії та гіпертріацилгліцеролемії, характерних й для інших інгібіторів NF- κ B-сигналізації [4].

Проте нами показано, що мелатонін потенціює коригуючий вплив метформіну гідрохлориду за умов експерименту на рівень дисліпопротеїнемії, зокрема, гіпо- α -ліпопротеїнемії та гіпертріацилгліцеролемії.

Поєднане застосування мелатоніну та метформіну гідрохлориду на тлі гіпомелатонінемії та ВЛД зменшує концентрацію прозапального цитокіну TNF- α (табл. 2), яка на 67,0 % ($p < 0,001$) поступається результату другої та на 43,3 % ($p < 0,02$) – третьої серії.

Уміст білка гострої фази запалення – церулоплазміну в сироватці крові достовірно не відрізняється від даних серій з застосуванням мелатоніну та метформіну.

Таблиця 2

Показники системної запальної відповіді за умов відтворення синдрому інсулінорезистентності та гіпопінеалізму, а також поєднаної дії мелатоніну та метформіну гідрохлориду (M + m, n = 35)

Показник	Інтактні тварини	Модель синдрому інсулінорезистентності та гіпопінеалізму			
		Контроль	+ мелатонін	+ метформіну гідрохлорид	+ мелатонін + метформіну гідрохлорид
TNF- α , пг/мл	33,3 \pm 2,3	107,5 \pm 6,5*	62,6 \pm 9,3**/***	46,0 \pm 4,6**/***	35,5 \pm 2,1**/****
Церулоплазмін, мг/л	270,0 \pm 21,1	403,6 \pm 17,3*	290,6 \pm 33,1**	285,1 \pm 30,0**	271,4 \pm 31,9**

Дослідження *in vitro* вказують на необхідність створення більш високої концентрації мелатоніну для пригнічення окиснення ХС-LDL, ніж фізіологічний уміст цього гормону [19]. Проте, на нашу думку, ефективність дії цього гормона можна підвищити введенням інгібіторів NF-κB, оскільки це дозволяє зменшити рівень окисної модифікації ліпопротеїдів [20].

Так, за нашими даними, поєднане застосування мелатоніну та метформіну гідрохлориду за умов експерименту зменшує концентрацію ТБК-активних сполук (табл. 3), яка на 39,9 % ($p < 0,001$) поступається результату другої серії, на 23,6 % ($p < 0,001$) – третьої та на 17,0 % ($p < 0,01$) – четвертої.

Проте приріст концентрації ТБК-активних сполук протягом 1,5-год інкубації достовірно не відрізняється від даних серій з застосуванням мелатоніну та метформіну окремо.

За цих умов активність SOD суттєво не змінюється порівняно з даними серій з застосуванням мелатоніну та метформіну окремо. Проте активність каталази збільшується та в 2,28 разу ($p < 0,001$) перевищує результат другої серії, на 75,0 % ($p < 0,001$) – третьої та на 41,7 % ($p < 0,01$) – четвертої серії.

Отримані результати вказують, що введення мелатоніну на тлі пригнічен-

ня NF-κB зменшує ознаки окисного стресу, пов'язаного з експресією низки NF-κB-залежних генів (індуцибельної NOS – iNOS, інтерлейкінів 1β, -6, -12, -18, TNF-α, -β) [21].

У той самий час пригнічення NF-κB може мати негативні наслідки, зокрема, зменшення синтезу та активності підконтрольних антиоксидантів (наприклад, супероксиддисмутази) [22], що може коригуватися введенням мелатоніну [23].

Таким чином, поєднане введення мелатоніну та метформіну гідрохлориду за умов відтворення синдрому IP та гіпопінеалізму не тільки коригує гіпомелатонінемію, але й потенціює низку метаболічних ефектів метформіну, спрямованих на корекцію гіперінсулінемії, порушень ліпідного обміну (дисліпопротеїнемії, гіпо-α-ліпопротеїнемії, гіпертріацилгліцеролемії), перекисного окиснення ліпідів. Пригнічення активації NF-κB дозволяє уникнути зменшення власне пінеальної секреції мелатоніну [6] та необхідності підвищення дози екзогенного гормону, оскільки тривале введення мелатоніну може супроводжуватися збільшенням в організмі щурів первинних і вторинних продуктів ПОЛ [13]. У той самий час мелатонін як антиоксидантна сполука може компенсувати порушення утилізації

Таблиця 3

Показники прооксидантно-антиоксидантного стану в крові щурів за умов відтворення синдрому інсулінорезистентності та гіпопінеалізму, а також поєднаної дії мелатоніну та метформіну гідрохлориду (M + m, n = 35)

Показник	Інтактні тварини	Модель синдрому інсулінорезистентності та гіпопінеалізму			
		Контроль	+ мелатонін	+ метформіну гідрохлорид	+ мелатонін + метформіну гідрохлорид
ТБК- активні сполуки, мкмоль/л	12,23 ± 0,82	22,63 ± 0,61*	17,79 ± 0,64*/**	16,38 ± 0,76*/**	13,60 ± 0,41**/**/****
Приріст ТБК- активних сполук протягом інкубації, мкмоль/л	13,43 ± 2,17	25,34 ± 2,25*	18,2 ± 1,63**	17,75 ± 2,15**	16,11 ± 2,06**
SOD, од. акт.	2,13 ± 0,10	1,19 ± 0,09*	1,72 ± 0,18**	1,63 ± 0,25	1,77 ± 0,12*/**
Каталаза, од. акт.	1,87 ± 0,16	1,04 ± 0,09 *	1,36 ± 0,09*/**	1,68 ± 0,14**	2,38 ± 0,12**/**/****

супероксидного аніон-радикала в разі зменшення синтезу супероксиддисмутази, гени якої контролюються NF-κB [22], за введення інгібітора активації цього транскрипційного чинника.

Висновки

1. Поєднане застосування мелатоніну та метформіну гідрохлориду за відтворення вуглеводно-ліпідної моделі синдрому ІР та гіпопінеалізму, індукованого цілодобовим освітленням, у більшому ступені зменшує прояви гіперінсулінемії, дисліпопротеїнемії, гіпо-α-ліпопротеїнемії та гіпертріацилгліцеролемії та концентрацію

головного маркера системної запальної відповіді – фактора некрозу пухлини-α, ніж застосування цих сполук окремо.

2. Поєднане застосування мелатоніну та метформіну гідрохлориду за відтворення вуглеводно-ліпідної моделі синдрому ІР та гіпопінеалізму, індукованого цілодобовим освітленням, у більшому ступені зменшує концентрацію вторинних продуктів перекисного окиснення ліпідів – ТБК-активних сполук, а також збільшує активність каталази, ніж це відбувається в разі застосування цих сполук окремо.

1. Загайко А. Л. Метаболічний синдром: механізми розвитку та перспективи антиоксидантної терапії / А. Л. Загайко, Л. М. Вороніна, К. В. Стрельченко. – Харків : Вид-во «Золоті сторінки», 2007. – 216 с.
2. Кайдашев І. П. Активация NF-κB при метаболічному синдромі / І. П. Кайдашев // Фізіологічний журнал. – 2012. – Т. 58, № 1. – С. 93–101.
3. NF-κB-dependent airway inflammation triggers systemic insulin resistance / T. J. Cyphert, R. T. Morris, L. M. House [et al.] // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. – 2015. – V. 309, № 9. – P. R1144–R1152.
4. Талаш В. В. Вплив інгібіторів активації ядерного фактора κB на метаболізм і гемокоагуляцію за умов відтворення метаболічного синдрому / В. В. Талаш, В. О. Костенко // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2015. – № 2. – С. 83–89.
5. Мелатонин и инсулинорезистентность / С. И. Рапорт, А. Ю. Молчанов, В. А. Голиченков [и др.] // Клиническая медицина. – 2013. – № 11. – С. 8–14.
6. Daily variation of constitutively activated nuclear factor kappa b (NFκB) in rat pineal gland / E. Cecon, P. A. Fernandes, L. [et al.] // Chronobiol. Int. – 2010. – V. 27, № 1. – P. 52–67.
7. Инсулинорезистентность и эндотелиальная дисфункция при метаболіческом синдроме / А. А. Куршаков, Р. Г. Сайфутдинов, Л. И. Анчикова [и др.] // Казанский медицинский журнал. – 2011. – Т. 92, № 2. – С. 173–176.
8. Кузьмина И. А. Динамика изменений липидного спектра крови в условиях экспериментального гипопінеализма / И. А. Кузьмина, Л. А. Бондаренко // Проблемы эндокринной патологии. – 2006. – № 4. – С. 49–55.
9. Cardinali D. P. Melatonin, mitochondria, and the metabolic syndrome / D. P. Cardinali, D. E. Vigo // Cell. Mol. Life Sci. – 2017. – Aug 17. – doi: 10.1007/s00018-017-2611-0.
10. Markus R. P. Immune-pineal axis: nuclear factor κB (NF-κB) mediates the shift in the melatonin source from pinealocytes to immune competent cells / R. P. Markus, E. Cecon, M. A. Pires-Lapa // Int. J. Mol. Sci. – 2013. – V. 14, № 6. – P. 10979–10997.
11. Vriend J. Melatonin as a proteasome inhibitor. Is there any clinical evidence? / V. Vriend, R. J. Reiter // Life Sci. – 2014. – V. 115, № 1–2. – P. 8–14.
12. Metformin inhibits TNF-α-induced I kappa B kinase phosphorylation, I kappa B alpha degradation and IL-6 production in endothelial cells through PI3-dependent AMPK phosphorylation / Y. L. Huang, S. H. Chiang, C. H. Hsueh [et al.] // Int. J. Cardiol. – 2009. – V. 134, № 2. – P. 169–175.
13. Вплив мелатоніну та цілодобового освітлення на прооксидантно-антиоксидантний баланс у щурів / О. М. Ларичева, С. В. Семенчук, О. О. Цвях [та ін.] // Науковий вісник Миколаївського держ. ун-ту ім. В. О. Сухомлинського : зб. наук. праць. – 2014. – Вип. 6.2 (107). – С. 40–45. – [Сер. «Біологічні науки»].
14. The effect of metformin on the myocardial tolerance to ischemia-reperfusion injury in the rat model of diabetes mellitus type II / E. Kravchuk, E. Grineva, A. Bairamov [et al.] // Exp. Diabetes Res. – 2011. – doi: 10.1155/2011/907496.
15. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині / Л. В. Беркало, О. В. Бобович, Н. О. Боброва [та ін.] ; за ред. І. П. Кайдашева. – Полтава, 2003. – 320 с.
16. Мелатонин при сахарном диабете: от патофизиологии к перспективам лечения / В. И. Коненков, В. В. Климентов, С. В. Мичурина [и др.] // Сахарный диабет. – 2013. – № 2. – С. 11–16

17. Amin A. H. Melatonin ameliorates metabolic risk factors, modulates apoptotic proteins, and protects the rat heart against diabetes-induced apoptosis / A. H. Amin, M. A. El-Missiry, A. I. Othman // Eur. J. Pharmacol. – 2015. – V. 747. – P. 166–173.
18. Long-term melatonin administration reduces hyperinsulinemia and improves the altered fatty-acid compositions in type 2 diabetic rats via the restoration of Delta-5 desaturase activity / S. Nishida, T. Segawa, I. Murai, S. Nakagawa // J. Pineal. Res. – 2002. – V. 32, № 1. – P. 26–33.
19. Daily melatonin supplementation in mice increases atherosclerosis in proximal aorta / A. Tailleux, G. Torpier, D. Bonnefont-Rousselot [et al.] // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2002. – V. 293, № 3. – P. 1114–1123.
20. Morgan M. J. Crosstalk of reactive oxygen species and NF- κ B signaling / M. J. Morgan, Z.-G. Liu // Cell Res. – 2011. – V. 21, № 1. – P. 103–115.
21. The nuclear factor kappa B signaling pathway: integrating metabolism with inflammation / L. Tornatore, A. K. Thotakura, J. Bennett [et al.] // Trends Cell Biol. – 2012. – V. 22, № 11. – P. 557–566.
22. Extracellular superoxide dismutase is upregulated with inducible nitric oxide synthase after NF- κ B activation / T. C. Brady, L. Y. Chang, B. J. Day [et al.] // Am. J. Physiol. – 1997. – V. 273, № 5 (Pt 1). – P. L1002–L1006.
23. Antioxidative role of melatonin in organophosphate toxicity in rats / M. E. Buyukokuroglu, M. Cemek, Y. Yurumez [et al.] // Cell Biol. Toxicol. – 2008. – V. 24, № 2. – P. 151–158.

О. І. Белікова, В. С. Черно, В. О. Костенко

Поєднаний вплив мелатоніну та метформіну гідрохлориду на біохімічні маркери синдрому інсулінорезистентності за умов експериментального гіпопінеалізму

Мета дослідження – оцінка поєднаної дії екзогенного мелатоніну та метформіну гідрохлориду на вуглеводний і ліпідний обмін, а також вільнорадикальні процеси в організмі щурів у разі відтворення вуглеводно-ліпідної моделі синдрому інсулінорезистентності (IP) за умов гіпопінеалізму, індукованого цілодобовим освітленням.

Дослідження проведені на 35 білих щурах лінії Вістар масою 215–255 г у 5 серіях дослідів: у першій серії необхідні показники вивчали в інтактних тварин (контрольна), у другій – після моделювання синдрому IP за умов експериментального гіпопінеалізму (висококалорійна вуглеводно-ліпідна дієта протягом 60 діб та цілодобове освітлення інтенсивністю 1500 лк протягом останніх 30 днів досліду), у третій і четвертій – протягом останніх 30 діб експерименту вводили, відповідно, екзогенний мелатонін (у дозі 0,3 мг/кг маси тіла на 1 добу) та метформіну гідрохлорид (у дозі 200 мг/кг маси тварини), у п'ятій – наведені сполуки застосовували разом.

Поєднане застосування мелатоніну та метформіну гідрохлориду за умов експерименту суттєво зменшує концентрацію глюкози в сироватці крові, яка на 53,0 % ($p < 0,001$) поступається даним другої та на 38,6 % ($p < 0,001$) – результату третьої серії. Концентрація інсуліну в сироватці крові суттєво зменшується та на 64,6 % ($p < 0,001$) поступається даним другої серії, на 57,0 % ($p < 0,001$) – третьої, на 33,8 % ($p < 0,01$) – четвертої серії. Індекс НОМА-IR знижується до $(0,24 \pm 0,06)$, що на 83,6 % ($p < 0,001$) поступається даним другої серії та на 74,5 % ($p < 0,01$) – третьої.

За цих умов нормалізується вміст холестеролу ліпопротеїнів високої щільності, який у 2,41 разу ($p < 0,001$) перевищує результат другої серії, на 65,7 % ($p < 0,01$) – третьої та на 34,9 % ($p < 0,01$) – четвертої серії.

Концентрація холестеролу ліпопротеїнів дуже низької щільності та триацилгліцеролів зменшується та поступається відповідно на 60,6 % ($p < 0,001$) і 60,6 % ($p < 0,001$) даним другої серії, на 42,2 % ($p < 0,01$) і 41,4 % ($p < 0,01$) – третьої та на 38,3 % ($p < 0,01$) і 37,9 % ($p < 0,01$) – четвертої серії.

Поєднане застосування мелатоніну та метформіну гідрохлориду за умов експерименту зменшує концентрацію фактора некрозу пухлини - α , яка на 67,0 % ($p < 0,001$) поступається результату другої серії та на 43,3 % ($p < 0,02$) – третьої серії.

Водночас зменшується концентрація ТБК-активних сполук, яка на 39,9 % ($p < 0,001$) поступається результату другої серії, на 23,6 % ($p < 0,001$) – третьої, та на 17,0 % ($p < 0,01$) – четвертої серії. Активність супероксиддисмутази суттєво не змінюється порівняно з даними серій з окремим застосуванням мелатоніну та метформіну. Проте активність каталази збільшується та в 2,28 разу ($p < 0,001$) перевищує результат другої серії, на 75,0 % ($p < 0,001$) – третьої та на 41,7 % ($p < 0,01$) – четвертої серії.

Таким чином, поєднане застосування мелатоніну та метформіну гідрохлориду за відтворення синдрому IP та гіпопінеалізму у більшому ступені зменшує прояви гіперінсулінемії, дисліпопротеїнемії, гіпо- α -ліпопротеїнемії, гіпертриацилгліцеролемії, системної запальної відповіді та окисного стресу, ніж введення цих сполук окремо.

Ключові слова: синдром інсулінорезистентності, гіпопінеалізм, мелатонін, метформіну гідрохлорид

Е. И. Беликова, В. С. Черно, В. А. Костенко

Сочетанное влияние мелатонина и метформина гидрохлорида на биохимические маркеры синдрома инсулинорезистентности при экспериментальном гипопинеализме

Цель исследования – оценка сочетанного действия экзогенного мелатонина и метформина гидрохлорида на углеводный и липидный обмен, а также свободнорадикальные процессы в организме при воспроизведении углеводно-липидной модели синдрома инсулинорезистентности (ИР) в условиях гипопинеализма, индуцированного круглосуточным освещением.

Исследования были проведены на 35 белых крысах линии Вистар массой 215–255 г в 5 сериях опытов: в первой необходимые показатели изучали у интактных животных (контрольная серия), во второй – после моделирования синдрома ИР в условиях экспериментального гипопинеализма (высококалорийная углеводно-липидная диета в течение 60 суток и круглосуточное освещение интенсивностью 1500 лк в течение последних 30 дней опыта), в третьей и четвертой – в течение последних 30 дней эксперимента вводили, соответственно, экзогенный мелатонин (в дозе 0,3 мг/кг массы тела в сутки) и метформина гидрохлорид (в дозе 200 мг/кг массы животного), в пятой – указанные соединения применяли вместе.

Сочетанное применение мелатонина и метформина гидрохлорида в условиях эксперимента существенно уменьшает концентрацию глюкозы в сыворотке крови, которая на 53,0 % ($p < 0,001$) уступает данным второй серии и на 38,6 % ($p < 0,001$) – результату третьей серии. При этом концентрация инсулина в сыворотке крови существенно уменьшается и на 64,6 % ($p < 0,001$) уступает данным второй серии, на 57,0 % ($p < 0,001$) – третьей, на 33,8 % ($p < 0,01$) – четвертой. Индекс НОМА-ИР снижается до $(0,24 \pm 0,06)$, что на 83,6 % ($p < 0,001$) уступает данным второй серии и на 74,5 % ($p < 0,01$) – третьей серии.

В этих условиях нормализуется содержание холестерина липопротеинов высокой плотности, который в 2,41 раза ($p < 0,001$) превышает результат второй серии, на 65,7 % ($p < 0,01$) – третьей и на 34,9 % ($p < 0,01$) – четвертой серии.

Концентрация холестерина липопротеинов очень низкой плотности и триацилглицеролов уменьшается и уступает на 60,6 % ($p < 0,001$) и 60,6 % ($p < 0,001$) данным второй серии, на 42,2 % ($p < 0,01$) и 41,4 % ($p < 0,01$) – третьей, на 38,3 % ($p < 0,01$) и 37,9% ($p < 0,01$) – четвертой серии соответственно.

Сочетанное применение мелатонина и метформина гидрохлорида в условиях эксперимента уменьшает концентрацию фактора некроза опухоли- α , которая на 67,0 % ($p < 0,001$) уступает результату второй серии и на 43,3 % ($p < 0,02$) – третьей серии.

При этом уменьшается концентрация ТБК-активных соединений, которая на 39,9 % ($p < 0,001$) уступает результату второй серии, на 23,6 % ($p < 0,001$) – третьей и на 17,0 % ($p < 0,01$) – четвертой серии. Активность супероксиддисмутазы существенно не меняется по сравнению с данными серий с изолированным применением мелатонина и метформина. Однако активность каталазы увеличивается и в 2,28 раза ($p < 0,001$) превышает результат второй серии, на 75,0 % ($p < 0,001$) – третьей и на 41,7 % ($p < 0,01$) – четвертой серии.

Таким образом, сочетанное применение мелатонина и метформина гидрохлорида при воспроизведении синдрома инсулинорезистентности в условиях гипопинеализма в большей степени уменьшает проявления гиперинсулинемии, дислипидотеинемии, гипо- α -липопротеинемии, гипертриацилглицеролемии, системного воспалительного ответа и окислительного стресса, чем изолированное применение этих соединений.

Ключевые слова: синдром инсулинорезистентности, гипопинеализм, мелатонин, метформина гидрохлорид

O. I. Belikova, V. S. Chernov, V. O. Kostenko

Effects produced by co-administration of melatonin and metformin hydrochloride on biochemical markers of insulin resistance syndrome in modeled hypopinealism

The objective of the study was to evaluate the combined effect of exogenous melatonin and metformin hydrochloride on carbohydrate and lipid metabolism as well as on free radical processes in the body of rats during the carbohydrate-lipid modeling of insulin resistance (IR) syndrome under hypopinealism induced by round-the-clock lighting.

The study was performed on 35 Wistar white male rats weighing 215–255 g in 5 series of experiments. The first series was designed to identify the necessary parameters of intact animals (control series); the second series was designed to obtain the parameters in the rats after the development of modeled IR syndrome under experimental hypopinealism (high calorie for 60 days and round-the-clock lighting with intensity of 1500 lx for the last 30 days); in the third and fourth series, during the last 30 days of the experiment, test animals with modeled IR syndrome were administered exogenous melatonin in a dose of 0,3 mg/kg body weight and metformin hydrochloride in a dose of 200 mg/kg respectively; and in the fifth series, these compounds were co-administered.

The co-administration of melatonin and metformin hydrochloride in the experimental conditions significantly reduces the blood glucose concentration, which is by 53,0 % ($p < 0,001$) inferior to that of the

second series and by 38,6 % ($p < 0,001$) compared with the result of the third series. At the same time, the concentration of serum insulin considerably decreases, and is observed by 64,6 % ($p < 0,001$) inferior to the second series, by 57,0 % ($p < 0,001$) lower than in the third series, and by 33,8 % ($p < 0,01$) inferior to the fourth group. The HOMA-IR index goes down to $(0,24 \pm 0,06)$ that is by 83,6 % ($p < 0,001$) inferior to the second series and by 74,5 % ($p < 0,01$) lower than in the third series.

Under these conditions, the content of high density lipoprotein cholesterol is normal that is 2,41 times higher ($p < 0,001$) than this parameter of the second series, and by 65,7 % ($p < 0,01$) higher compared with the third group and by 34,9 % ($p < 0,01$) higher that in the fourth series.

The concentration of very low density lipoprotein cholesterol and triacylglycerols decreases and is inferior by 60,6 % ($p < 0,001$) and by 60,6 % ($p < 0,001$) to the parameters of the the second series respectively, and by 42,2 % ($p < 0,01$) and 41,4 % ($p < 0,01$) lower than that in the third and by 38,3 % ($p < 0,01$) and 37,9 % ($p < 0,01$) lower than in the fourth series.

The co-administration of melatonin and metformin hydrochloride in experimental conditions reduces the concentration of tumor necrosis factor- α , which is by 67,0 % ($p < 0,001$) inferior to the findings of the second series and by 43,3 % ($p < 0,02$) lower than the findings in the third series.

In this case, the concentration of TBK-active compounds decreases that which is by 39,9 % ($p < 0,001$) inferior to the findings of the second series; by 23,6 % ($p < 0,001$) lower than in the third group, and by 17,0 % ($p < 0,01$) inferior to that in the fourth series. The superoxide dismutase activity is not considerably changed compared with the the findings obtained in the series with isolated administration of melatonin and metformin. However, the catalase activity increases and 2,28 times ($p < 0,001$) exceeds the findings of the second series, and by 75,0 % ($p < 0,001$) higher the third group and by 41,7 % ($p < 0,01$) higher in the fourth series.

Thus, the co-administration of melatonin and metformin hydrochloride under the modeling of the insulin resistance syndrome under hypopinealism reduces the manifestations of hyperinsulinemia, dyslipoproteinemia, hypo- α -lipoproteinemia, hypertriacylglycerolemia, systemic inflammatory response and oxidative stress in a large measure than isolated administration of these compounds.

Key words: insulin resistance syndrome, hypopinealism, melatonin, metformin hydrochloride

Надійшла: 28 серпня 2017 р.

Контактна особа: Черно Валерій Степанович, доктор медичних наук, кафедра лабораторної діагностики, Миколаївський національний університет імені В. О. Сухомлинського, буд. 2А, вул. Мореходна, м. Миколаїв, 54000. Тел.: + 38 0 512 76 98 22.
Електронна пошта: cherno1965@gmail.com