

КЛІНІЧНА АНАТОМІЯ ТА ОПЕРАТИВНА ХІРУРГІЯ

Том 18, № 2 (68)
2019

Науково-практичний медичний журнал
Видається 4 рази на рік
Заснований в квітні 2002 року

Головний редактор
Слободян О.М.

Почесний головний редактор
Ахтемійчук Ю.Т.

**Перший заступник
головного редактора**
Іващук О.І.

**Заступники головного
редактора**
Чайковський Ю.Б.
Проняєв Д.В.

Відповідальний секретар
Товкач Ю.В.

Секретар
Лаврів Л.П.

Редакційна колегія

Білоокий В.В.

Боднар Б.М.

Булик Р.Є.

Власов В.В.

Давиденко І.С.

Іфтодій А.Г.

Кривецький В.В.

Макар Б.Г.

Олійник І.Ю.

Полянський І.Ю.

Федорук О.С.

Хмара Т.В.

Засновник і видавець: ВДНЗ України "Буковинський державний медичний університет"
Адреса редакції: 58002, пл. Театральна, 2, Чернівці, Україна

URL: <http://kaos.bsmu.edu.ua/>;
E-mail: cas@bsmu.edu.ua

РЕДАКЦІЙНА РАДА

Андергубер Ф. (Грац, Австрія), Білаш С.М. (Полтава), Вовк Ю.М. (Рубіжне), Вовк О.Ю. (Харків), Волков К.С. (Тернопіль), Гнатюк М.С. (Тернопіль), Головацький А.С. (Ужгород), Гумінський Ю.Й. (Вінниця), Гунас І.В. (Вінниця), Дуденко В.Г. (Харків), Катеренюк І.М. (Кишинів, Молдова), Костюк Г.Я. (Вінниця), Кошарний В.В. (Дніпро), Кривко Ю.Я. (Львів), Лук'янцева Г.В. (Київ), Масна З.З. (Львів), Матешук-Вацеба Л.Р. (Львів), Небесна З.М. (Тернопіль), Неделку А. (Яси, Румунія), Околокулак Є.С. (Гродно, Білорусь), Пастухова В.А. (Київ), Півторак В.І. (Вінниця), Пикалюк В.С. (Луцьк), Попадинець О.Г. (Івано-Франківськ), Попов О.Г. (Одеса), Попович Ю.І. (Івано-Франківськ), Ромаєв С.М. (Харків), Россі П. (Рим, Італія), Савва А. (Яси, Румунія), Сікора В.З. (Суми), Суман С.П. (Кишинів, Молдова), Топор Б.М. (Кишинів, Молдова), Федонюк Л.Я. (Тернопіль), Філіпоу Ф. (Бухарест, Румунія), Черкасов В.Г. (Київ), Черно В.С. (Миколаїв), Шепітько В.І. (Полтава), Шкодівський М.І. (Сімферополь)

EDITORIAL COUNCIL

Friedrich Anderhuber (Graz, Austria), Anca Sava (Yassy, Romania), Alin Nedelcu (Yassy, Romania), Florin Filipoiu (Bucureshti, Romania), Pellegrino Rossi (Roma, Italy), Suman Serghei (Kishinev, Moldova), Bilash S.M (Poltava), Vovk Yu.M. (Rubizhne), Vovk O.Yu. (Kharkiv), Volkov K.S. (Ternopil), Gnatyuk MS (Ternopil), Golovatsky A.C. (Uzhgorod), Guminsky Yu.Y. (Vinnitsa), Gunas I.V. (Vinnytsya), Dudenko V.G. (Kharkiv), Kateryenyuk I.M. (Kishinev, Moldova), Kostiuk G.Ya. (Vinnytsia), Kosharnyi V.V. (Dnipro), Krivko Yu.Ya. (Lviv), Lukyantseva G.V. (Kiev), Masna Z.Z. (Lviv), Mateshuk-Vatseba L.R. (Lviv), Nebesna Z.M. (Ternopil), Okolokulak E.S. (Grodno, Belarus), Pastukhova V.A. (Kiev), Pivtorak V.I. (Vinnytsia), Pikalyuk V.S. (Lutska), Popadynets O.H. (Ivano-Frankivsk), Popov O.G. (Odessa), Popovich Yu.I. (Ivano-Frankivsk), Romany S.M. (Kharkiv), Sikora V.Z. (Sumy), Topor B.M. (Chisinau, Moldova), Fedonyuk L.Ya. (Ternopil), Cherkasov V.G. (Kiev), Chernov V.C. (Nikolaev), Shepitko V.I. (Poltava), Shkodivskyj M.I. (Simferopol)

**Свідоцтво про державну реєстрацію –
серія КВ № 6031 від 05.04.2002 р.**

Журнал включений до баз даних:

ВІНІТІ Російської академії наук, Ulrich`s Periodicals Directory, Google Scholar, Index Copernicus International, Scientific Indexing Services, Infobase Index, Bielefeld Academic Search Engine, International Committee of Medical Journal Editors, Open Access Infrastructure for Research in Europe, WorldCat, Наукова періодика України

**Журнал "Клінічна анатомія та оперативна хірургія" –
наукове фахове видання України**

**(Постанова президії ВАК України від 14.10.2009 р., № 1-05/4), перереєстровано наказом
Міністерства освіти і науки України від 29 грудня 2014 року № 1528 щодо включення
до переліку наукових фахових видань України**

**Рекомендовано вченою радою ВДНЗ України
"Буковинський державний медичний університет
(протокол № 10 від 23.05.2019 року)**

ISSN 1727-0847

**Klinična anatomîa ta operativna hirurgiâ (Print)
Clinical anatomy and operative surgery**

ISSN 1993-5897

**Klinična anatomîa ta operativna hirurgiâ (Online)
Kliničeskaâ anatomîa i operativnaâ hirurgiâ**

© Клінічна анатомія та оперативна хірургія, 2019

УДК 611.37.018:616.379-008.64]:577.17
DOI: 10.24061/1727-0847.18.2.2019.11

O.Yu. Kushnir, I.M. Yaremii

Department of Bioorganic and Biological Chemistry and Clinical Biochemistry (head – as. prof. I.V. Gerush) of the Higher State Educational Establishment of Ukraine «Bukovinian State Medical University», Chernivtsi

INFLUENCE OF MELATONIN INTRODUCTION ON CONDITION OF THE LANGERHANS ISLETS OF THE PANCREAS IN ALLOKSAN DIABETIC RATS

ВПЛИВ ЗАСТОСУВАННЯ МЕЛАТОНІНУ НА ОСТІВЦІ ЛАНГЕРГАНСА ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ КРИС З АЛОКСАНОВИМ ДІАБЕТОМ

Резюме. Метою цього експериментального дослідження було встановити вплив мелатоніну на рівень базальної глікемії (БГ) і гістопатологію панкреатичних бета-клітин у щурів в умовах аллоксанового діабету. Рівень глюкози в крові у діабетичних щурів значно зростав протягом експериментального періоду. Зафіксовано гістоморфологічні зміни в острівцях підшлункової залози Лангерганга в діабетичних щурів: їх питома вага достовірно знизилася на 83 %, середня кількість бета-клітин зменшилася на 88 %, відсоток бета-клітин з некрозом становив 96% відповідно порівняно з показниками контрольних тварин. Лікування мелатоніном викликало різке зниження підвищеної базальної глікемії і часткової регенерації/проліферації бета-клітин острівців. Зроблено висновок, що гіпоглікемізувальна дія мелатоніну може бути частково обумовлена поліпшенням у бета-клітинах острівців підшлункової залози.

Ключові слова: мелатонін; аллоксановий цукровий діабет; підшлункова залоза.

Diabetes mellitus (DM) is a common but serious metabolic disorder associated with many functional and structural complications. Diabetes is a disease that affects the millions of people every sex and race effective and globally every year [1]. Diabetes is a disease which disturbs the glycemic control and the antioxidant metabolism disorder plays a role in the development of the clinic state.

Alloxan diabetes was reported to induce oxidative stress and generates reactive oxygen species (ROS) [2]. In the presence of intracellular thiols, especially glutathione, alloxan generates ROS in a cyclic redox reaction with its reduction product, dialuric acid. Autoxidation of dialuric acid generates superoxide radicals, hydrogen peroxide and, in a final iron-catalysed reaction step, hydroxyl radicals. These hydroxyl radicals are ultimately responsible for the death of the beta cells, which have a particularly low antioxidative defence capacity, and the ensuing state of insulin-dependent 'alloxan diabetes'.

Melatonin not only neutralizes reactive oxygen species (ROS), but also acts through the stimulation of several antioxidative enzymatic systems and stabilizing cell membranes [3].

The object of this experimental research was to ascertain the influence of melatonin on the level of basal glycemia (BG) and histopathology of pancreatic beta-

cells in rats under conditions of alloxan diabetes.

Material and methods. Research performed in compliance with the Rules of the work using experimental animals (1977) and the Council of Europe Convention on the Protection of Vertebrate Animals used in experiments and other scientific purposes (Strasbourg, 1986), according to directions of International Committee of Medical Journals Editors (IC-MJE), as well as "Bioethical expertise of preclinical and other scientific researches conducted on animals" (Kyiv, 2006). The experiments were carried out on 60 sexually mature male albino rats with the body mass – (0.18-0.20) kg. Alloxan diabetes was evoked via injecting the rats with a 5% solution of alloxan monohydrate intraperitoneally in a dose of 170 mg/kg of body weight (b. w.). The animals were divided into three subgroups: 1) control group; 2) DM rats – $BG \geq 8.0$ mmol/l; 3) DM animals which were introduced the melatonin preparation intraperitoneally in a dose of 5 mg/kg of b. w. at 8 a. m. daily during 14 days starting with a 5-th 24 hour period after the injection of alloxan [4]. Haematoxylin and eosin stain and Gomori's modified stain were used for histomorphological study of Langerhans islets in pancreas [5].

Statistical analysis was performed using Statistica 10 StatSoft Inc [6]. To determine an adequate method

of statistical estimation of the average difference between the study groups held preliminary check distribution quantities in samples. According to the criteria Shapiro-Wilk, which is used to assess the normality of distribution in the sample volume $n \leq 50$, all samples not received data on deviation of the distribution of samples from normal ($p > 0,05$). Given these data, the use of Mann-Whitney test was considered sufficient for valid conclusions. Differences were considered to be statistically significant at $p \leq 0,05$.

Results and Discussion. The blood glucose level (fig.1) of diabetic rats increased significantly

throughout the experimental period. Insertion of melatonin for 14 days helped to reduce 2.0 times compared with the baseline, BG level in the group of animals with DM, indicating its hypoglycemic action.

It may be that lack of melatonin can causes impairment in glucose utilization.

It was detected, that melatonin stimulates glucose transport to skeletal muscle cells via insulin receptor substrate-1 / phosphoinositide 3-kinase (IRS-1/PI-3-kinase) pathway, which implies, at the molecular level, its role in glucose homeostasis and possibly in diabetes [7].

Histomorphological alterations (fig. 2-4) in Lang-

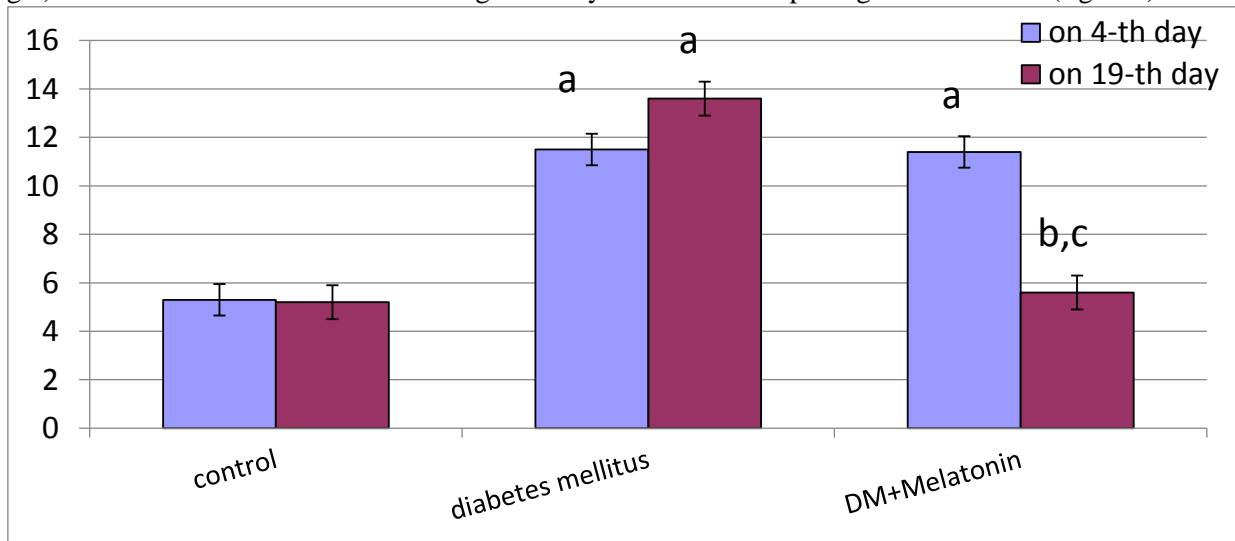


Fig. 1. The level of basal glycemia (mmol/l) in blood of rats, ($n=6$, $M \pm m$): 1. a, b, c – changes are reliable ($p \leq 0,05$). 2. a – concerning intact rats (control); b – concerning rats with diabetes mellitus; c – concerning indices on 4-th day

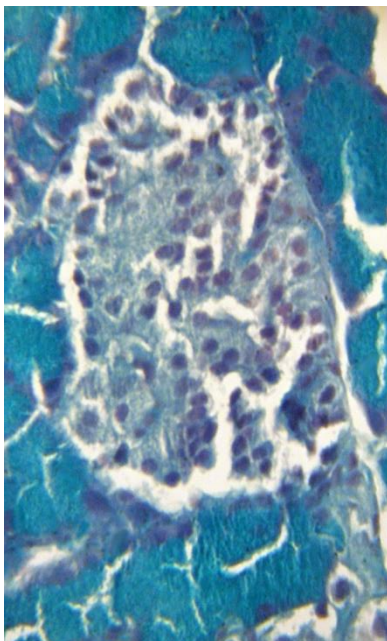


Fig. 2. The pancreas of control rat. A fragment of the Langerhans islet. Gomori's stain. Lense 40×.Eyepiece 10×

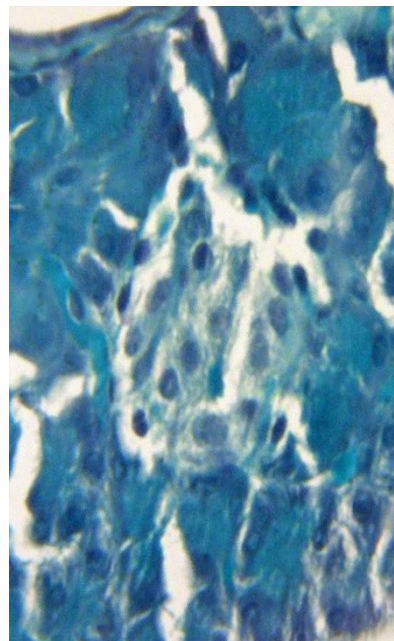


Fig. 3. The pancreas of diabetes mellitus rat. A fragment of the Langerhans islet. Gomori's stain. Lense 40×.Eyepiece 10×

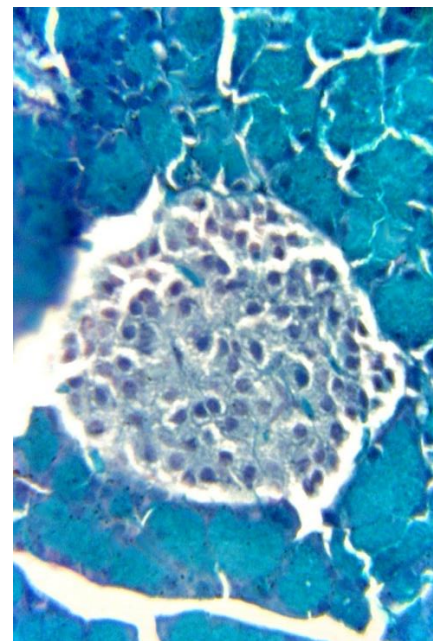


Fig. 4. The pancreas of rat with diabetes mellitus received melatonin. A fragment of the Langerhans islet. Gomori's stain. Lense 40×.Eyepiece 10×

organs islets of pancreas in diabetic rats were recorded (table): their share reliable decreased by 83%, numbers of beta-cells decreased by 88%, percentage of beta-cells with necrosis was 96% respectively compared with the indices of control animals.

Hyperglycemia can increase the indicators of lipid peroxidation and oxidative stress in which free radicals have the main role in the pathogenesis of these complications. Therefore, antioxidants which combat

oxidative stress should be able to prevent and repair free radicals induced damages [8].

Melatonin not only neutralizes reactive oxygen species (ROS), but also acts through the stimulation of several antioxidative enzymatic systems and stabilizing cell membranes [9].

Melatonin treatment caused a sharp decrease in the elevated serum glucose and partial regeneration/proliferation of beta-cells of islets [10].

Table

Histomorphological changes in Langergans islets of pancreas in diabetic rats under melatonin action, (n=6, $\bar{x} \pm S^{\bar{x}}$)

Groups	Indexes	Share reliable of Langergans islets (%)	Numbers of beta-cells of Langergans islets (%)	Percentage of beta-cells with necrosis (%)
1. Control		0,946 \pm 0,0118	45,0 \pm 1,55	-
2. Diabetes mellitus		0,155 \pm 0,0128 ^a	5,4 \pm 0,03 ^a	82,0 \pm 1,95 ^a
3. Diabetes mellitus + melatonin		0,596 \pm 0,0124 ^{a,b}	58,5 \pm 1,47 ^{a,b}	3,8 \pm 0,38 ^{a,b}

Note: 1. a, b – changes are reliable ($p \leq 0,05$); 2. a – concerning control rats; b – concerning rats with diabetes mellitus

It is concluded that the hypoglycemic action of melatonin could be partly due to amelioration in the beta-cells of pancreatic islets.

Conclusion. Administration of melatonin in a

dose of 5 mg/kg of body weight daily for 14 days to alloxan diabetic rats has a positive effect on the morphology of the Langerhans islets of pancreas.

References

1. Turkan A, Savas HB, Yavuz B, Yigit A, Uz E, Bayram NA, Kale B. The prophylactic effect of *Viscum album* in streptozotocin-induced diabetic rats. *North Clin Istanbul*. 2016;3(2):83-9. doi: 10.14744/nci.2016.22932.
2. Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*. 2008;51(2):216-26.
3. Gerush I, Boichuk T, Yaremii I, Kushnir O, Gerush O. Effects of melatonin on the glutathione system in the blood of alloxan diabetic rats. *FEBS Journal*. 2012; 279(Suppl.1):88. doi: 10.1111/j.1742-4658.2010.08705.x
4. Banaei S, Ahmadiasl N, Alihemmati A. Comparison of the Protective Effects of Erythropoietin and Melatonin on Renal Ischemia-Reperfusion Injury. *Trauma Mon*. 2016;21(3):e23005.
5. Gumieniczek A, Wilk M. Nitrosative stress and glutathione redox system in four different tissues of alloxan-induced hyperglycemic animals. *Toxicol Mech Methods*. 2009; 19(4):302-7. doi: 10.1080/15376510902839762.
6. Kushnir OYu, Yaremii IM, Shvetsv VI, Shvets NV. Influence of melatonin on glutathione system in skeletal muscle of alloxan diabetic rats. *Fiziologichnyi Zhurnal*. 2018;64(5):49-57.
7. Lin GJ, Huang SH, Chen YW, Hueng DY, Chien MW, Chia WT, Chang DM, Sytwu HK. Melatonin prolongs islet graft survival in diabetic NOD mice. *J Pineal Res*. 2009;47(3):284-292. doi: 10.1111/j.1600-079X.2009.00712.x.
8. Rahimi-Madiseh M, Malekpour-Tehrani A, Bahmani M, Rafieian-Kopaei M. The research and development on the antioxidants in prevention of diabetic complications. *Asian Pac J Trop Med*. 2016;9(9):825-31. doi: 10.1016/j.apjtm.2016.07.001.
9. Rodriguez C, Mayo JC, Sainz RM, Antolin I, Herrera F, Martin V, et al. Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. *J Pineal Res*. 2004;36(1):1-9.
10. Vishnoi S, Raisuddin S, Parvez S. Glutamate Excitotoxicity and Oxidative Stress in Epilepsy: Modulatory Role of Melatonin. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*. 2016;35(4):365-74.

ВЛИЯНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ МЕЛАТОНИНА НА ОСТРОВКИ ЛАНГЕРГАНСА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КРИС С АЛОКСАНОВИМ ДИАБЕТОМ

Резюме. Целью этого экспериментального исследования было установить влияние мелатонина на уровень базальной гликемии (БГ) и гистопатологию панкреатических бета-клеток у крыс в условиях алло-

ксанового діабета. Уровень глюкози в крові у діабетических крыс значительно возрастал в течение експериментального періода. Зафіксовано гистоморфологіческие изменения в островках піджелудочної залізи Лангерганга діабетических крыс: их удельный вес достоверно снизился на 83%, середнее количество бета-клеток уменьшилась на 88%, процент бета-клеток с некрозом составлял 96% соответственно по сравнению с показателями контрольных животных. Лечение мелатонином вызвало резке снижение повышенной базальной гликемии и частичной регенерации/пролиферации бета-клеток островков. Сделан вывод, что гипогликемическое действие мелатонина может быть частично обусловлено улучшением в бета-клетках островков піджелудочної залізи.

Ключевые слова: мелатонин; алоксанового сахарный діабет; піджелудочная заліза.

INFLUENCE OF MELATONIN INTRODUCTION ON CONDITION OF THE LANGERGANS ISLETS OF THE PANCREAS IN ALLOKSAN DIABETIC RATS

Abstract. In the presence of intracellular thiols, especially glutathione, alloxan generates ROS in a cyclic redox reaction with its reduction product, dialuric acid. Autoxidation of dialuric acid generates superoxide radicals, hydrogen peroxide and, in a final iron-catalysed reaction step, hydroxyl radicals. The experiments were carried out on 60 sexually mature male albino rats with the body mass – (0.18-0.20) kg. Alloxan diabetes was evoked via injecting the rats with a 5% solution of alloxan monohydrate intraperitoneally in a dose of 170 mg/kg of body weight (b. w.). The animals were divided into three subgroups: 1) control group; 2) DM rats – BG \geq 8.0 mmol/l; 3) DM animals which were introduced the melatonin preparation intraperitoneally in a dose of 5 mg/kg of b. w. at 8 a. m. daily during 14 days starting with a 5-th 24 hour period after the injection of alloxan. To determine an adequate method of statistical estimation of the average difference between the study groups held preliminary check distribution quantities in samples. According to the criteria Shapiro-Wilk, which is used to assess the normality of distribution in the sample volume $n \leq 50$, all samples not received data on deviation of the distribution of samples from normal ($p > 0,05$). The object of this experimental research was to ascertain the influence of melatonin on the level of basal glycemia (BG) and histopathology of pancreatic beta-cells in rats under conditions of alloxan diabetes. The blood glucose level of diabetic rats increased significantly throughout the experimental period. Histomorphological alterations in Langergans islets of pancreas in diabetic rats were recorded: their share reliable decreased by 83 %, numbers of beta-cells decreased by 88 %, percentage of beta-cells with necrosis was 96% respectively compared with the indices of control animals. Melatonin treatment caused a sharp decrease in the elevated serum glucose and partial regeneration/proliferation of beta-cells of islets. It is concluded that the hypoglycemic action of melatonin could be partly due to amelioration in the beta-cells of pancreatic islets.

Key words: melatonin, alloxan diabetes, pancreas.

Відомості про авторів:

Кушнір Олександра Юрїївна – кандидат медичних наук, асистент кафедри біоорганічної і біологічної хімії та клінічної біохімії Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці;

Яремій Ірина Миколаївна – кандидат біологічних наук, доцент асистент кафедри біоорганічної і біологічної хімії та клінічної біохімії Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці.

Information about the authors:

Kushnir Oleksandra Yu. – Candidate of Medical Sciences, Assistant of the Department of Bioorganic and Biological Chemistry and Clinical Biochemistry of the Higher State Educational Establishment of Ukraine «Bukovinian State Medical University», Chernivtsi;

Yaremii Iryna M. – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Bioorganic and Biological Chemistry and Clinical Biochemistry of the Higher State Educational Establishment of Ukraine «Bukovinian State Medical University», Chernivtsi.

Надійшла 16.04.2019 р.

Рецензент – проф. Небесна З.М. (Тернопіль)