

УДК 616.15:577.3]:616.379 – 008.64 - 019

## УМІСТ ГЛІКОГЕНУ Й АКТИВНОСТІ ГЛЮКОЗО-6-ФОСФАТАЗИ В ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ ІЗ ДЕКСАМЕТАЗОНОВИМ ДІАБЕТОМ ЗА УМОВ ЗМІНЕНОГО ФОТОПЕРІОДУ ТА ВВЕДЕННЯ МЕЛАТОНІНУ

І.М. ЯРЕМІЙ, О.Ю. КУШНІР, К.М. ЯРЕМІЙ, О.О. КУШНІР

*Буковинський державний медичний університет  
Кафедра біоорганічної і біологічної хімії та клінічної біохімії  
Театральна пл. 2, м. Чернівці, 58002, Україна  
Email: [kushnir@bsmu.edu.ua](mailto:kushnir@bsmu.edu.ua)*

*Мелатонін впливає на функціонування підшлункової залози та розглядається нині як потенційний засіб корекції діабетичних порушень. Нестача мелатоніну може призвести до порушення толерантності організму до глюкози, проте механізми впливу цього гормону на обмін вуглеводів при цукровому діабеті й досі достеменно не вивчені.*

*Статевозрілих 18-місячних безпородних білих щурів-самців розподілили на три групи: 1) контрольна (інтактні щур), 2) щури з дексаметазоновим діабетом, який викликали шляхом щоденного підшкірного впродовж 13 днів введення розчину дексаметазону (4 mg/kg, KRKA, Slovenia) в дозі 125 мг/кг (за О.В. Стефановим, 2001), 3) щури, яким на фоні розвитку дексаметазонового діабету перорально вводили мелатонін (Sigma, USA) в дозі 10 мг/кг. У кожній групі щурів було виділено по три підгрупи: 1) щури, яких упродовж експерименту утримували за умов штучного рівнодення; щури, яких утримували впродовж цілодобового освітлення; щури, яких утримували за умов цілодобової темряви. Евтаназію експериментальних тварин здійснювали шляхом декапітації під легким ефірним наркозом на 14-ту добу від початку експерименту з дотриманням норм поводження з експериментальними тваринами. В печінці щурів проводили визначення вмісту глікогену й активності глюкозо-6-фосфатази [КФ 3.1.3.9].*

*Уміст глікогену в печінці щурів з дексаметазоновим діабетом був зниженим на 11% в щурів, які перебували за умов штучного рівнодення; на 17% у щурів, які перебували за умов цілодобового освітлення та на 15% у щурів, які перебували за умов цілодобової темряви. При цьому вміст глікогену в печінці щурів, які впродовж експерименту на фоні розвитку діабету щоденно отримували мелатонін вірогідно не відрізнявся від показників інтактних тварин як при штучному рівноденні, так і за умов цілодобового освітлення та цілодобової темряви. Щодо активностей глюкозо-6-фосфатази, то її активність в щурів з дексаметазоновим діабетом була збільшеною при порівнянні з інтактними тваринами контрольної групи при всіх режимах освітлення – на 64,5% при утриманні тварин в режимі штучного рівнодення, на 65,4% при перебуванні в умовах цілодобового освітлення та на 63% при перебуванні в умовах цілодобової темряви. Активність ферменту в печінці діабетичних щурів, які отримували мелатонін були вірогідно нижчими, ніж у щурів з дексаметазоновим діабетом, які не отримували жодних засобів корекції (у 2,3 рази за умов рівнодення, удвічі за умов цілодобового освітлення та у 2,4 рази за умов цілодобової темряви), проте ці показники вірогідно відрізнялися від таких у тварин контрольної групи.*

*Ключові слова: мелатонін, дексаметазоновий діабет, щури, глікоген, глюкозо-6-фосфатаза.*

**Вступ.** Цукровий діабет – хронічне ендокрино-обмінне захворювання, яке зумовлене абсолютною та/або відносною нестачею інсуліну, а також дією різноманітних генетично зумовлених та екзогенних факторів, що супроводжується порушенням метаболізму, насамперед обміну вуглеводів із подальшим ушкодженням органів і тканин внаслідок розвитку гіперглікемії та зумовленого нею глікозилювання. Ще у 2000 році, кількість хворих на цукровий діабет становила 175,4 млн осіб, у 2015 зросла до 245 млн осіб, а вже до 2040 року експерти ВООЗ прогнозують збільшення

кількості діабетиків до 642 млн осіб (Kolesnyk Yu.M. et al., 2016). Слід зазначити, що у більшості діабетиків діагностують цукровий діабет 2 типу, який, як відомо, характеризується порушенням толерантності організму людини до глюкози переважно внаслідок розвитку інсулінорезистентності (Peschke E., Hofmann K., Bahr I., et al., 2011). Мелатонін (N-ацетил-5-метокситриптамін) є гормоном, який синтезується переважно у епіфізі та функціонує в організмі людини не тільки як синхронізатор циркадних ритмів і регулятор сну, антиоксидант та цитопротектор, але й приймає участь у

підтриманні гомеостазу глюкози (Peschke E., 2008). Екзогенний мелатонін нині розглядають як один із можливих засобів корекції метаболічних порушень, що виникають на тлі стійкої гіперглікемії, зокрема, при цукровому діабеті (Ha E, Yim S.V., Chung J.H., et al., 2006).

**Мета дослідження** - з'ясувати вплив мелатоніну на вміст глікогену та активності глюкозо-6-фосфатази в печінці щурів за умов дексаметазонового діабету та зміненого фотоперіоду.

**Матеріали та методи.** Дослідження проведено на 72 статевозрілих 18-місячних безпородних білих щурах-самцях, яких було розподілено на три групи: 1) контрольна (інтактні щури), 2) щури з дексаметазоновим діабетом, який викликали шляхом щоденного підшкірного впродовж 13 днів введення розчину дексаметазону (KRKA, Slovenia) в дозі 125 мг/кг (за О.В. Стефановим, 2001), 3) щури, яким на фоні розвитку дексаметазонового діабету перорально вводили мелатонін (Sigma, USA) в дозі 10 мг/кг (Mok, J.X., et al., 2019). У кожній групі щурів було виділено по три підгрупи: 1) щури, яких упродовж експерименту утримували за умов штучного рівнодення; щури, яких утримували впродовж цілодобового освітлення; щури, яких утримували за умов цілодобової темряви. Декапітацію експериментальних тварин здійснювали під легким ефірним наркозом на 14-ту добу від початку експерименту з дотриманням норм поведінки з експериментальними тваринами. Перед етаназією тварин натще у крові з хвостової вени прижиттєво визначали вміст глюкози за допомогою приладу One Touch Ultra Easy ("Johnson & Johnson", США). Визначення активності активності глюкозо-6-фосфатази [КФ 3.1.3.9] в печінці проводили за кількістю неорганічного фосфату колориметрично. Для визначення глікогену тканини розщеплювали 30% розчином КОН з подальшим додаванням етанолу. Потім глікоген гідролізували сірчаною кислотою до рівня глюкози, який використовувався як показник вмісту глікогену. Достовірність різниці між отриманими показниками оцінювали при нормальному розподілі використовуючи параметричний t-критерій Ст'юдента та при невідповідності нормальному розподілу непараметричного U-критерію Манна-Уїтні. Відмінності вважали вірогідними при  $p \leq 0,05$ .

**Результати.** Згідно отриманих результатів у щурів із дексаметазоновим діабетом, які не отримували жодних засобів корекції метаболічних порушень вміст глюкози в крові

перевищував 8,9 ммоль/л, а у тварин, які крім щоденних ін'єкцій дексаметазону щодня отримували мелатонін в дозі 10 мг/кг не відрізнявся вірогідно від показників тварин контрольної групи (незалежно від змін фотоперіоду). Уміст глікогену в печінці щурів (табл. 1) з дексаметазоновим діабетом, за якого, які відомо (О.В. Стефанов, 2001) розвивається інсулінорезистентність, то він був зниженим порівняно з показниками контрольної групи тварин за всіх режимів освітлення – на 11% в щурів, які перебували за умов штучного рівнодення; на 17% у щурів, які перебували за умов цілодобового освітлення та на 15% у щурів, які перебували за умов цілодобової темряви.

При цьому вміст глікогену в печінці щурів, які впродовж експерименту на фоні розвитку діабету щоденно отримували мелатонін вірогідно не відрізнявся від показників інтактних тварин як при штучному рівноденні, так і за умов цілодобового освітлення та цілодобової темряви.

Щодо активностей глюкозо-6-фосфатази, то її активність в щурів з дексаметазоновим діабетом була збільшеною при порівнянні з інтактними тваринами контрольної групи при всіх режимах освітлення – на 64,5% при утриманні тварин в режимі штучного рівнодення, на 65,4% при перебуванні в умовах цілодобового освітлення та на 63% при перебуванні в умовах цілодобової темряви. Активність ферменту в печінці діабетичних щурів, які отримували мелатонін були вірогідно нижчими, ніж у щурів з дексаметазоновим діабетом, які не отримували жодних засобів корекції (у 2,3 рази за умов рівнодення, удвічі за умов цілодобового освітлення та у 2,4 рази за умов цілодобової темряви), проте ці показники вірогідно відрізнялися від таких у тварин контрольної групи. Мелатонін, як відомо (Seema Rai et al, 2024) впливає на функціонування GLUT та ймовірно на функціонування тирозинкіназних інсулінових рецепторів; рецепторів, пов'язаних із G-білками (Seema Rai et al, 2024) та тим самим сприяє реалізації внутрішньоклітинних ефектів інсуліну, зокрема утилізації глюкози клітинами як енергетичного субстрату шляхом її аеробного окислення (Kazuki Watanabe, 2023).

Отримані нами результати вказують на здатність мелатоніну за умов розвитку діабету, незалежно від умов освітлення, запобігати надмірній активації глікогенолізу та глюконеогенезу шляхом зниження синтезу чи активності глюкозо-6-фосфатази та підтримувати здатність печінки до накопичення достатньої кількості глікогену.

Таблиця 1.

Вплив мелатоніну (10 мг/кг) на вміст глікогену та активності глюкозо-6-фосфатази в печінці щурів із дексаметазоновим діабетом за умов різної довжини світлового періоду ( $x \pm Sx$ )

Table 1.

Effect of melatonin (10 mg/kg) on glycogen content and glucose-6-phosphatase activity in the liver of rats with dexamethasone diabetes under conditions of different light period lengths ( $x \pm Sx$ )

Умови		Показники	Глікоген, мг%	Глюкозо-6-фосфатаза, мкг/хв×мг
Рівнодення	Контроль, n=8		3124±89,1	20,9±1,33
	Діабет, n=8		2787±103,5 <sup>a</sup>	58,8±3,12 <sup>a</sup>
	Діабет+Мелатонін, n=8		3095±79,8 <sup>b</sup>	25,8±1,72 <sup>ab</sup>
Постійне освітлення	Контроль, n=8		3072±77,3	20,4±1,44
	Діабет, n=8		2594±68,3 <sup>a</sup>	59,2±3,81 <sup>a</sup>
	Діабет+мелатонін, n=8		3094±72,3 <sup>b</sup>	28,7±3,42 <sup>ab</sup>
Постійна темрява	Контроль, n=8		3284±71,2	21,4±1,94
	Діабет, n=8		2722±81,4 <sup>a</sup>	57,8±3,47 <sup>a</sup>
	Діабет+мелатонін, n=8		3142±82,5 <sup>b</sup>	24,2±2,23 <sup>ab</sup>

Примітка: 1. a, b - зміни вірогідні ( $p \leq 0,05$ ). 2. a - стосовно контролю за відповідних умов освітлення; b - стосовно щурів із дексаметазоновим діабетом.

Note: 1. a, b - changes are significant ( $p \leq 0.05$ ). 2. a - in relation to control under appropriate lighting conditions; b - in relation to rats with dexamethasone diabetes.

**Висновок.** Мелатонін сприяє нормалізуванню порушеного за умов розвитку дексаметазонового діабету обміну вуглеводів на рівні збереження резервів глікогену та зниження, підвищеної за умов розвитку інсулінорезистентності активності глюкозо-6-фосфатази.

**Конфлікт інтересів:** автори заявляють, що проведене ними експериментальне дослідження проводилося за відсутності будь яких комерційних або фінансових взаємостосунків, які можна було б витлумачити як потенційний конфлікт інтересів.

#### References:

1. Kolesnyk Yu.M., Ivanenko T.V., Abramov A.V., Kuzo N.V. (2016). Current method of the modeling of experimental diabetes mellitus type 2: a literature review. *Pathology*, 1 (36), 10-14. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2016.1.72365>
2. Kazuki Watanabe, Masaki Nakano, Yusuke Maruyama, Jun Hirayama, Nobuo Suzuki, Atsuhiko

Hattori, Atsuhiko Hattori (2023). Nocturnal melatonin increases glucose uptake via insulin-independent action in the goldfish brain. *Front. Endocrinol. Sec. Neuroendocrine Science*. 14.

<https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1173113>

3. Mohamed Lotfy, Aalaa Khattab, Mohammed Shata, Amjad Husseina, Biduth Kundua Ernest A. Adeghate (2024). Melatonin increases AKT and SOD gene and protein expressions in diabetic rats. *Trends in immunology*. 7(10). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e28639>
4. Peschke E. (2008). Melatonin, endocrine pancreas and diabetes. *Journal of Pineal Research*. 44, 26 – 40. <https://doi.org/10.1111/j.1600-079X.2007.00519.x>
5. Siddhi, J., Sherkhane, B., Kalavala, A.K. (2022) Melatonin prevents diabetes-induced nephropathy by modulating the AMPK/SIRT1 axis: focus on autophagy and mitochondrial dysfunction. *Cell Biol. Int.* 46, 2142-2157. <https://doi.org/10.1002/cbin.11899>
6. Seema Rai, Gunja Roy, Younis Ahmad Hajam (2024). *Front Oncol.* 13, 1248339. doi: <https://doi.org/10.3389/fonc.2023.1248339>.

# GLYCOGEN CONTENT AND GLUCOSE-6-PHOSPHATASE ACTIVITY IN THE LIVER OF RATS WITH DEXAMETHASONE DIABETES UNDER CONDITIONS OF CHANGED PHOTOPERIOD AND ADMINISTRATION OF MELATONIN

Yaremii I.M., Kushnir O.Yu., Yaremii K.M., Kushnir O.O.

*Bukovinian State Medical University  
Department of bioorganic and biological chemistry  
and clinical biochemistry, Chernivtsi, Ukraine  
Email: [kushnir@bsmu.edu.ua](mailto:kushnir@bsmu.edu.ua)*

*Melatonin affects the functioning of the pancreas and is currently being considered as a potential means of correcting diabetic disorders. Melatonin deficiency can lead to impaired glucose tolerance, but the mechanisms of this hormone's influence on carbohydrate metabolism in diabetes have not yet been fully studied.*

*Sexually mature 18-month-old purebred white male rats were divided into three groups: 1) control (intact rats), 2) rats with dexamethasone diabetes, which was induced by daily subcutaneous administration of dexamethasone solution (4 mg/kg, KRKA, Slovenia) for 13 days. at a dose of 125 mg/kg (according to O.V. Stefanov, 2001), 3) rats that were orally administered melatonin (Sigma, USA) at a dose of 10 mg/kg against the background of dexamethasone diabetes (Mok, J.X., et al., 2019). In each group of rats, three subgroups were distinguished: 1) rats that were kept under artificial equinoctial conditions during the experiment; rats kept under 24-hour lighting; rats kept in 24-hour darkness. Euthanasia of experimental animals was carried out by decapitation under light ether anesthesia on the 14th day from the beginning of the experiment in compliance with the norms of treatment of experimental animals. Glycogen content and glucose-6-phosphatase activity were determined in the liver of rats [KF 3.1.3.9].*

*Glycogen content in the liver of rats with dexamethasone diabetes was reduced by 11% (equinox); by 17% (24-hour light) and 15% (24-hour darkness) compared to equinox controls. At the same time, the content of glycogen in the liver of rats receiving melatonin against the background of diabetes did not differ from the indicators of intact animals at the equinox and under conditions of 24-hour light and 24-hour darkness. The activity of glucose-6-phosphatase in rats with dexamethasone diabetes was increased compared to the indicators of the control group under all conditions - on average by 64.5%. Enzyme activity in the liver of melatonin-treated diabetic rats was, on average, 2-fold lower than in dexamethasone-diabetic rats that did not receive any correction agents, but these values were likely different from those of control animals.*

*Key words: melatonin, dexamethasone diabetes, rats, glycogen, glucose-6-phosphatase.*

*Отримано редколегією 25.10.2024*

## **ORCID ID**

Ірина Яремій: <https://orcid.org/0000-0001-7969-345X>

Олександра Кушнір: <https://orcid.org/0000-0002-8011-6825>

Олександра Кушнір: <https://orcid.org/0009-0007-1930-4708>

Катерина Яремій: <https://orcid.org/0009-0000-5120-6728>