ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«СТАВРОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
(ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России)

На правах рукописи

БИДЖИЕВА ФАТИМА АСХАТОВНА

ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АЛЛОКСАН-ИНДУЦИРОВАННОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА И МЕТОДЫ ЕГО КОРРЕКЦИИ

1.5.4. Биохимия

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор биологических наук, доцент
Эльбекьян Карине Сергеевна

Ставрополь – 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования. Сахарный диабет, будучи мультифункциональным заболеванием, является одной из самых распространенных патологий, присущих современному обществу [IDF Diabetes Atlas, 2017; И.И. Дедов и соавт., 2017; В.Г. Банзаракшеев, 2016; Н.А. Вечканова и соавт., 2019]. С учетом стремительного роста заболеваемости сахарным диабетом в мире необходима разработка мер, препятствующих распространению данной патологии на основе понимания того, какие амфиболические пути возникают на метаболических перекрестках [И.И. Дедов и соавт., 2018].

В основе многих патологических процессов, согласно современным теориям, лежит усиление скорости свободнорадикального окисления (СО) биосубстратов [И.М. Быков и соавт., 2018; K. Murotomi et al., 2015], приводящих в условиях антиоксидантной недостаточности к окислительному стрессу (ОС) [Y. Yoshida et al., 2015; Э.Б. Арушанян и соавт., 2016; Н.А. Дорощук и соавт., 2016; О.В. Чистякова и соавт., 2016; Ю.Д. Дворецкая и соавт., 2017; А.В. Воронков и соавт., 2018; М.И. Яшанова и соавт., 2019]. К заболеваниям, патогенез которых включает интенсивную генерацию активных форм кислорода (АФК), относится и сахарный диабет [А.А. Агарков и соавт., 2017; S. Le Lay et al., 2014].

В настоящее время изучение сахарного диабета ведется по многим направлениям. На сегодняшний день, например, накоплено большое количество различных данных о нарушении энергетического обмена при сахарном диабете [S.A. Afanasiev et al., 2014; Е.В. Ершова и соавт., 2016; Е.Н.Калапко и соавт., 2016; К.А. Черепанова, 2018]. В данных работах показано, что глубина сдвигов энергопродуцирующего аппарата коррелирует с тяжестью метаболических нарушений, что подчеркивает тесную связь между энергетическими и обменными нарушениями.

С другой стороны, внимание исследователей все чаще стали привлекать биологические и фармакологические свойства основного гормона шишковидной железы мелатонина (МТ) [M. Gunata et al., 2020; Д.В. Васендин, 2016; Д.Г. Губин, 2016; С.В. Недогода и соавт., 2017; С.С. Попов и соавт., 2017; Т.Н. Попова и соавт., 2018]. Возможно, это объясняется способностью гормона регулировать функции самых разных органов и систем организма, а также проявление универсальных терапевтических свойств [Э.Б. Арушанян, 2014] самим мелатонином.

Для понимания механизма антидиабетического действия различных препаратов на этапе доклинических испытаний широко используются экспериментальные модели, позволяющие получить более обширные сведения о строении и функционировании биологических молекул [Л.А. Можейко, 2013; В.Ю. Михайличенко и соавт., 2018]**.** Молекулярный докинг является одним из методов молекулярного моделирования [N. Brooijmans et al., 2003]. Он представляет собой процесс прогнозирования взаимодействия биологически активных соединений (лиганд) и мишени (биомакромолекула). Поэтому представляется актуальным изучение особенностей влияния мелатонина на энергетические процессы при сахарном диабете, что позволит найти новые пути к выяснению механизмов, в основе которых лежат процессы межмолекулярного узнавания. Применение при этом морфологических методов исследования позволяет расширить возможности более достоверной оценки состояния панкреатических островков и β - клеток. [О.В. Юндунова и соавт., 2016; В.Ю. Михайличенко и соавт., 2018].

Степень разработанности темы. Использование гормона шишковидной железы в лечении целого ряда патологических состояний, в том числе и СД [C. Col et al., 2010; G. Gomez-Moreno et al., 2010; C. Choinacki et al., 2011; В.И. Коненков и соавт., 2013; С.В. Мичурина и соавт., 2018], является перспективным. Экспериментальные данные свидетельствуют, что МТ способен захватывать активные формы кислорода, азота, ограничивать процессы ПОЛ и таким способом обеспечивать защиту любых живых клеток от повреждения, в том числе β - клеток (поскольку они обладают низким антиоксидантным потенциалом), и нормализовать окислительно - восстановительное состояние клетки при СД [J. Espino et al., 2011; Э.Б. Арушанян, 2012; К.В. Ломоносова, 2014; J. Cipolla-Neto et al., 2014; M. Zhang et al., 2017].

Обладая адаптогенным, иммуномодуляторным, противовоспалительным, противоинфекционным и другими эффектами [RJ Reiter et al., 2007; C. Nagorny et al., 2012; Т.Н. Гриненко и соавт., 2012; С.И. Рапопорт и соавт., 2013; Э.Б. Арушанян, 2014; Е.А. Гафарова и соавт., 2014; Э.Б. Арушанян и соавт., 2015; С. Леваков и соавт., 2015; E. Diaz et al., 2019], МТ способен повысить антиоксидантный статус организма в целом [D. Tousoulis et al., 2011]. Несмотря на значительное число исследований МТ в экспериментах с животными [M. Akmali et al., 2010; I. Bahr et al., 2011; T. Gürpinar et al., 2012; В.О. Смирнова и соавт., 2016; N. Lihinich et al., 2019] и положительных эффектов его приема в клинических исследованиях у людей [J. Cipolla-Neto et al., 2014; F. Nduhirabandi et al., 2012; С.С. Попов и соавт., 2015; В.О. Смирнова и соавт., 2016; M. Zhang et al., 2017], существует необходимость в дальнейших разработках и изучении свойств и эффектов гормона при СД.

Изучение имеющихся данных показало, что на сегодняшний день мелатонин не нашел применения в лечении сахарного диабета и ожирения, тем не менее его использование можно рассматривать в качестве нового терапевтического направления, что актуализирует нашу работу и делает своевременным исследование.

Цель исследования: установить особенности биохимических сдвигов при аллоксан - индуцированном сахарном диабете и обосновать подходы к их коррекции.

Задачи исследования:

1. Изучить биохимические особенности механизма протекания аллоксанового диабета у крыс линии Wistar.

2. Оценить в условиях выбранной модели уровень про - и антиоксидантной систем, являющихся ключевым звеном патогенеза сахарного диабета при использовании экзогенного мелатонина.

3. Охарактеризовать активность индикаторных ферментов (трансаминаз) состояния клеток печени и степень их поражения при аллоксановом диабете и использовании мелатонина.

4. Исследовать роль фермента сукцинатдегидрогеназы в изменении биоэнергетики клетки при развитии сахарного диабета и применении гормона шишковидной железы.

5. Обосновать возможность коррекции метаболических нарушений при экспериментальном диабете с использованием мелатонина.

6. Проанализировать структурные изменения β - клеток поджелудочной железы при аллоксановом диабете и выяснить степень их восстановления после введения мелатонина

Научная новизна исследования. На основании полученных данных удалось выявить:

1) У экспериментальных животных (крыс линии Wistar) неодинаковую чувствительность к токсическому действию аллоксана, что позволяет получать новые данные о глубине метаболических сдвигов в условиях экспериментального диабета и способах их коррекции с помощью мелатонина. Впервые определены различия в активности маркерных ферментов печени у животных с разной уремической чувствительностью к аллоксану. Установлено, что животные с низкой уремической чувствительностью демонстрируют значительное увеличение активности только цитоплазматической аланинаминотрансферазы, а у животных с высокой уремической чувствительностью более активны аспартат-

аминотрансферазы, имеющие митохондриально - цитоплазматическую локализацию.

2) При экспериментальном диабете наблюдается активация только митохондриальной сукцинатдегидрогеназы, что, вероятно, связано с более высоким темпом работы ЦТК в печени, но не в поджелудочной железе.

3) Впервые использован новый подход для визуализации и количественной оценки взаимодействия мелатонина с сукцинатдегидрогеназой, приводящее к блокированию каталитического домена А - субъединицы СДГ. Пространственное расположение и обнаруженные типы связей при комплексообразовании мелатонина с ФАД проявляют возможное ингибирующее действие и могут быть конкурентоспособными относительно сайта связывания убихинона.

4) Впервые проведено комплексное изучение плейотропного действия разных доз мелатонина на выраженность биохимических и гистологических сдвигов, индуцированных аллоксаном.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Установлено, что нарушения углеводного и липидного обменов, усиление процессов ПОЛ, сдвиги в системе антиокисдантной защиты зависят от индивидуальной чувствительности к диабетогенному действию аллоксана и остаются таковыми на протяжении всего периода исследования.

2. Использование мелатонина в разных дозах (1 мг/кг и 0,1 мг/кг) позволило установить, что дозировка 1 мг/кг способствует более эффективному снижению выраженности изменений гепатологических показателей крови (ферментов аланин - и аминотрансфераз), подавлению активности процессов перекисного окисления липидов и устранению возникшей дислипидемии при аллоксановом диабете.

3. Установлено, что между энергетическими процессами в печени и поджелудочной железе возникают реципрокные отношения. При развитии аллоксанового диабета у крыс активность сукцинатдегидрогеназы значительно

увеличивается, что свидетельствует об интенсификации катаболических процессов, повышающих энергетический потенциал клетки для осуществления адаптивной реакции всего организма в условиях патологии. В поджелудочной же ткани, где нарушен процесс окислительного фосфорилирования регистрируется невысокий уровень активности СДГ, что указывает на снижение интенсивности цикла Кребса в результате гибели β - клеток Лангерганса. Использование мелатонина восстанавливает активность фермента и в печени, и в поджелудочной железе.

4. Цитотоксическое действие аллоксана приводит к выраженным патоморфологическим изменениям поджелудочной железы (уменьшению и изменению размеров β - клеток, развитию некроза с образованием пустот, их дегрануляции, склерозу и гиалинозу в строме островков). При использовании мелатонина патологические изменения в поджелудочной железе менее выражены (сосудистые нарушения умеренные, отек носил очаговый характер, некробиоз и некроз не обнаружены, опустошенных и гиализированных островков нет). Репаративные изменения проходят более интенсивно.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Полученные результаты значительно дополняют современные фундаментальные представления о механизмах развития сахарного диабета. Сведения об ингибировании мелатонином домена сукцинатдегидрогеназы можно использовать как сайт воздействия новых противодиабетических лекарственных средств. Результаты исследования могут быть использованы и в научных целях, и для оценки стойких изменений как клинических, так и морфологических проявлений в результате лечения сахарного диабета.

Методология и методы исследования

Экспериментальные данные были получены и обработаны в соответствии со схемой исследования, которая была разработана и утверждена в рамках данной работы. При проведении исследований применялись современные методы анализа: экспериментальный, биохимический, молекулярного моделирования (молекулярный докинг и конформационный анализ), гистологический и статистический. В исследовании было задействовано всего 130 крыс (самцы) линии Wistar, имеющих массу 120 - 150 г. Проводилось несколько серий экспериментов. На первом этапе оценивалась гетерогенность животных к аллоксану. С этой целью из части животных (70 крыс) была образована контрольная группа (n = 10), остальным животным (n = 60), вводили аллоксан в дозе 150 мг/кг.

Проявление клиники заболевания оценивалось по состоянию увеличения мочеобразования (полиурии), неутолимой жажде (полидипсии), нарушению пищевого поведения, проявляющему прожорливостью (полифагии), а также снижению веса и уровню глюкозы в крови. В биохимических исследованиях использовали цельную кровь и сыворотку. Для индивидуального сбора мочи применялись специальные мочесборники. Развитие гипер - или гипогликемической комы как следствие аллоксанового диабета в разные сроки наблюдения привело к гибели 17 % животных. Для оставшихся животных (50 крыс) аллоксан стал причиной развития гетерогенности. Группу животных с высокой уремической чувствительностью (ВУЧ) к аллоксану составили крысы, суточный диурез которых, увеличившись в первые сутки эксперимента, практически не изменился к его окончанию (32 – 107 мл/сут). Низкая уремическая чувствительность (НУЧ) была установлена на 15 – е сутки в группе крыс, у которых секреция мочи снизилась до величин (12 - 14 мл/сут), соответствующих норме.

На втором этапе эксперимента крыс группы с НУЧ И ВУЧ делили на 2 подгруппы. На фоне развившегося диабета в вечернее время суток животным вводили мелатонин. Для крыс первой подгруппы доза составляла 0,1 мг/кг, второй – 1 мг/кг.

В соответствии с задачами исследования во второй серии экспериментов 60 крыс были случайным образом поделены на 4 группы для оценки влияния разных доз мелатонина на здоровых животных.

На 25 - й день животных выводили из эксперимента. Данная процедура проводилась под наркозом путем внутримышечного введения крысам 1 - 4 мг золетила на 100 г веса. Отсутствие реакции на болевые раздражители и степень смыкания век использовались для констатации глубины наркоза.

Степень достоверности и апробации работы

Обоснованность выводов и степень достоверности обеспечиваются использованием современных апробированных биохимических методов измерений, проведением калибровочных измерений правильно выбранным методом статистической обработки результатов исследования и воспроизводимостью полученных результатов.

Диссертационное исследование выполнено в рамках комплексной темы научно – исследовательской работы кафедр общей и биологической химии и оперативной хирургии и топографической анатомии (номер темы - АААА – А20 – 120111390042 – 6 «Особенности течения экспериментального аллоксан – индуцированного сахарного диабета и методы его коррекции») в соответствии с планом научно – исследовательских работ ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России.

Основные результаты диссертационной работы докладывались и обсуждались на международных, российских и региональных конференциях. Они были представлены на международной конференции, посвященной 85 - летию СКФУ, 45 -ю кафедры анатомии и физиологии, единению научного сообщества физиологов России и Республики Беларусь (Ставрополь, 2015); форуме «50 лет дополнительному профессиональному медицинскому образованию на Северном Кавказе» (Ставрополь, 2015); 12 - й научно-практической конференции врачей Карачаево - Черкесской республики с международным участием «Современные проблемы клинической медицины» (г. Черкесск, 2016); международной научно -

практической конференции «Теоретические и прикладные вопросы науки и образования (Тамбов, 2018); XI Российской научно – практической конференции с международным участием «Здоровье человека в XXI веке» (Казань, 2019); IV международной научной Интернет - конференции. «Физико - химическая биология» (Ставрополь, 2019); межвузовском научном конгрессе «Высшая школа: научные исследования» (Москва, 2020); Международной конференции «Process management and scientific developments». (Birmingham, United Kingdom, 2020).

Внедрение результатов исследования

Данные исследования могут быть использованы в научных целях для оценки стойких изменений клинических и морфологических проявлений при сахарном диабете»

Полученные результаты используются на кафедрах общей и биологической химии, клинической биохимии, эндокринологии, детской эндокринологии и патофизиологии, патологической анатомии Ставропольского государственного медицинского университета в курсе лекций, а также в кабинете «Школа диабета» ГБУЗ СК «Краевая клиническая больница» - проект для тех, кто хочет узнать об этом заболевании больше.

Публикации

По теме диссертационного исследования опубликовано 16 научных работ, в том числе 3 – в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий или входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, и издания, приравненные к них.

Личный вклад автора в исследование заключается в непосредственном его участии во всех этапах выполнения работы. Соискателем предложен алгоритм исследования (85 %), проведены обзор современной литературы (95 %), лабораторные исследования и статистическая обработка полученных данных (95 %). Автором самостоятельно осуществлены интерпретация результатов и их оформление. В совместных публикациях вклад автора – 50 – 80 %.

Структура и объем диссертации

Структура диссертационной работы включает введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследований, три главы собственных результатов, общее заключение, выводы, практические рекомендации и список цитируемой литературы. Общий объем работы составляет 148 страниц. Иллюстрационный материал включает 32 рисунка и 10 таблиц. Список литературы включает 127 отечественных и 156 зарубежных источников.

ГЛАВА 1
СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД НА ПАТОГЕНЕЗ САХАРНОГО ДИАБЕТА И БИОЭНЕРГЕТИЧЕСКАЯ КОНЦЕПЦИЯ
(обзор литературы)

1.1. Патогенез сахарного диабета и методы его коррекции

Сахарный диабет (СД) является достаточно распространенным системным заболеванием человека, характеризующимся высокой частотой, тяжестью и прогрессированием различных осложнений, приводящих к повышению уровня инвалидизации, смертности населения РФ и других стран [T.H. Champney et al., 1985; И.В. Пак и соавт., 2013; А.Е. Южакова и соавт., 2018; О.В. Кокорев и соавт., 2018; А.Ю. Жариков и соавт., 2019]. По данным международной Федерации диабета, в настоящее время более 382 млн. человек в мире страдают СД (каждый 11 - й житель в развитых странах мира) [K. Ogurtsova et al., 2017]. Ежегодно число заболевших возрастает на 5 – 7 %, удваиваясь за 15 - 17 лет [А.Б. Лисицын и соавт., 2017]. К 2035 г. количество больных с данной патологией достигнет 592 млн. [Р.У. Островская и соавт., 2017; I. Ismawati et al., 2019], тем самым значительно увеличивая затраты системы здравоохранения [T. Seuring et al., 2015].

В связи с нарастающей распространенностью ООН предложила отнести СД к "неинфекционным эпидемиям XXI века" [Р.У. Островская и соавт., 2017]. Наибольшая опасность СД связана с его осложнениями, в частности, диабетической нефропатией [С.Г Дзугкоев и соавт., 2016; И.М. Быков и соавт., 2017; И.И. Дедов и соавт., 2017; И.Г. Данилова и соавт., 2018; GE Fouli et al., 2018; С.О. Филонова и соавт., 2019], диабетической невропатией, ретинопатией, замедленным заживлением ран [JM. Forbes et al., 2013; Е.А. Смирнова и соавт., 2014; А.Ф. Кучерявенко и соавт., 2015; Б.У. Марданов и соавт., 2015; Н.П. Микаелян и соавт., 2017; И.Н. Тюренков и соавт., 2017; R. Goto et al., 2019], нейропатическими осложнениями (диабетическая энцефалопатия, депрессивные расстройства) [А. Ресниченко и соавт., 2011; И.В. Пак и соавт., 2013; А.С. Супрун и соавт., 2014; А.О. Шпаков и соавт., 2014].

Для оптимизации сложившейся ситуации: уменьшения заболеваемости СД, нивелирования его осложнений, повышения эффективности лечения - необходимы дальнейшее изучение и уточнение механизмов патогенеза СД, поиск эффективных методов коррекции, основанных на современных экспериментальных и клинических исследованиях, что делает нашу работу актуальной и своевременной.

Сахарный диабет – это метаболическое заболевание, основной признак которого – хроническая гипергликемия, являющаяся следствием нарушения секреции инсулина и его действия или обоих этих эффектов [Н.П. Микаелян и соавт., 2015; L. Rochette et al., 2015; Е. А. Алексеенко и совт., 2017: SB Mustafa et al., 2019]. При возникновении СД первого типа (СД1) исследователи выделяют аутоиммунные нарушения, вирусные инфекции, токсические воздействия, беременность, а при СД 2 типа (СД2) – ожирение, метаболический синдром (МС), дислипидемию, гормональные нарушения, избыточное питание [В.И. Коненков и соавт., 2013; В.О. Смирнова и соавт., 2016; Е.В. Брюхина и соавт., 2018; С.В. Мичурина и соавт., 2018]. Каждый из указанных факторов может стать причиной развития заболевания [П.И. Сидоров и соавт., 2008].

СД1 является болезнью, вызванной деструкцией β - клеток поджелудочной железы [E. Badami et al., 2011; MA Quera-Salva et al., 2012; F. Vendrame et al., 2012; И А. Волчегорский и соавт., 2014; Д.А. Куликов и соавт., 2014; L. Rochette et al., 2015], приводящей к развитию дефицита инсулина, гипергликемии и формированию хронических осложнений [T. Chen et al., 2015; A. Al-Awar et al., 2016; Т.С Булавинцева и соавт., 2018].

Причиной возникновения СД2 является нарушение восприимчевости клеток и тканей к инсулину либо его неадекватной секрецией, приводящей к гипергликемии [YS Oh, 2015; M. Kitada et al., 2016]. По данным различных источников, 80 – 95 % случаев относятся именно к СД2 [A. Gorąca et al., 2011; Р.У

Островская и соавт., 2017]. Сахарный диабет второго типа связан с поражением β - клеток поджелудочной железы и уменьшением продукции инсулина. Функциональную недостаточность β - клеток Лангерганса компенсируют введением препаратов инсулина [И.А. Волчегорский и соавт., 2014]. Однако следует отметить, что несмотря на различие механизмов повреждения инсулярного аппарата при СД1 и СД2, эти процессы всегда связаны с развитием окислительного стресса (ОС) [KM Desai et al., 2010; K. Takitani et al., 2014; И.А. Волчегорский и соавт., 2014; Д.А. Куликов и соавт., 2014]. ОС рассматривается как наиболее важный патогенетический фактор, лежащий в основе СД и диабетических осложнений [А.О. Шпаков и соавт., 2014; BS Karam et al., 2017; SL Volpe et al., 2017; И.Н. Тюренков в соавт., 2017], однако до сих пор остается спорным, является он простой агрегацией воспалительно-индуцированных реакций или клинической сущностью, лежащей в основе различных патофизиологических факторов развития СД [K. Rehman et al., 2017].

Все больше исследований [KM Desai et al., 2010; В.З. Ланкин и соавт., 2012; L. Rochette et al., 2013; Е.В. Шахристова и соавт., 2014; Н.П. Микаелян и соавт., 2015; K. Rehman et al., 2017] находит доказательства того, что избыточная генерация свободных радикалов крайне токсична для клеток, так как повреждает клеточные мембраны, взаимодействуя с остатками ненасыщенных жирных кислот мембранных липидов.

К таким радикалам относят супероксидный анион - радикал кислорода, гидроксильный радикал и пероксильный радикал. Считается, что основной причиной повреждений в клетке является именно гидроксил - радикал, который может атаковать любую углерод - водородную или углерод - углеродную связь. Однако существуют работы, где первичным считают токсичность перекиси водорода, которая образуется в клетке при неполном восстановлении кислорода в случае присоединения только двух электронов, а в случае присоединения одного электрона – супероксидный радикал [K. Rehman et al., 2017; О.В. Занозина, 2010, B. Huang et al., 2018].

АФК выступают одним из главных индукторов запрограммированной гибели клеток, происходящей с вовлечением протеолитических ферментов (каспаз), которые подразделяются на инициаторы, эффекторы и стимуляторы. Активация каспаз запускает последовательность протеолитических реакций [Е.А. Мартынова, 2012], ответственных за обеспечение жизненно важных процессов, ведущих к гибели клетки [С.С. Попов и соавт., 2017]. В зависимости от энергетического статуса клетки дисфункция может привести к ее гибели по механизму апоптоза или некроза [TH Champney et al., 1985; J. Cipolla - Neto, 2014; Q. Cao et al., 2015; Е.В. Брюхина и соавт., 2018; С.В. Мичурина и соавт., 2018]. Апоптоз инсулин - продуцирующих β - клеток поджелудочной железы может быть связан с дефицитом нейротрофических факторов, NGF, BDNF [Р.У. Островская и соавт., 2017].

В настоящее время огромное количество заболеваний человека связывают с мутациями митохондриальных генов, приводящими к снижению способности клеток синтезировать АТФ. Причиной может стать повреждение митохондриальных мембран клеток, приводящее к нарушению сопряженности между окислительно - восстановительными процессами и фосфорилированием [С.В. Мичурина и соавт., 2018]. Следовательно, β - клетки не могут генерировать АТФ выше порогового значения, в результате нарушается процесс синтеза инсулина, и развивается диабет. Существуют научные данные [E. Dehdashtian et al., 2018], свидетельствующие, что гипергликемия, ассоциированная с СД, приводит к дисфункции митохондриальной цепи переноса электронов и повреждению таких митохондриальных структур как мембраны, белки, мтДНК [В.И. Жилюк и соавт., 2010; Э.В. Супрун, 2010; JS Bhatti et al., 2017]. Существует немало работ, где изменения количества и размеров митохондрий, а также ряд других морфологических признаков (повышение прозрачности, фрагментацию и вакуолизацию) указываются как причины, приводящие к гипоэнергетическому состоянию митохондрий при СД. Отмечается корреляция изменений в энергопотреблении с тяжестью метаболических изменений, что подчеркивает связь между энергетическими и обменными нарушениями [JS Bhatti et al., 2017].

В последние годы установлено, что в ОС, вызванном гипергликемией, значительную роль играют не только АФК, но и соединения азота (моно - и диоксид азота), повышенная продукция которых при СД показана в ряде работ [Э.В. Супрун, 2010; Л.М. Белкина и соавт., 2013; P. Tripathi et al., 2014; В.Н. Шишкова, 2015; B. Speckmann et al., 2016]. В исследованиях отечественных и зарубежных авторов [Э.В. Супрун, 2010; Л.М. Белкина и соавт. 2013; B. Speckmann et al., 2016] отмечается, что пероксинитрит наносит как окислительные, так и нитрозативные повреждения основаниям ДНК, создавая абазические участки, что приводит к разрывам одной цепи, вызывает повреждение клеток и нарушение биохимических процессов [P. Tripathi et al., 2014], запускающих каскад энергетических нарушений [Э.В. Супрун, 2010]. Биологические эффекты пероксинитрита включают также образование 3-нитротирозильных фрагментов в белках. Как следствие такие белки теряют свою активность, приобретают измененную функцию или становятся склонными к протеолитической деградации, что приводит к модуляции оборота клеточного белка и сигнальных каскадов [B. Speckmann et al., 2016]. Описанные результаты дают основание предположить, что активные формы азота играют большую роль в патогенезе диабета, чем АФК [Л.М. Белкина и соавт., 2013; Р.У. Островская и соавт., 2017].

При СД нарушается активность как ферментативной (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза, глутатионтрансфераза, церулоплазмина, гемосодержащие пероксидазы), так и неферментативной (аскорбат, витамин Е, восстановленный глутатион, коэнзим Q, мочевая кислота, билирубин) части антиоксидантной системы защиты [BC Callaghan et al., 2012; С.Г. Дзугкоев и соавт., 2012]. Это способствует возникновению окислительного стресса, нарушает структуру белков, что приводит к изменению каталитической, регуляторной, транспортной и рецепторной функций белков [Н.П. Микаелян и соавт., 2014; Е.В. Шахристова и соавт., 2014; Е.В. Шахристова и соавт, 2014].

Развитие СД связано также с повышением уровня свободных жирных кислот (ЖК), приводящим к усилению инсулинорезистентности (т.к. нарушается их активный рецепторный транспорт в составе липопротеинов), истощению инсулярного ответа, стойкой гипергликемии [Т.Р. Новгородцева и соавт., 2010; Е.В. Шахристова и соавт., 2014; Н.П. Микаелян и соавт., 2015] и как следствие - нарушениям углеводного и липидного обмена [K. Spiegel et al., 2009; А.С. Супрун и соавт., 2014; В.О. Смирнова и соавт., 2016; Н.П. Микаелян и соавт., 2017]. В работе В.Б. Гриневич с соавторами [В.Б. Гриневич и соавт., 2015] отмечается, что в патогенезе инсулинорезистентности важную роль играют противовоспалительные цитокины, адипоцитокины и факторы транскрипции, изменения в которых ведут к снижению синтеза гликогена, активации гликогенолиза и глюконеогенеза.

Согласно исследованиям [О.Ю. Сухарева и соавт., 2012; И.Н. Тюренков и соавт., 2017], при СД наблюдаются нарушения в работе системы инкретинов: снижается концентрация ГПП - 1 при сохранении его биологической активности, при этом уровень глюкозозависимого инсулинотропного полипептида остается в пределах нормы, но понижается его физиологический эффект. В регуляции секреции инкретинов участвует ряд рецепторов (GPR40, GPR41, GPR43, GPR119, GPR120 и др.), некоторые из которых обнаруживаются и на β - клетках поджелудочной железы.

А.Б. Лисицын с соавторами [2017] обращают внимание, что, помимо гипергликемии, СД проявляется нарушениями жирового, белкового и минерального обмена. В частности, деформированный минеральный обмен вносит определенный вклад в патогенез данного заболевания и может изменить ответ на лекарственное воздействие [К.С. Эльбекян и соавт., 2011].

Для изучения специфичности патогенеза СД применяют различные экспериментальные модели. Одним из химических веществ, применяемых при моделировании СД, является аллоксан (2, 4, 5, 6 - тетраоксипиримидин, 5, 6 - диоксиурацил) [A. Al-Awar et al., 2016, Н.Н. Васильева и соавт., 2014]. Wöhler и Liebig ввели дефиницию "аллоксан" и описали его синтез путем окисления мочевой кислоты. Диабетогенные свойства данного вещества были открыты JS Dunn, HL Sheehan и NGB McLethie, с тех пор аллоксановый диабет широко используется в качестве животной модели СД [JS Dunn et al., 1943]. Типы диабета (СД1, СД2, латентный СД и т.д.) можно моделировать с помощью разных доз и способов применеия аллоксана [А.А. Спасов и соавт., 2011].

Аллоксан является нестабильным цитотоксическим соединением, быстро накапливающимся в панкреатических β - клетках благодаря облегченной диффузии, опосредованной транспортером глюкозы - 2 (GLUT2) [MJ Gan et al., 2012]. Генерация супероксидных радикалов и перекиси водорода вызывается окислением аллоксана в диалуровую кислоту [И А. Волчегорский и соавт., 2014; Е.В. Шахристова и соавт., 2014; Т.С. Булавинцева и соавт., 2018], инициирующим ПОЛ [Н.Н. Васильева и соавт., 2014]. Возможно, что повышенная активность ПОЛ приводит к снижению активности Na^+, K^+ - АТФ - азы и нарушению инсулинсвязывающей способности рецепторов в цитоплазматических мембранах клеток [V. Saio et al., 2012].

В.В. Иванов с соавторами [В.В. Иванов и соавт., 2011] подтверждают, что при аллоксан-индуцированном диабете свободные радикалы активируют окисление полинасыщенных жирных кислот в фосфолипидах мембран клеток, вызывают окислительную модификацию белков, в том числе участвующих в трансдукции гормональных сигналов, а также повреждают молекулы ДНК. В качестве тиолового реагента аллоксан также избирательно ингибирует индуцированную глюкозой секрецию инсулина благодаря своей способности подавлять глюкокиназу датчика глюкозы β - клеток [KM Lee et al., 2010].

Некоторые исследователи [С.Г. Дзугкоев и соавт 2010; CH Leo et al., 2011; Е.А. Смирнова и соавт., 2015] при моделировании СД отмечают дефицит и снижение биодоступности оксида азота и образования пероксинитрита, обладающего более высокой реакционной способностью. Такие реакции вызывают повреждение, мутации различных генов и запускают апоптоз.

Описанные процессы моделируют ОС - индуцированную деструкцию β - эндокриноцитов с последующим развитием аллоксанового диабета [В.В. Иванов и соавт., 2011; V. Saio et al., 2012; Е.В. Шахристова и соавт., 2014; Е.А. Смирнова и соавт., 2015]. Р.Э. Джафарова [Р.Э. Джафарова, 2013].

Анализ литературных источников, посвященных исследованию аллоксан-индуцированного диабета, позволил выделить следующие особенности течения заболевания у животных:

- снижение величины отношения восстановленной формы трипептида к окисленной, что свидетельствует о сокращении редокс - потенциала системы глутатиона в жировой ткани крыс с аллоксановым диабетом [Е.В. Шахристова и соавт., 2014];

- нарушение редокс - состояния системы глутатиона и повышение активности спонтанного липолиза в адипоцитах крыс при действии различных концентраций аллоксана [В.В. Иванов и соавт., 2011], вызывающих дисфункцию дыхательной цепи - дисбаланс энергетических процессов в клетке [J. Curtis et al., 2010];

- увеличение концентрации битирозина, окисленного триптофана, карбонильных производных белков при спонтанных и металлкатализируемых процессах [Е.В. Шахристова и соавт., 2014].

Подводя итог, необходимо отметить, что высокий уровень распространенности СД, смертность и инвалидизация от его осложнений обусловливают необходимость дальнейшего изучения и уточнения патогенеза заболевания и выявления методов лекарственной коррекции и лечения [Н.П. Микаелян и соавт., 2014; T. Seuring et al., 2015; С.О. Филинова и соавт., 2019].

Нарушение функций β - клеток Лангерганса всегда связано с локальным развитием ОС [KM Desai et al., 2010; И.А. Волчегорский и соавт., 2014; Д.А. Куликов и соавт., 2014; K. Takitani et al., 2014], причиной которого является продолжительная гипергликемия [И.А. Волчегорский и соавт., 2013; T. Chen et al., 2015; A. Al - Awar et al., 2016; Т.С. Булавинцева и соавт., 2018], приводящая к увеличению уровня свободных радикалов, содержания в крови и тканях продуктов ПОЛ и снижению мощности системы антиоксидантной защиты [О.В. Занозина, 2010; В.В. Иванов и соавт., 2011; BC Callaghan et al., 2012 ; Н.П. Микаелян и соавт., 2014; N. Sinha et al., 2015; В.Н. Шипилов и соавт., 2016; А.Б. Лисицын и соавт., 2017; M. Zhang et al., 2017].

В этой связи значимым направлением развития научных исследований становятся аллоксан-индуцированные модели СД, имеющие два отчетливых патологических эффекта: селективное ингибирование индуцированной глюкозой секреции инсулина через специфическое подавление глюкокиназы и генерацию свободных радикалов с модулированием ОС - индуцированной деструкции β - эндокриноцитов [V. Saio et al., 2012; И.А. Волчегорский и соавт., 2014; Е.В. Шахристова и соавт., 2014; Т.С. Булавинцева и соавт., 2018], а также разработка, тестирование, применение веществ, которые не только снижают уровень глюкозы до нормы, но и сдерживают образование свободных радикалов на низком уровне, повышают активность системы антиоксидантной защиты, тем самим препятствуют развитию и прогрессированию СД [О.В. Занозина, 2010; И.В. Пак и соавт., 2013].

1.2. Антиоксидантная терапия сахарного диабета

Анализ литературных источников как отечественных, так и зарубежных авторов показывает, что одним из основных патогенетических факторов развития СД является ОС [И.А. Волчегорский и соавт., 2014; N. Sinha et al., 2015; BS Karam et al., 2017; И.Н. Тюренков и соавт., 2017]. В этой связи при планировании и реализации терапевтических мероприятий центр внимания смещается с инсулинотерапии на методы антиоксидантной защиты [Z. Zhang et al., 2011; В.В. Иванов и соавт., 2011; А Ресниченко и соавт., 2011; А.Н. Родин, 2013; Н.П. Микаелян и соавт., 2014; G. Favero et al., 2014; N. Sinha et al., 2015].

Препараты, ограничивающие активность процессов свободнорадикального окисления, широко используются для фармакологической коррекции окислительного стресса при сахарном диабете [T. Gürpinar et al., 2012; В.Н. Шишкова, 2015; H. Sies, 2015]. Использование антиоксидантов совместно с традиционными методами лечения может увеличить эффективность использования основных препаратов [А.С. Аметов и соавт., 2011]. Известны антиоксиданты «мусорщики», которые очищают организм от всех свободных радикалов, «ловушки», имеющие сродство к какому - то определенному свободно - радикальному продукту, и антиоксиданты, обрывающие цепи. Степень выраженности их антиоксидантного действия может зависеть от среды или органа, где реализуется антиоксидантный эффект [В.Н. Шишкова, 2015].

Эмоксипин, реамберин, мексидол достоверно снижают выраженность гипергликемии [И.А. Волчегорский и соавт. 2014]; улучшают состояние углеводного и липидного обмена [И.А. Волчегорский и соавт., 2016]; препятствуют поражению церебральных структур [И.А. Волчегорский и соавт., 2013]; корригируют тревожно - депрессивные расстройства и предотвращают снижение поведенческой активности животных с аллоксановым диабетом [И.А. Волчегорский и соавт., 2015; И.А. Волчегорский и соавт., 2017], вызывают существенное уменьшение проявлений ОС и значимую тенденцию к снижению летальности у мышей и крыс с экспериментальным диабетом [И.А. Волчегорский и соавт., 2014].

В работе И. А. Волчегорского с соавторами [И.А. Волчегорский и соавт., 2014] рассматриваются эффекты реамберина, среди которых выделяют: церебропротективную активность (однократное введение препарата через 72 часа после инъекции аллоксана привело к увеличению продолжительности гаспинга в 2,2 - 2,8 раза), антиишемическое действие, связанное с выраженной антигипоксической активностью ЛС, а также снижение показателей гликемии у животных с аллоксан - индуцированным диабетом.

Наиболее выраженную антиоксидантную активность, согласно некоторым работам [И.А. Волчегорский и соавт., 2014; В.Н. Шишкова, 2015], имеет мексидол. Механизм действия мексидола обусловлен антиоксидантными и мембранопротекторными свойствами, проявляющимися уменьшением вязкости мембраны и ее стабилизацией, ингибированием процессов ПОЛ, повышением активности супероксидоксидазы. Под действием препарата повышается также устойчивость к стрессу [А.Н. Родин, 2013; В.Н. Шишкова, 2015].

К препаратам группы антиоксидантов относят и димефосфон, аплегин [А.Н. Родин, 2013], оказывающие достоверное влияние на процессы свободнорадикального окисления. Среди современных противодиабетических препаратов особое место занимают инкретиномиметики, поскольку, помимо гипогликемического эффекта, связанного с пролонгацией (ингибиторы дипептидилпептидазы - 4) или имитацией (синтетические аналоги глюкагоноподобного пептида - 1) физиологического действия инкретинов, инкретиномиметики обладают целым рядом протекторных антиоксидантных эффектов [И.Н. Тюренков и соавт., 2017]. Системное введение этих препаратов приводило к достоверному снижению индекса апоптоза и увеличению индекса пролиферации β - клеток [Г.Л. Снигур и соавт., 2010].

И.Н. Тюренков с соавторами [И.Н. Тюренков и соавт., 2017] провели оценку влияния нового антагониста GPR119 рецептора - соединения ZB - 16, получив следующие результаты: после 2 - недельного применения соединения у крыс фиксировали менее выраженные нарушения липидного обмена, гипогликемическое, гиполипидемическое, эндотелиопозитивное действие ZB - 16, а также статистически значимое снижение концентрации ТБК - активных продуктов, связанное с антиоксидантным действием средства.

После изучения антиоксидантных свойствах α - липоевой (1,2 – дитиолан – 3 - пентаноевая) кислоты появились публикации о возможностях ее использования в лечении СД [А. Ресниченко и соавт., 2011; В.А. Сергиенко и соавт., 2013; L. Rochette et al., 2013; T. Gao et al., 2019; И.А. Волчегорский и соавт., 2016; I. Ismawati et al., 2019; S. Pieralice et al., 2018]. А - липоевая кислота, синтезируясь из октановой кислоты в митохондриях, ковалентно связана с ε - аминогруппой остатков лизина и функционирует как кофактор для митохондриальных ферментов, катализируя окислительное декарбоксилирование пирувата, α - кетоглутарата и разветвленной цепи α - кетокислот [A. Gorąca et al., 2011]. α - липоевая кислота играет важную роль в митохондриальных биоэнергетических реакциях, обеспечивая энергетический баланс митохондрий [L. Rochette et al., 2015].

L. Rochette с соавторами [2013] отмечают, что редокс - потенциал α - липоевой кислоты (- 320 мВ) меньше, чем у глутатиона (- 280 мВ), что позволяет данной кислоте регенерировать глутатион. Исследователи высказывают мнение о способности данной кислоты соответствовать редокс - статусу между различными субклеточными компартментами так же, как и внеклеточно, что является важным для антиоксидантной защиты [L. Rochette et al., 2013].

Данная кислота транспортируется во внутриклеточные компартменты и восстанавливается под действием ферментов до дигидролипоевой кислоты [L. Rochette et al., 2015], отвечающей всем критериям идеального антиоксиданта в биологических системах посредством захвата свободных радикалов, через хелатирование переходных металлов, репарацию окисленного белка [Г.Л. Снигур и соавт., 2010; S. Golbidi et al., 2011; L. Rochette et al., 2013]. Кроме того, как окисленные (дисульфидные), так и восстановленные (Ди - тиол: дигидролипоевая кислота, DHLA) формы α - липоевой кислоты проявляют антиоксидантные свойства [L. Rochette et al., 2013].

Исследования A. Gorąca с соавторами [A. Gorąca et al., 2011] показывают, что α - липоевая кислота имеет амфифильный характер, не проявляет никаких серьезных побочных эффектов, а взаимодействуя с другими антиоксидантами, способна регенерировать их. Кроме того, во многих работах указывается, что α - липоевая кислота участвует в регуляции транскрипции генов, связанных с антиоксидантными и противовоспалительными путями [S. Park et al., 2014], и ингибирует активацию ядерного фактора kB [S. Golbidi et al., 2011]. Нормализация же метаболизма глюкозы, возможно, происходит благодаря изменению чувствительности рецепторов к инсулину с повышением транскрипционной активности генов клеточных транспортеров глюкозы (GLUT1, GLUT4) [А. Ресниченко и соавт., 2011]. Применение α - липоевой кислоты при аллоксан-индуцированном диабете привело к достоверной коррекции гипергликемии, гиперхолестеринемии и гипертриглицеридемии у больных животных [О.В. Занозина, 2010; L. Rochette et al., 2015; И.А. Волчегорский и соавт., 2016], снижению уровня в плазме триглицеридов, свободных жирных кислот и кетоновых тел [MP Valdecantos et al., 2019], а также повышению толерантности к глюкозе, снижению гипергликемии, повышению активности супероксиддисмутазы крови, каталазы, глутатионпероксидазы и уровня глутатиона, повышению антиоксидантного статуса [NP Sudheesh et al., 2011].

На моделях СД1 и СД2 [Г.Л. Снигур и соавт., 2010] показано, что гипогликемическая активность α - липоевой кислоты обусловлена активацией трансмембранного транспорта глюкозы и рецептора инсулина**,** запускающего каскад биохимических реакций, в т.ч. фосфорилирование других белков внутри клетки. Так, например, японские ученые [Y. Naito et al., 2014] выяснили, что включение в рацион мышей-самцов комплекса α - липоевой кислоты подавляло проявление гипергликемии и уменьшало содержание глюкозы в крови натощак. Другие работы [S. Golbidi et al., 2011] свидетельствуют о снижении концентрации маркеров ОС после введения липоевой кислоты в дозе 100 мг/кг/сут в течение 8 недель крысам с СД1.

Важное место в антиоксидантной терапии СД занимает α - токоферол (преобладающей изоформой данного витамина в живом организме является α - токоферол) [K. Takitani et al., 2014; M. Noguchi et al., 2018]. Как антиоксидант α - токоферол участвует в различных метаболических системах, включая регуляцию экспрессии генов и ингибирование пролиферации клеток [С.С. Попов и соавт., 2015]. Витамин Е защищает внутренние митохондриальные мембраны, а также лизомы от агрессивного действия АФК, способствует функциональной целостности внешней цитоплазматической мембраны клеток, а также эффективно обрывает свободнорадикальные цепные реакции в процессах ПОЛ в мембранах, предупреждает повышенное образование липопротеинов низкой плотности [С.С. Попов и соавт., 2015]. Обладает терапевтическим потенциалом в ингибировании апоптоза в условиях высокого уровня глюкозы и гипоксии [Z. Wu et al., 2018].

В настоящее время в научной среде сохраняется устойчивый интерес к использованию лекарственных свойств растений в терапии СД и его осложнений [Э.Б. Арушанян и соавт., 2015]. Выявлено более 400 видов растений, обладающих как антигипергликемической [DK Patel et al., 2012; A. Khaki, et al., 2014; SB Mustafa et al., 2019], так и антиоксидантной активностью, эффективность применения которых хорошо документирована в клинических исследованиях [H. Abunab et al., 2017; SK Middha et al., 2019].

Анализ научных публикаций позволил выделить ряд источников [S. Kumari et al., 2012; PV Babu et al., 2013; K. Hatware et al., 2014; В.К Мазо и соавт., 2015; В.К Мазо и соавт., 2016; HM Edit et al., 2017], посвященных флавоноидам и их роли в лечении СД. Полифенолы растительного происхождения действуют на различные молекулярные мишени и регулируют сигнальные пути в β - клетках поджелудочной железы, гепатоцитах, адипоцитах и скелетных миофибрах [PV Babu et al., 2013; HM Edit et al., 2017] благодаря своим антиоксидантным свойствам.

По данным исследований, флавоноиды оказывают позитивное влияние при аллоксан-индуцированном СД путем: усиления секреции инсулина, снижения апоптоза и стимулирования пролиферации β - клеток поджелудочной железы [R. Kumar et al., 2015]; снижения гипергликемии за счет регуляции метаболизма глюкозы в гепатоцитах [S. Kumari, et al., 2012]; уменьшения инсулинорезистентности, воспаления и ОС в мышцах и жировой ткани [K. Hatware et al., 2014]; увеличения поглощения глюкозы в скелетных мышцах и белой жировой ткани; воздействия на рецепторы клеточных мембран, изменяющих фазовое состояние липидов и их структуру [T. Bohn et al., 2014]; положительного влияния на сигнальные системы клетки [В.К Мазо и соавт., 2016].

Одним из природных биохимических веществ группы флавоноидов является кверцетин, способность которого ингибировать противовоспалительные цитокины рассматривается в работах зарубежных авторов [KM Lee et al., 2010; S. Chen et al., 2016; M. Zheng et al., 2016]. Отмечается, что шестинедельная доза (150 мг) кверцетина, принимаемая ежедневно людьми, значительно снижает концентрацию цитокинов TNF - α в сыворотке крови [T. Chen et al., 2015]. Кроме того, кверцетин также уменьшает гистопатологическое повреждение поджелудочной железы и снижает уровень мРНК и белка NF - kB, IL - 1β, IL - 6 и TNF - α у крыс [Z. Zhang et al., 2011], а также улучшает утилизацию глюкозы в периферических тканях [K. Hatware et al., 2014; HM Edit et al., 2017].

Значительное число работ посвящено исследованию эффектов зеленого чая [YS Tarahovsky et al., 2008; Z. Zhang et al., 2011; JM Meng et al., 2019], т.к. катехины и их олигомерные формы являются флавоноидами [В.К. Мазо и соавт., 2016]. Механизм их действия - через транскрипционный фактор NF - кB, отвечающий за экспрессию генов иммунного ответа и апоптоза [Z. Zhang et al., 2011]. Существует ряд работ, подтверждающих, что эпигаллокатехин - галлат способен восстановить синтез инсулина и сохранить β - клетки поджелудочной железы от действия IL - 1р и TNF - а и [YS Tarahovsky et al., 2008; JM Meng et al., 2019]. Возможно, что это связано со снижением уровня продуктов окисления АФК и окиси азота [Z. Zhang et al., 2011].

В работах зарубежных авторов рассмотрено действие растительных препаратов на аллоксан - индуцированный диабет: Panax ginseng обладает гепато - и ренопротекторным эффектом [GO Adam et al., 2019]; экстракт Cnidoscolus aconitifolius улучшает гематологические показатели у крыс [Ol. Azeez et al., 2010], обладая антигиперхолестеринемическим, антигликемическим, инсулино - иммуномодулирующим свойствами, [NK Arch et al., 2017]; защитным антиоксидантным эффектом обладает Lavandula stoechas [H. Sebai et al., 2013]; отмечено снижение кровяного давления в эксперименте с использованием Aegle marmelos у мышей, антигипергликемическое действие Curcuma longa [P. Faizal et al., 2009; SB Mustafa et al., 2019], экстрактов Aegle marmelos [R. Bhavani et al., 2014] и Glycyrrhiza glabra, защитный эффект и терапевтическое воздействие корней Pandanus fascicularisLamk [S. Kumari et al., 2012] и надземных частей Caralluma europaea [C. Choinacki et al., 2011] за счет снижения ОС.

Способность водного экстракта листа Gongronema Latifolium Benth (Asclepiadaceae) к уменьшению гипергликемии до нормогликемии доказывается в работе B.O. Ajiboye с соавторами [BO Ajiboye et al., 2019]. Указанные эффекты объясняются ингибированием глюкозы из кишечника, увеличением числа рецепторов инсулина для повышения чувствительности тканей - мишеней к уровню инсулина. Кроме того, исследование показало модулирующее влияние на уровень экспрессии гена печеночной гексокиназы и глюкозо – 6 - фосфатазы, регенерацию поврежденных β - клеток в аллоксан - индуцированной диабетической модели животных [BO Ajiboye et al., 2019].

Применение экстракта Momordica cymbalaria подтверждает гипогликемический, гиполипидемический и антиоксидантный эффекты указанного растения, основанные на улучшении толерантности к глюкозе и измененной активности печеночных ферментов (уровни АСТ, АЛТ и АЛП у диабетических крыс) [A. Elangovan et al., 2019].

Результаты работы S.K. Middha с соавторами [SK Middha et al., 2019] демонстрируют, что применение экстракта листьев Hippophae salicifolia у здоровых и аллоксан - индуцированных диабетических крыс линии Вистар значительно снижает (22 и 39 % соответственно) уровень глюкозы крови натощак, повышает уровень эндогенных антиоксидантных ферментов, супероксиддисмутазы (50 и 74 % соответственно), глутатионпероксидазы (57 и 41 % соответственно) и снижает уровень малонового диальдегида (33 и 15 %

соответственно), подтверждая усиление антиоксидантной защиты против АФК, продуцируемых в условиях гипергликемии.

Клеродановый дитерпеноид сальвифолин (выделенный из Pulicaria salviifolia), обладая гипогликемическим эффектом, нормализует метаболические процессы организма при экспериментальном СД. В условиях in vivo и in vitro показывает способность корригировать вызванные СД функциональные нарушения митохондрий [М.И. Асраров и соавт., 2018].

Особый интерес исследователей вызывают органические фенолы и различного рода дубильные вещества, содержащиеся в ягодах и листьях различных растений. Так, например, при обогащении рациона мышей линии КК - Ау экстрактом черники наблюдается увеличение активности АМФ - зависимой протеинкиназы в тканях, зависящих от транспортера глюкозы GLUT - 4, приводящей к снижению гипергликемии и повышению чувствительности к инсулину, а также повышению мощности системы антиоксидантной защиты организма [G. Gravotto et al., 2010; M. Takikawa et al., 2010]. Экстракт из листьев черники уменьшает содержание триглицеридов, снижает степень перекисного окисления липидов печени с уменьшением размеров самих адипоцитов, ингибированием и значительным снижением экспрессии специфичных транскрипционных факторов для адипоцитов и возрастанием экспрессии мРНК адипонектина [IC Lee et al.,2014].

Активно изучаются антиоксидантные свойства фасоли, в частности, ее створок, содержащих проантоцианидины, полифенолы, танины, фитиновую кислоту, антоцианы, сапонины, флавонолы (кемпферол) и гликозиды кверцетина [LG Ranilla et al., 2010], которые способны снизить процессы ПОЛ и повысить активность ферментов антиоксидантной защиты (супероксиддисмутазы, каталазы и глутатионпероксидазы) в печени [LG Ranilla et al., 2010].

С.В. Тишковец с соавторами [С.В. Тишковец и соавт., 2019] рассматривают тиреофит – комплексное растительное средство, проявляющее выраженные антиоксидантные и антирадикальные свойства: предотвращает окисление β -

каротина от перекисной деструкции и ингибирует деградацию липопротеидов при металлкатализируемом окислении; обладает Fe^{2+} - хелатирующей активностью.

В.В. Малинин, Т.Н. Саватеева-Любимова, К.В. Сивак [В.В. Малинин и соавт., 2013] свидетельствуют о гиполипидемическом и гипогликемическом действии пептида LYS – GLU – TRP - NH2, обусловленном прежде всего его стимулирующим влиянием на процессы репаративной регенерации клеток поджелудочной железы и печени, нормализацией активности системы антиоксидантной защиты организма. В клинических исследованиях отмечено, что применение аналогов глюкагоноподобного пептида и ингибиторов ДПП - 4 приводит к нормализации липидного профиля [P. Anagnostis et al., 2011; D. Lorber et al., 2013].

В экспериментах Островской Р.У. с соавторами выявлена способность пролинсодержащего дипептида ноопепта (этиловый спирт N – фенилацетил – L - пролилглицерин) изменить соотношение про - и антиоксидантных систем в сторону преобладания активности последних [Р.У. Островская и соавт., 2014]. Под влиянием препарата выраженность гипергликемии и гипоинсулинемии ослабляется, характерные для СД проявления окислительного и нитрозативного стрессов устраняются, проявляется цитопротективное действие, заметно восстанавливаются количество β - клеток поджелудочной железы и их инсулин-продуцирующая функция [Р.У. Островская и соавт., 2017].

Одним из способов коррекции метаболических нарушений при СД является использование в комплексной терапии аминокислоты таурина. [М.Е. Стаценко и соавт., 2017]. Возможно, это связано с ингибированием ангиотензина II, приводящим к инсулиноподобному эффекту. Снижение при этом содержания глюкозы в крови у больных СД может быть связано с антиоксидантным и протекторным свойствами таурина на β - клетки.

Исследования показывают, что введение таурина улучшало активность глюкагона, повышало гликемическую стабильность, изменяло уровень глюкозы, успешно справлялось с гипергликемией через контроль конечного продукта гликирования, улучшало секрецию и резистентность к инсулину [J. Das et al., 2012; A. Inam-U-Llah et al., 2018; IH Lambert et al., 2015], приводило к снижению уровеня общего холестерина, триглицеридов, а следовательно, и к улучшению показателей липидного обмена [Г.И. Нечаева и соавт., 2011; М.Е. Стаценко и соавт., 2014].

В работах С.Г. Дзугкоева с соавторами [С.Г. Дзугкоев и соавт., 2012] показана возможность коррекции осложнений СД различными антиоксидантами (коэнзимом Q10, афобазолом и L - карнитином), способствующими снижению интенсивности ПОЛ, плотности сосудистой стенки, а также возрастанию средней и систолической скоростей кровотока. При введении L - аргинина, согласно работам исследователей [Л.М. Белкина и соавт., 2013; Е.А. Смирнова и соавт., 2015], с применением аллоксан - индуцированных экспериментальных моделей СД наблюдается резкая активация NO - системы, что способствует регенерации β - клеток и их пролиферации.

Таким образом, анализ литературных источников свидетельствует об актуальности изучения, разработки и применения как синтетических, так и природных ЛС [В.З. Ланкин и соавт., 2012; N. Belkheiri et al., 2010], проявляющих не только гипогликемические свойства, но и регулирующих метаболические процессы и активность системы антиоксидантной защиты при СД [А.С. Аметов и соавт., 2011; А.С. Аметов и соавт., 2011; DK Patel et al., 2012; SB Mustafa et al., 2019], снижая уровень свободных радикалов и продуктов ПОЛ, обеспечивая защиту β - клеток островков Лангерганса от повреждения и некроза [H. Sebai et al., 2013; L. Rochette et al., 2015; В.Н. Шишкова, 2015; T. Gürpinar et al., 2019; LA Dra et al., 2019; A. Elangovan, et al., 2019].

1.3. Биологические и терапевтические свойства мелатонина

Мелатонин (МТ) представляет собой основной специфический гормон, продуцируемый эпифизом (шишковидной (пинеальной) железой), который регулирует ряд функций центральной, вегетативной нервной и иммунной систем, эндокринных органов [Э.Б. Арушанян и соавт., 2012; B. Claustrat et al., 2015; Э.Б. Арушанян и соавт., 2016; А.В. Шурлыгина и соавт., 2016; MC Picinato et al., 2008].

Гормон образуется из аминокислоты триптофана в паренхиматозных клетках эпифиза пинеалоцитах в два этапа. Начальный этап – гидроксилирование и превращение тритофана в 5 – окситриптофан, затем после декарбоксилирования – в серотонин (5 - гидрокситриптамин), а затем ацетилируясь N – ацетилтрансферазой лимитирующей скорость биосинтеза МТ, прежде чем окончательно преобразуется в МТ гидроксииндол – О - метилтрансферазу [Э.Б. Арушанян и соавт., 2016 J. Axelrod et al., 1960; Н.Н. Каладзе и соавт., 2010; Д.Т. Березова, 2012; И.Я. Левин, 2012; С.С. Попов и соавт., 2015]. Синтезированный МТ секретируется в ликвор и с током крови разносится по всему организму. Активность эпифиза связана с суточным периодизмом. В темные периоды суток активность железы более выражена, чем в светлые периоды суток [Э.Б. Арушанян, 2012; И.С. Джериева и соавт., 2012; Э.Б. Арушанян и соавт., 2016]. МТ играет роль эндогенного синхронизатора, который регулирует циркадные ритмы, особенно ритмы сна, бодрствования, температуры [C. Nagorny et al., 2012; MA Quera-Salva et al., 2012; T. Oliveiram et al., 2018; MA Quera - Salva, B. Claustrat et al., 2018], а также сезонный периодизм [T. Oliveiram et al., 2018].

Кроме эпифиза МТ может синтезироваться и энтерохромаффинными клетками ЖКТ, а также β - клетками поджелудочной железы, иммунными и эндотелиальными клетками [J. Axelrod et al., 1960; J. Espino et al., 2011; Э.Б. Арушанян и соавт., 2016]. Клетки, продуцирующие МТ, обнаружены в крови, костях, волосах, почках, надпочечниках, семенниках, в коже, миометрии, плаценте, в тромбоцитах и др. [Э.Б. Арушанян, 2012; Д.Т. Березова, 2012; С.С. Перцев и соавт., 2014; А.Е. Южакова и соавт., 2018]. Этапы синтеза периферического МТ происходят при участии аналогичных ферментов [Э.Б. Арушанян и соавт., 2016]. Общее количество тканевого МТ в десятки раз превосходит уровень эпифизарного гормона, и это позволяет периферическому мелатонину выступить в роли паракринной сигнальной молекулы взаимодействия клеток [R. Hardeland et al., 2011; Е.А. Гафарова и соавт., 2014].

Биологическое действие мелатонина осуществляется через специфические рецепторы различной локализации [Д.Т. Березова, 2012]. На сегодняшний день известно 2 группы связывания МТ: в клетке - МТ1 - рецепторы (МТ1) на плазматической мембране - ген MTNR1A и МТ2 - рецепторы (МТ2) - ген MTNR1B; рецепторы на ядерной мембране NR1F1 и NR1F2 или ROR/RZR [Л.Г. Шапкина и соавт., 2014].

Первая группа рецепторов МТ (МТ1 и МТ2) сопряжена с G - белками [RM Slomimski et al., 2012], состоящими из двух доменов белковой природы, состоящими, в свою очередь из аминокислот количеством 350 и 362 соответственно [A. Oishi et al., 2016]. Затем через аденилатциклазную систему активирует фосфолипазу С, фосфолипазу А2, калиевые каналы, гуанилатциклазу и кальциевые каналы [С.И. Рапопорт и соавт., 2013]. Другая группа - это ядерные рецепторы, относящиеся к ретиноидным типа ROR/RZR [B.Guardiola - Lermaite**,** 2005], которые находятся практически в любом органе и ткани [DN Cook et al., 2015]. Данное семейство включает продукты экспрессии генов RORα и RORβ. Члены подсемейства связываются с ДНК в форме мономеров и "опознают" гормоночувствительные элементы [Н.И. Каладзе и соавт., 2010; Д.Т. Березова, 2012].

Существует мнение, что через свои рецепторы МТ способен вызывать экспрессию генов циркадианной системы (Clock, Bmal) [J. Vried et al., 2015; E. Diaz et al., 2019] и таким образом участвовать в дневной регуляции содержания глюкозы и триглицеридов [И.С. Джериева и соавт., 2011].

Мелатонин, продуцируемый не только клетками шишковидной железы, но и периферическими тканями, по многочисленным экспериментальным данным [С.И. Рапопорт и соавт., 2013; Э.Б. Арушанян и соавт., 2016; В.О. Смирнова и соавт., 2016; А.В. Шурлыгина и соавт., 2016; RJ Reiter et al., 2016], обладает чрезвычайно широким спектром фармакологической активности. МТ демонстрирует защитные свойства при различных патологических состояниях и поражениях центральной нервной системы и внутренних органов: при функциональных и органических поражениях головного мозга [Э.Б. Арушанян, 2012; Э.Б. Арушанян, 2014; А.В. Шурлыгина и соавт., 2016; Т.Н. Попова и соавт., 2018], в том числе при нейродегенеративных заболеваниях, подобных болезни Альцгеймера и паркинсонизму [R. Seithikurippu et al 2013; Э.Б. Арушанян и соавт., 2016]; при неврологических расстройствах (судорожные состояния, последствия черепно - мозговой травмы) [Э.Б. Арушанян и соавт., 2016]. Исследователи указывают на антидепрессивные свойства МТ [Э.Б. Арушанян, 2012; Э.Б. Арушанян, 2014; О.В. Каминская, 2014]; антистрессовый и противотревожный эффекты [Д.Т. Березова, 2012; Э.Б. Арушанян, 2014; С.С. Перцев и соавт., 2014], а также наличие у МТ ноотропных свойств (в том числе способность улучшать когнитивные функции [Э.Б. Арушанян и соавт., 2016]. МТ оказывает регулирующее воздействие на компоненты лимфатической системы, обеспечивающие транспортные пути для лимфы и лимфоидных клеток [С.В. Мичурина и соавт., 2017]. Лечебные свойства МТ показаны не только в эксперименте, но и в клинике сердечно - сосудистой системы, артериальной гипертензии, инфаркте, стенокардии и т.д. [В.Я. Бродский и соавт., 2010; A.Dominguez - Rodriguez et al., 2012; Т.Н. Гриненко и соавт., 2012; А.Д. Пальман и соавт., 2014; Э.Б. Арушанян и соавт., 2016;]. Защитное влияние эпифизарного гормона распространяется и на другие виды соматической патологии, например, хронический панкреатит, рефлюксную болезнь, синдром раздраженной кишки, язву желудка и т.д. [В.Я. Бродский и соавт., 2010; G. Gomez - Moreno, et al., 2010; C. Choinacki et al., 2011; Э.Б. Арушанян и соавт., 2016]. МТ оказался эффективным и при заболеваниях поджелудочной железы, в частности, при остром панкреатите и СД [C. Col et al., 2010; Э.Б. Арушанян и соавт., 2012; Э.Б. Арушанян, 2012]. В последние годы появляется все больше исследований, рассматривающих участие МТ в поддержании энергетического гомеостаза и генеза СД [Э.Б. Арушанян, 2012; И.С. Джериева и соавт., 2012].

Влияние МТ на развитие СД исследователи связывают с тем, что повышенная МТ активность киназы инсулинового рецептора увеличивает фосфорилирование субстрата 1 инсулинового рецептора, свидетельствуя о потенциальном существовании перекрестного взаимодействия сигнального пути между инсулином и МТ, способствует фосфорилированию и коактивации инсулиновых рецепторов, увеличивая их чувствительность, т.е. при нарушении секреции МТ возникает или усиливается инсулинорезистетность [И.С. Джериева и соавт., 2011; A. Agil et al., 2012].

Существуют работы [С.И. Рапопорт и соавт., 2013], подтверждающие эффективное противодействие МТ гиперсекреции инсулина. Отмечается, что МТ регулирует уровень инсулина как посредством ингибирующего действия МТ на высвобождение инсулина через мембранные рецепторы МТ1 и МТ2, так и через вторичные мессенджеры: 3', 5' - циклический аденозинмонофосфат, 3', 5' - циклический гуанозинмонофосфат и инозитол 1,4,5 - трисфосфат [I. Bahr et al., 2011]. Влияние МТ на энергетический обмен происходит через те же МТ1 - и МТ2 - рецепторы, возбуждение которых фосфорилирует инсулинзависимую киназу, усиливая синтез инсулиноподобного фактора роста [С.И. Рапопорт и соавт., 2013; J. Cipolla - Neto et al., 2014].

Однако МТ может влиять на СД и связанные с ним метаболические нарушения, не только регулируя секрецию инсулина, но и обеспечивая антиоксидантную защиту [MA Beydoun et al., 2011; Э.Б.Арушанян и соавт., 2012; J. Cipolla - Neto et al., 2014], в основе которой лежит целый комплекс клеточных и системных механизмов, представляющих собой сложный многофакторный феномен [К.В. Ломоносова, 2014; Э.Б. Арушанян и соавт., 2016]. Анализ проведенных исследований показывает, что МТ регулирует цепь переноса электронов, окислительное фосфорилирование, увеличивая транспорт электронов и синтез АФК нормальными митохондриями, а также повышает энергетический потенциал клеток в результате стабилизации митохондриальных мембран [С.В. Мичурина и соавт., 2018].

Избирательно действуя на мембраны митохондрий, МТ выполняет регулирующую роль в биоэнергетической функции [V. Srinivasan et al., 2011; Э.Б. Арушанян и соавт., 2012]. Высказано предположение, что МТ специфически нацелен на митохондрии, где он, согласно исследованиям C. He с соавторами [C. He et al., 2016], R.J. Reiter с соавторами [RJ Reiter et al., 2017; RJ Reiter et al., 2014], действует как верхний антиоксидант, проникая в митохондрии через транспортеры олигопептидов PEPT1 и PEPT2. По последним данным, помимо того, что МТ выводится из кровообращения, он может продуцироваться и в митохондриях [C. He et al., 2016; RJ Reiter et al., 2017].

Исследователи полагают, что механизм антиоксидантного действия МТ обеспечивается его способностью связывать токсичные радикалы, образующиеся при ПОЛ [Y. Deng et al., 2015; С.С. Попов и соавт., 2017]. Необходимо отметить также способность МТ сдерживать апоптоз, вызванный повреждением митохондрий и других внеклеточных структур [С.В. Мичурина и соавт., 2017], с одновременным усилением репаративных процессов в поврежденных тканях [MJ Tunon et al., 2011; Э.Б. Арушанян и соавт., 2012]. Одним из механизмов, объясняющих снижение интенсивности клеточной гибели по типу апоптоза при введении МТ, может быть регуляция активности НАД и НАДФ-изоцитратдегидрогеназ [С.В. Мичурина и соавт., 2017].

По мнению ряда авторов, мелатонин способен концентрироваться в митохондриях, где образование свободных радикалов является максимальным [Galley, 2012; RJ Reiter et al.,2016]. Приведенные данные подтверждают и другие авторы. Так, например, доказано, что [T. Mithell et al., 2011] специально разработанные антиоксиданты, нацеленные на митохондрии (убихиноновый фрагмент эндогенного коэнзима Q10 конъюгирован с катионом липофильного трифенилфосфония, α - токоферол конъюгирован с TPP), показывают более низкие антиоксидантные эффекты в сравнении с МТ. МТ повышает антиоксидантный статус организма в целом, существенно превосходя такие известные антиоксиданты как аскорбиновая кислота и α - токоферол [D. Tousoulis et al., 2011; Э.Б. Арушанян и соавт., 2012].

МТ может действовать и опосредованно, путем усиления активности антиоксидантных ферментов и ослабления прооксидантных энзимов [С.С. Перцев и соавт., 2014], а также улавливать ионы металлов, имеющие переменную валентность (Fe^{2+}, Fe^{3+}, Cu^{2+}, Mn^{2+}) и проявляющие в организме прооксидантное действие [TW Fischer et al., 2013; Y. Deng et al., 2015; RJ Reiteret al., 2016]. Кроме того, МТ усиливает синтез глутатиона, высокоэффективного внутреннего антиоксиданта, и взаимодействует с классическими поглотителями свободных радикалов для улучшения восстановительного потенциала тканей и жидкостей [RJ Reiter et al., 2016].

МТ способен ослабить экспрессию TNF-альфа и ряда провоспалительных цитокинов (ИЛ - 1бета, ИЛ - 6, ИЛ - 8) тем самым ограничивать выраженность воспалительного процесса [KH Jung et al., 2009].

Существует прямая связь между синтезом МТ и продуктами активированных иммунокомпетентных клеток. Мелатонин, действуя непосредственно на Т - хелперы, вызывает секрецию γ - интерферона и интерлейкина - 2, которые, в свою очередь, активируют Th - 1 клетки, обладающие иммунорегуляторными свойствами [Д.Т. Березова, 2012].

Мелатонин способен ограничивать воспалительный процесс инфекционного происхождения, демонстрируя противомикробную активность [Э.Б. Арушанян и соавт., 2012; A. Laliena et al., 2012; О.В. Каминская, 2014; С.В. Мичурина в соавт., 2017]. Доказана эффективность МТ в качестве адаптогена, антидепрессанта, вещества, замедляющего процессы старения, подавляющего рост опухолей, имеющего противосудорожный, обезболивающий, противовоспалительный, противоинфекционный, антимутагенный, биоритмологический, пролиферативный, тонизирующий и другие эффекты [Т.Н. Гриненко и соавт., 2012; С.И. Рапопорт и соавт., 2013; Э.Б. Арушанян, 2014; Е.А. Гафарова и соавт., 2014; С.С. Попов и соавт., 2017]. Кроме того, МТ обладает способностью уменьшать токсичность фармакологических агентов и повышать эффективность других лекарств [S. Mohrzadi et al., 2016; J. Govender et al., 2014].

К настоящему времени проведен ряд исследований на экспериментальных моделях диабета. Результатами этих работ стал доказательство дефицита продукции МТ при СД [С.В. Мичурина и соавт., 2017] и антидиабетический эффект МТ с ликвидацией нарушений, вызванных введением аллоксана или стрептозотоцина у крыс [M. Akmali et al., 2010; I. Bahr et al., 2012]. Предварительное введение МТ позволяет восстановить β - клетки Лангерганса у мышей с аллоксановым диабетом [Э.Б. Арушанян в соавт., 2012]; устранить дистрофические изменения гепатоцитов [В.А. Березовский в соавт., 2012]; нормализовать реакции паренхимы печени крыс [С.В. Мичурина и соавт., 2018]; значительно усилить синтез и секрецию глюкагона в плазме крови крыс линии Вистар [I. Bahr et al., 2012; I. Bahr et al., 2011], а также улучшить гистопатологические изменения, включая апоптоз и ОС в головном мозге и глазу у диабетической крысы [T. Gürpinar et al., 2012].

При СД, согласно N. Lihinich, I. Gerush [2019], введение экзогенного МТ нормализует ферментативную активность в печени крыс за счет активации антиоксидантных ферментов защиты, особенно глутатионовой системы, благодаря уменьшению жировой инфильтрации, снижению уровня триглицеридов и повышению уровня липопротеидов высокой плотности [G. Favero et al., 2014].

К настоящему времени для лечебных целей используется около десятка средств с МТ, например, Апик - мелатонин, Вита - мелатонин, Мелатонин+ и другие, включая распространенный в РФ Мелаксен. Все эти лекарственные средства имеют таблетированную форму с дозировкой от 2 до 3 мг. Э.Б. Арушанян отмечает, что выраженность фармакологического эффекта МТ зависит как от функционального состояния организма, исходного гормонального фона, индивидуальных вариаций [Э.Б. Арушанян, 2012], так и от выбора адекватной дозы вещества и времени использования [Э.Б. Арушанян и соавт., 2016].

Таким образом, использование МТ, который считается мощным антиоксидантом и универсальным лечебным агентом [T. Gürpinar et al., 2012; Э.Б. Арушанян, 2014;], обладающим высокой степенью безопасности [RJ Reiter et al., 2016], является перспективным в лечении целого ряда патологических состояний, в том числе СД [C. Col et al., 2010; G. Gomez - Moreno et al., 2010; C. Choinacki et al., 211; В.И. Кононенков и соавт., 2013; С.В. Мичурина и соавт., 2017]. Экспериментальные данные свидетельствуют, что гормон МТ способен ограничить образование свободных радикалов кислорода, азота, процессы ПОЛ, обеспечивая защиту живых клеток от повреждения, в том числе защиту β - клеток (поскольку они обладают низким антиоксидантным потенциалом), и нормализовать окислительно-восстановительное состояние клетки при СД [J. Espino et al., 2011; Э.Б. Арушанян, 2012; J. Cipolla - Neto et al., 2014; К.В. Ломоносова, 2014; M. Zhang et al., 2016]. МТ способствует повышению антиоксидантного статуса организма в целом [D. Tousoulis et al., 2011], обладая также адаптогенным, иммуномодуляторным, противовоспалительным, противоинфекционным и другими эффектами [Т.Н. Гриненко и соавт., 2012; C. Nagorny et al., 2012; С.И. Рапопорт и соавт., 2013; Э.Б. Арушанян, 2014; Е.А. Гафарова и соавт., 2014; Э.Б. Арушанян и соавт., 2015; С. Леваков и соавт., 2015; E. Diaz et al., 2019]. Несмотря на значительное число исследований МТ в экспериментах с животными [M. Akmali et al., 2010; I. Bahr et al., 2011; T. Gürpinar et al., 2012; В.О. Смирнова в соавт., 2016; N. Lihinich et al., 2019] и положительных эффектов фармакологического приема в клинических исследованиях МТ у людей [F. Nduhirabandi et al., 2012; J. Cipolla - Neto et al., 2014; С.С. Попов в соавт., 2015; M. Zhang et al., 2017], существует необходимость в дальнейших разработках и изучении свойств и эффектов МТ при СД, что подчеркивает актуальность и своевременность нашей работы.

ГЛАВА 2
МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Алгоритм исследования

Экспериментальная часть работы выполнялась в лаборатории экспериментальной хирургии Центра научно - инновационного объединения и на базе кафедры общей и биологической химии Ставропольского государственного медицинского университета, а также в лаборатории структурной биоинформатики Института биомедицины и фармации Российско - Армянского университета г. Еревана (Договор о взаимосотрудничестве от 01.04.2019. № юр - 134/19 - д).

Экспериментальных животных содержали в привычном режиме вивария СтГМУ, в условиях стандартной температуры и естественного освещения, согласно «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (The European Convention, 1986).

Для достижения поставленных задач был разработан алгоритм исследования (рисунок 1). Были выполнены две серии экспериментов. Первая серия экспериментов состояла из двух этапов. На первом этапе использовалось 70 крыс, разделенных на 2 группы. Контрольная группа состояла из 10 крыс, а остальные 60 были включены в экспериментальную группу для острого (однократного) введения аллоксана в дозе 150 мг/кг (внутрибрюшинно). Развитие заболевания регистрировали по клинической симптоматике (полиурия, полидипсия, полифагия, снижение веса) и уровню глюкозы в крови, а также изучали основные биохимические сдвиги в сыворотке крови. Для оценки суточных величин диуреза и глюкозурии проводили сбор мочи индивидуально. В результате гипергликемической или гипогликемической комы погибло 17 % животных. У оставшихся экспериментальных животных (50 крыс) проявлялась гетерогенность к аллоксану. Животные, у которых диурез повышался с первых суток после введения препарата и оставался таким практически до конца эксперимента (32 – 107 мл/сут), отнесли к группе с высокой уремической чувствительностью (ВУЧ), а крыс, у которых на 15 – е сутки диурез снижался до практической нормы (12 - 14 мл/сут), - с низкой уремической чувствительностью (НУЧ). В итоге соотношение крыс с синдромом низкой и высокой уремической чувствительности к аллоксану составило 43 (n = 22) и 57 % (n = 28). На втором этапе эксперимента каждая группа была разделена на 2 подгруппы, которым на фоне развившегося диабета был введен мелатонин в дозировке 0,1 и 1 мг/кг.

Во второй серии экспериментов для оценки влияния разных доз мелатонина у здоровых животных в соответствии с поставленными задачами 60 крыс были случайным образом поделены на 4 группы – интактные, контрольные (физиологический раствор), введение мелатонина - в дозе 0,1 и 1 мг/кг.

Вывод животных из эксперимента проводился на 25 - е сутки с применением наркотического средства золетил (1 - 4 мг на 100 г веса крысы в/м). Исчезновение реакции на болевые раздражители и угнетение роговичного рефлекса указывали на глубину наркоза.

Полученные данные были представлены медианой, нижним (25 %) и верхним (75 %) квартилями (Me(Q1/Q3)). Анализ различий в двух независимых группах данных проводили с использованием непараметрического критерия Вальда - Вольфовица. Для сравнения двух выборок независимо от характера их распределения использовался непараметрический U - критерий Манна - Уитни (MW - test). Статистически значимыми изменения считали при $\rho < 0,05$.

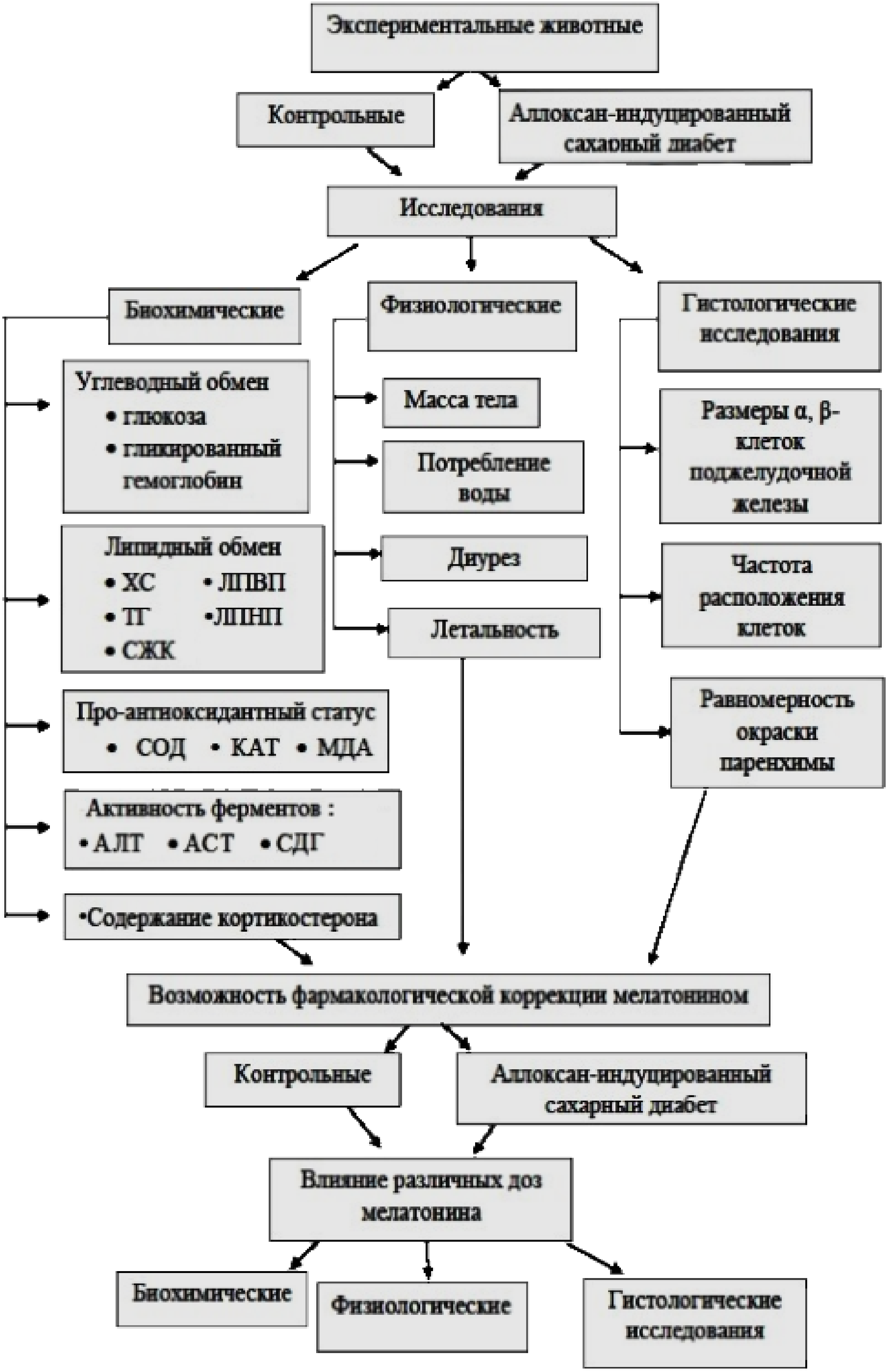

Рисунок 1 – Дизайн эксперимента

2.2. Электрохимический способ оценки содержания глюкозы в крови с помощью глюкометра «Сателлит экспресс»

Определение глюкозы в крови производили с помощью глюкометра «Сателлит экспресс» (компания ЭЛТА, Россия). Метод измерения – электрохимический. Глюкометр регистрирует слабый ток, возникающий между веществом с тест - полоски и глюкозой крови. Аналого - цифровой преобразователь фиксирует показания, результаты выводятся на экран (рисунок 2).

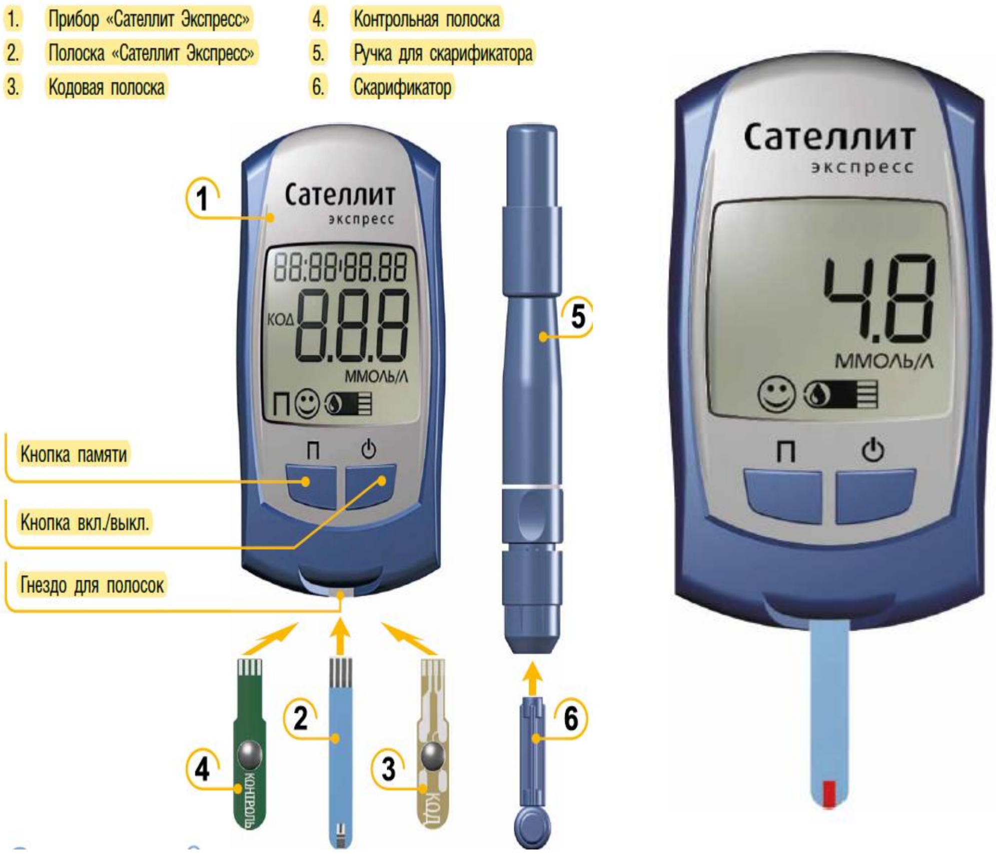

Рисунок 2 – Глюкометр «Сателлит экспресс»

2.3. Определение процентного содержания гликогемоглобина HbAlc с помощью набора "ГЛИКОГЕМОТЕСТ" (компания «Элта», Россия)

В основе метода лежит аффинное разделение гемоглобина на гликированную и негликированную фракции. Применяемый аффинный сорбент с привитой 4 - аминометилфенилбороновой кислотой в микроколонках обеспечивает специфическое связывание гликогемоглобина и его отделение от негликированной фракции. На втором этапе осуществляется переход бороновой кислоты в свободную ионную форму (за счет низкого pH раствора) с высвобождением и полной элюцией гликофракции гемоглобина.

Набор "ГЛИКОГЕМОТЕСТ" (рисунок 3) содержит пластиковые микроколонки в комплекте, заполненные аффинным сорбентом, содержащим привитую 4 - аминометилфенилбороновую кислоту; контрольный лиофилизированный образец гликированного гемоглобина с известным (в пределах 9 – 13 %) содержанием НвА1с – 1; антикоагулянт (Na_2ЭДТА, 0,1 М, натрия хлорид, 0,9 %); гомилетик (Тритон Х - 100, 0,1 %, натрий азид , 8 мм); буферный раствор (аммоний ацетатный буфер, 1,0М. р. 8,1 ±0,2): натрий азид, 8 мМ - 4; раствор уксусной кислоты (уксусная кислота 0,1М).

Рисунок 3 – Набор "ГЛИКОГЕМОТЕСТ"

Измерение оптической плотности проводилось при длине волны 414 нм.

Процентное содержание гликогемоглобина НвА1с рассчитывали по формуле

$$\%НвА1с = \frac{Оп(Б)х100}{Оп(Б)х2,07хОп(А)}х0,71+1,9$$

Где Оп (Б) - оптическая плотность пробы

Оп(А) оптическая плотность контроля

10 – пересчетный коэффициент для вычисления процентного содержания; 0,71+1,9 - пересчетный коэффициент для вычисления фракции НвА1с из общего содержания гемоглобина.

2.4. Количественное определение холестерола в плазме крови колориметрическим методом

Количественное определение холестерола в сыворотке крови проводилось с использованием набора реагентов «ХОЛЕСТЕРИН – ВИТАЛ - 12/22/32».

В основе метода лежит распад эфира холестерина ферментом холестеролэстеразой. Образующаяся перекись водорода окисляет хромогенные субстраты в окрашенные продукты реакции. Интенсивность окраски пропорциональна концентрации холестерина в пробе.

Набор состоит из: реагента 1 (буфер рН 7,3), реагента 2 – холестеролэстераза (400 U/л); холестеролоксидаза (250U/л); POD - 500 U/л; хромогены, активаторы, стабилизаторы. Реагент 3 (калибратор) – холестерин 5,17ммоль/л.

Проведение анализа:

	1-я пробирка	2-я пробирка	3-я пробирка
	Опытная проба	Калибр. проба	Холостая проба
образец	0,02 мл	-	-
бидистиллир.вода	-	-	0,02мл
рабочий реагент	2,0мл	2,0мл	2,0мл
калибратор	-	0,02мл	-

Инкубация проб проводилась при температуре 18 - 25^{0}С в течение 5 мин. Измерения проводились при длине волны 500 нм против холостой пробы.

Концентрация общего холестерина (С) рассчитывалась по формуле:

$$C = \frac{A_{\text{оп}}}{A_{\text{кал}}} \cdot 5{,}17\ (\frac{\text{ммоль}}{\text{л}}),$$

где: $A_{\text{оп}}$ и $A_{\text{кал}}$ – показатели адсорбции экспериментальной и калибровочной проб.

Концентрация холестерина в калибраторе соответствует 5,17 ммоль/л.

2.5. Определение активности супероксиддисмутазы (по методу Misra и Fridowich, в модификации Брусова, 1972)

С целью определения активности супреоксиддисмутазы использовался непрямой метод анализа, основанный на способности блокировать реакцию окисления адреналина ферментом. Забор крови осуществляли из хвостовой вены крыс в объеме 0,1 мл крови и разводили 5 мМ трис - HCI буфере в соответствии 1:9. Далее поэтапно добавляли 0,25 мл этанола и 0,15 мл хлороформа для осаждения гемоглобина. Пробирки центрифугировали в течение 15 мин со скоростью 200 об/мин. Отбирали надосадочную жидкость, в которой далее определяли активность СОД. Скорость автоокисления адреналина определялась добавлением к контрольной пробе (E_0) 2 - х мл карбонатного буфера (pH = 10,65). К полученной смеси добавляли раствор адреналина (100 мкл 0,1 %). После перемешивания измеряли величину оптической плотности ($\lambda = 347$ нм) каждые 60 секунд в течение 3 мин. Автоокисление адреналина в опытной пробе проводили добавлением 100 мкл исследуемого гемолизата к 2 мл буфера, а затем 100 мкл 0,1 % раствора адреналина. Активность супероксиддисмутазы определяли по степени ингибирования скорости аутоокисления адреналина. Процент ингибирования вычисляли по формуле:

$$\%\ \text{ингибирования} = \left[1 - \frac{E_0}{E_k}\right] \cdot 100\%$$

где: E_0 и E_k – оптическая плотность в присутствии и отсутствии гемолизата.

Активность СОД рассчитывают в условных единицах активности. За 1 усл. ед. акт. принимали 50 % ингибирование реакции.

2.6. Определение активности каталазы (в модификации Королюк, 1988)

В основе метода определения активности каталазы лежит способность перекиси водорода образовывать с солями молибдена устойчивый окрашенный комплекс.

В экспериментальном образце реакцию запускали внесением 0,1 мл сыворотки крови к 2 мл 0,3 % раствора перекиси водорода. В контрольной пробе использовали эквивалентное количество дистиллированной воды. Реакцию останавливали через 10 мин добавлением 1мл 4 % молибдата аммония. Интенсивность окраски измеряли на спектрофотометре «UNICO 2100» при длине волны 410 нм. Активность каталазы рассчитывали по формуле:

$$A = (E_k - E_0) \cdot V \cdot t \cdot K \text{ (мкат/л)}$$

где: A – активность каталазы, мкат/л;

E_k и E_0 – экстинкция контрольной и опытной проб;

t – время инкубации, 600 сек;

V – объем пробы, мл;

$K = 22{,}2 \cdot 10^{-3}$ М$^{-1}$/см$^{-1}$ – коэффициент экстинкции перекиси водорода. Количество фермента, участвующее в превращении 1мкат перекиси водорода за 1 сек при заданных условиях, принимали за единицу активности каталазы.

2.7. Определение свободных жирных кислот

Содержание неэтерифицированных жирных кислот в сыворотке крови определяли с помощью набора NEFA FS компании DiaSys Diagnostic systems GmbH (Германия). В основе метода лежит взаимодействие НЭЖК с коэнзимом А в присутствии ацил – коэнзим А - синтетазы с образованием ацилкоэнзима А, который, затем окисляясь, образует перекись водорода. Последний дает окрашенный продукт при взаимодействии реактивом Триндера. Измерения проводились при $\lambda = 546$ нм. Интенсивность красителя прямо пропорциональна концентрации НЭЖК:

$$\text{СЖК} = \frac{\Delta A_{\text{образца}}}{\Delta A_{\text{станд.}}} C_{\text{станд.}} [\text{ммоль/л}].$$

2.8. Определение концентрации кортикостерона

Определение концентрациии кортикостерона в сыворотке крови крыс проводилось иммуноферментным методом с помощью набора фирмы DRG «Corticosterone ELISA EIA – 4164».

2.9. Определение активности сукцинатдегидрогеназы (СДГ)

Принцип метода. Сукцинат под действием фермента СДГ восстанавливается в фумарат.

$$\underset{\text{желтый}}{\text{сукцинат} + 2[Fe(CN)_6]^{3-}} \xrightarrow{\text{СДГ}} \underset{\text{бесцветный}}{\text{фумарат} + 2[Fe(CN)_6]^{4-}} + 2H^{+}$$

В работе использовались гомогенаты тканей печени и поджелудочной железы (1:10) в 0,1 М фосфатном буфере.

В пробирки вносили по 1 мл калий – фосфатного буфера (0,1 М; pH 7,8). Далее поочередно в каждую из пробирок добавляли по 0,1 мл 0,1 М янтарной кислоты, по 0,25 ммоль ЭДТА, 0,15 ммоль азида натрия и воды.

В экспериментальные пробы добавляли по 0,5 мл гомогената ткани. После инкубации (5 мин, 25^{0}С) к пробам добавляли по 0,1 мл раствора феррицианида калия, снова инкубировали в течение 15 мин (t = 30^{0}С).

После инкубации к экспериментальным пробам добавляли по 2 мл 20 % ТХУ. Для денатурации сукцинатдегидрогеназы в контрольные пробы кислоту добавляли перед внесением гомогената. Пробы подвергались центрифугированию при 2000 об/мин в течение 15 мин. Отбирали надосадочную жидкость для фотометрирования при длине волны 420 нм. Смесь 20 % ТХУ и 0,1 М фосфатного буфера в соотношении 1:1 использовали в качестве оптического контроля.

С помощью калибровочной кривой определяли содержание феррицианида в пробах. Количество феррицианида определяли по разности экстинкций $E_k - E_0$.

Активность фермента определялась по формуле:

$$A = \frac{m * 1000}{2M\sigma\tau} \text{ (в нмоль сукцината / мг белка за 1 мин)}$$

где m – количество восстановленного феррицианида (в мкг);
M – молекулярная масса феррицианида калия;
σ – содержание белка в пробе в мг;
τ – время инкубации в мин.

2.10. Гистологический метод исследования

Через 25 дней эксперимента животных декапитировали. Для проведения гистологического исследования были взяты кусочки ткани поджелудочной железы. Далее кусочки ткани фиксировали в 10 % формалине, проводили через спирты возрастающей крепости и заливали в парафин. Из парафиновых блоков готовили срезы толщиной 5 - 6 микрон. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван Гизону.

2.11. Статистическая обработка данных

Статистическая обработка результатов экспериментального исследования была проведена с помощью программного пакета Statistica 12 (StatSoft, США) и стандартного пакета «MS Excel 2013». Гипотеза о нормальности распределения количественных признаков проверялась критерием Шапиро - Уилка. Так как распределение не соответствовало нормальному закону, то для последующей обработки были использованы непараметрические методы.

Результаты исследования были представлены медианой, нижним (25 %) и верхним (75 %) квартилями (Me(Q1/Q3)). Различия в двух независимых группах данных определялись непараметрическим критерием Вальда - Вольфовица. Для сравнения двух выборок независимо от характера их распределения использовался непараметрический U - критерий Манна - Уитни (MW - test). Статистически значимыми изменения считали при $\rho < 0,05$.

ГЛАВА 3
БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К АЛЛОКСАНУ И ГОРМОН ЭПИФИЗА МЕЛАТОНИН

3.1. Биохимические особенности протекания аллоксан – индуцированного сахарного диабета у экспериментальных животных

Для понимания механизма действия различных препаратов, в том числе и антидиабетических, используют экспериментальные модели. Для создания модели сахарного диабета возможно применение ряда методов:

- удаление поджелудочной железы (полное или частичное);
- длительное применение гормональных препаратов, отвечающих за концентрацию глюкозы в крови;
- введение химических агентов, действующих только на β - клетки островков Лангерганса;
- выведение животных посредством использования методов генной инженерии.

В наших экспериментах была использована химическая модель с помощью аллоксана, механизм действия которого заключается в разрушении β - клеток островков Лангерганса [S. Park et al., 2014].

Целью данного этапа являлось изучение эффектов аллоксана в отношении основных звеньев патогенеза.

На данном этапе использовалось 70 крыс. Из части животных (10 крыс) была образована контрольная группа, остальные животные (n = 60) получили однократно аллоксан в дозе 150 мг/кг внутрибрюшинно. Развитие болезни определялось по поли- и глюкозурии (таблица 1), а также по снижению веса и уровню глюкозы в крови. Для оценки объема мочи и глюкозурии отбор у каждой крысы проводили с помощью индивидуальных мочесборников.

Таблица 1 – Изменение суточного количества мочи и глюкозурии у крыс с разной чувствительностью к аллоксану (Me (Q1/Q3))

Показатель	Контроль (n = 10)	Сутки после введения аллоксана в дозе 150 мг/кг	Распределение животных по чувствительности к аллоксану	
			НУЧ (n = 22)	ВУЧ (n =28)
Диурез мм/сутки	10 ± 1	1	12.08 (9.50/15.00)	32.01* (26.50/39.30)
		5	20.33 (14,00/23.00)	43.15* (36.20/46.50)
		10	16,00 (11.00/22.00)	65.54 (59.40/71.20)
		15	11.02 (8.50/14.00)	87.54* (77.50/94.60)
		25	13.75 (9.90/16.00)	107.17* (99.00/118.30)
Глюкозурия г/сутки	0,002 ± 0,001	1	1.22 (0.80/1.50)	0.18 (0.10/0.30)
		5	2.33 (2.10/2.90)	3.59 (2.80/4.20)
		10	0.08 (0.04/1.10)	5.37 (3.90/7.00)
		15	0.09 (0.07/1.20)	10.7 (8.20/13.50)
		25	0.01 (0.007/0.05)	9.72 (7.50/13.10)

Примечание: * $p < 0,05$ - достоверность различий при сравнении показателей опытных групп с контрольными.

Основные биохимические сдвиги в сыворотке крови были изучены на 25 день эксперимента. Показатели углеводного обмена демонстрировали явно заметные сдвиги. Уровень глюкозы в крови увеличился в опытной группе с НУЧ к аллоксану на 46 %, а у крыс с ВУЧ - на 54,1 % в сравнении с показателями контрольной группы. Содержание гликогемоглобина оказалось достоверно высоким в обеих группах, однако в группе с ВУЧ его содержание превышало в 1,6 раза в сравнении с данными группы с НУЧ.

Под влиянием аллоксана менялся профиль липидного обмена. Содержание в плазме крови общего холестерина превышало на 9 % у крыс с НУЧ и на 25 % с ВУЧ, триглицеридов - на 58 и 41 % (соответственно), ЛПНП увеличились в 2 и 3 раза у крыс с НУЧ и ВУЧ соответственно, а ЛПВП – 1,2 и 1,3раза соответственно. Содержание суммарных НЭЖК в обеих группах превышало в два раза в сравнении с данными контрольной группы (таблица 2).

Таблица 2 – Изменение показателей липидного обмена в сыворотке крыс с разной чувствительностью к аллоксану (Me (Q1/Q3))

Показатели	Контрольные крысы (n = 10)	Крысы после введени аллоксана	
		НУЧ (n = 22)	ВУЧ (n = 28)
Холесторол ммоль/л	2.12 (1.90/2.30)	2.33* (2.10/3.50)	2.81** (1.80/3.30)
ТГ ммоль/л	1.12 (0,80/2,00)	1.77* (1,30/3,00)	1.58** (1,20/2,80)
ЛПНП (%)	1.34 (1,10/2,00)	2.67* (1,80/3,70)	3.64** (1,80/5,10)
ЛПВП (%)	1,19 (0,80/2,10)	1,39* (1,10/2,80)	1,52** (1,30/3,40)
НЭЖК ммоль/л	0,87 (0,50/1,40)	1,79* (1,20/3,30)	1,91** (1,00/4,20)

Примечание: * – статистически значимое (MW - test, p = 0,003) отличие показателя группы низкочувствительных крыс от показателя группы контрольных крыс; ** – статистически значимое (MW - test, p = 0,048) отличие показателя группы высокочувствительных крыс от показателя группы контрольных крыс.

В условиях выбранной нами модели также было изучено состояние системы ПОЛ - САЗ, т.к. данная система является ключевым звеном патогенеза сахарного диабета. На 25 – й день эксперимента содержание малонового альдегида было значимо выше в обеих группах по сравнению с аналогичным показателем у интактных крыс, что указывает на образование большого количества продуктов перекисного окисления липидов, свидетельствующее о процессах разрушения клеточных мембран.

Учитывая высокую активность ПОЛ, следующим шагом было изучение системы антиоксидантной защиты (АОЗ). В качестве маркеров были выбраны ферменты супероксиддисмутаза (СОД) и каталаза. Результаты исследования показали увеличение активности этих ферментов в сыворотке: каталазы (Кат) - в 1,5 раза, а супероксиддисмутазы (СОД) - в 1,4 раза по сравнению с интактными животными (таблица 3).

Таблица 3 – Влияние аллоксана на показатели состояния про – и антиоксидантной системы, содержание кортикостерона и активности трансаминаз в сыворотке крыс (Me (Q1/Q3))

Показатели	Контрольные Животные (n = 10)	Животные после введения аллоксана	
		НУЧ (n = 22)	ВУЧ (n = 28)
МДА ммоль/мл	3.72 (2.80/4.30)	4.82* (2.90/6.30)	7.5** (5.6/9.00)
Активность каталазы, мкат/л	2.25 (1.60/4.10)	3.45* (2.10/5.20)	4.55** (3.80/5.40)
Активность СОД, (ЕД/л)	2.55 (1.80/4.20)	3.65* (2.5/4,30)	5.25** (3.90/6.20)
Активность АСТ, (ЕД/л)	58.10 (52.10/64.30)	60.25 (54.8/69.70)	150.0** (139.40/164.80)
Активность АЛТ, (ЕД/л)	70.08 (63.40/81.70)	73.30 (65.50/82.40)	145.04** (132.80/158.40)
Кортикостерон нг/мл	50.30 (43.70/62.10)	55.12* (47.80/62.30)	85.54** (75.60/91.20)

Примечание: * – статистически значимое (MW-test, p = 0,023) отличие показателя группы низкочувствительных крыс от показателя группы контрольных крыс; ** – статистически значимое (MW - test, p = 0,004) отличие показателя группы высокочувствительных крыс от показателя группы контрольных крыс.

Индикаторами состояния клеток печени и степени их поражения является активность ферментов АСТ и АЛТ. В наших исследованиях активность данных ферментов в крови у животных с высокой уремической чувствительностью оказалась значительно выше (АСТ - в 2,6 раза, АЛТ - 2,1 раза), чем у контрольных животных. Соотношение показателей коэффициента де Ритиса расшифровки АЛТ/АСТ на анализ крови точно определяет локацию воспалительного очага. У контрольных крыс его величина соответствует 1,3. В нашем случае у животных с ВУЧ - 0,96, что ниже нормы. Степень подъема уровня энзимов аланинтрансферазы и аспартаттрансферазы указывает на выраженное нарушение клеточной структуры печени. Зафиксированная активация трансаминаз может указывать на нарушение целостности мембран гепатоцитов, приводящее к увеличению их проницаемости, а впоследствии - и на гибель клеток печени. О преимущественном повреждении внешних мембран клеток печени аллоксаном у животных с НУЧ свидетельствует повышение активности цитоплазматического энзима – АЛТ в сравнении с изменением активности АСТ в 1,2 раза, имеющим митохондриально – цитоплазматическую локализацию, в то время как у животных с ВУЧ активность АСТ выше, что указывает на более глубокие повреждения митохондрий.

Любые перестройки метаболических процессов могут быть связаны с дефектами митохондрий и ферментов, расположеннцых в мембранах митохондрий. В свете этих суждений изучение митохондриальных ферментов играет особую роль. Являясь вторым белковым комплексом электронтранспортной цепи, СДГ остаётся ключевым звеном в процессе энергообеспечения клетки. Одновременное участие в цикле трикарбоновых кислот и в переносе электронов с помощью убихинона делает данный фермент уникальным. В современной литературе мало работ, посвященных изучению роли СДГ в изменении биоэнергетики клетки при развитии сахарного диабета [T. Mithell et al., 2011; AP Aldera et al., 2018; Z. Xiao et al., 2018].

Для осуществления энергозависимых процессов свободную энергию поставляет АТФ. Образование АТФ в основном происходит за счет функционирования дыхательной цепи. Для оценки эффективности улавливания энергии митохондриями мы изучили активность фермента сукцинатдегидрогеназы. Результаты наших исследований показали, что в печени активность сукцинатдегидрогеназы у крыс с НУЧ увеличилась до 0,48 нмоль/мг белка, а у крыс с ВУЧ - 0,75 нмоль/мг белка в сравнении с данными контрольной группы крыс – 0,4 нмоль/мг белка. Такое повышение активности фермента в печени крыс может свидетельствовать об ускорении функционирования ЦТК для адаптации клеточного метаболизма в гепатоцитах. В сравнении с тканями печени поджелудочная железа демонстрировала невысокий уровень активности СДГ, что может указывать на снижение интенсивности цикла Кребса в результате гибели β - клеток Лангерганса (в контроле – 0,6 нмоль/мг белка, у крыс с НУЧ - 0,48 нмоль/мг белка, а с ВУЧ – 0,12 нмоль/мг белка).

Согласно полученным результатам между энергодативными процессами в печени и поджелудочной железе возникают реципрокные отношения, что свидетельствует об интенсификации катаболических процессов, повышающих энергетический потенциал клетки, что необходимо для осуществления адаптивной реакции всего организма (рисунок 4). Возможно, это объясняется тем, что концентрация АТФ способна регулировать высвобождение инсулина β - клетками поджелудочной железы. Клетки поджелудочной железы, где нарушен процесс окислительного фосфорилирования, не могут создавать концентрацию АТФ выше порогового. Следствием этого является нарушение процесса высвобождения инсулина и развития диабета [Д. Нельсон и соавт., 2014].

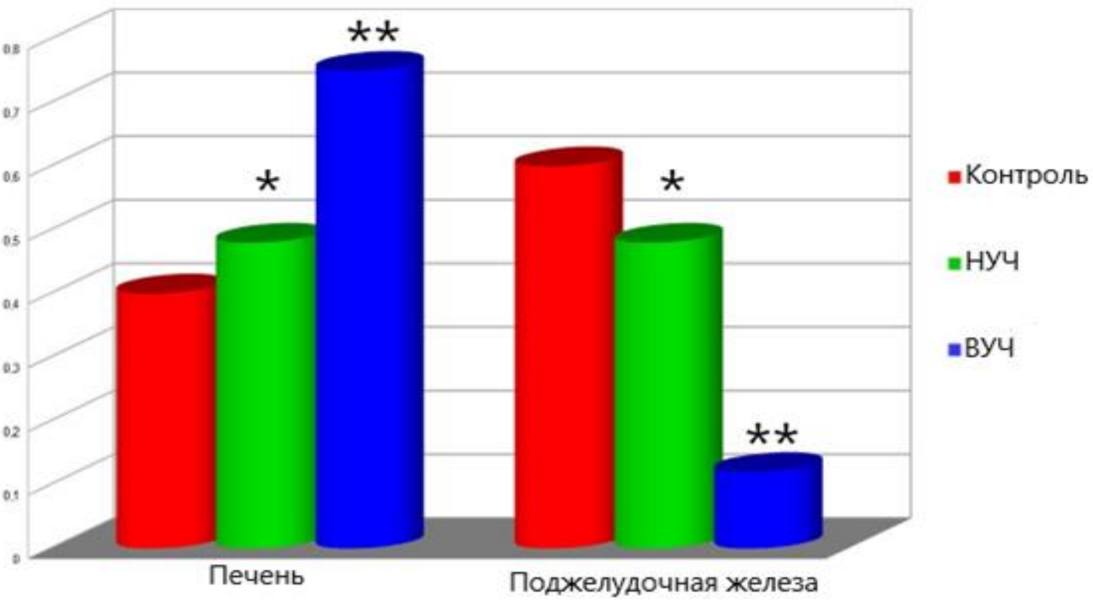

Рисунок 4 – Активность СДГ у животных с различной уремической чувствительностью к аллоксану

Проблема изучения функциональной активности АКС имеет особое значение для поиска возможностей поддержания реактивности организма к внешним воздействиям, в том числе и новых препаратов, способов лечения диабета, а также изменения динамики развития заболевания. В наших условиях при помощи аллоксана был индуцирован сахарный диабет, вследствие чего у 66,6 % крыс произошла активация адренокортикальной системы. У 33,3 % крыс отмечалась существенно пониженная активация АКС, которая выявлялась с первых дней заболевания. При исследовании сыворотки крови с целью определения содержания кортикостерона было установлено его достоверное повышение в 1,7 раза только у крыс ВУЧ к аллоксану в сравнении с интактными животными. Следовательно, выраженность активации АКС может стать одной из причин развития экспериментального диабета, что свидетельствует о важной роли этой гормональной системы в механизмах развивающейся патологии.

Таким образом, резюмируя данные, можно отметить, что полученные результаты позволяют, во - первых, использовать аллоксан в дозе 150 мг/кг для создания химической модели сахарного диабета. Во – вторых, уже в течение первых суток эксперимента у крыс линии Wistar выявились индивидуальная вариабельность и гетерогенность в чувствительности к токсичному действию аллоксана по величине диуреза и уровня глюкозурии. Различная чувствительность крыс к аллоксану, возможно, объясняется существованием определенного биохимического механизма адаптации к изменениям среды, которая способна обеспечить большую выживаемость, а следовательно, определение индивидуальной чувствительности позволит получать дополнительную информацию для выбора лекарственных препаратов, восстанавливающих нарушенный клеточный метаболизм.

3.2. Биологичексие и фармакологические эффекты разных доз мелатонина

В последние годы все чаще внимание исследователей привлекают как биологические, так и фармакологические свойства мелатонина. Являясь естественным метаболитом, он достаточно безопасен даже в высоких дозах. Однако для успешного исхода применения мелатонина как фармакологического средства чрезвычайно важен выбор как дозы, так и схемы лечения [Р.М. Заславская и соавт., 2007; S. Tengattini et al., 2008; Н.К. Малиновская и соавт., 2010; RJ Reiter, et al., 2010; M. Kozirog, et al., 2011; Э.Б. Арушанян и соавт., 2012].

В данной серии экспериментов оценивали влияние двух доз мелатонина на углеводный и липидный обмен, на состояние про- и антиоксидантной системы, а также на функциональную активность печени и содержание плазменного кортикостерона у крыс. Подопытные животные (n = 60) были разделены на четыре равноценные группы (n = 15). Первую группу составили интактные животные. Вторая группа (контрольная) – крысы, которым вводили физиологический раствор. Третья и четвертая группы – животные, получавшие ежедневно в течение 25 дней мелатонин, один раз в сутки между 16 - 18 часами в дозе 0,1 и 1 мг/кг соответственно.

Доза в 1,0 мг/кг выбрана нами на основании литературных данных о высокой клинической активности гормона в этой дозе, а 0,1 мг/кг - для оценки влияния физиологических доз мелатонина на обменные процессы.

Введение мелатонина в дозе 0,1 мг/кг не оказывало существенного влияния на углеводный и липидный обмен. Тем не менее, содержание глюкозы, ЛПВП и ЛПНП увеличивалось на 3, 12 и 13 % соответственно. Все остальные параметры уменьшались: холестерол – на 18 %, триглицеролы - на 15 %, НЭЖК – 1,3 % (таблица 4).

Данные сдвиги, возможно, связаны с инъекционным стрессом у животных. При стрессе мелатонин, как известно, проявляет присущие ему стресс-лимитирующие и антиоксидантные свойства [В.Я. Бродский и соавт., 2010; Э.Б. Арушанян, 2012; Д.Т. Березова, 2012].

Существует немало работ, где приводятся убедительные данные о способности мелатонина предупреждать избыточную секрецию адренокортикотропного гормона при действии чрезвычайных факторов [Т.С. Булавинцева и соавт., 2018]. Указанных эффектов можно достичь, используя дозы мелатонина в пределах 0,5 - 10 мг/кг. Хроническое введение мелатонина нами в дозе 0,1 мг/кг указало на способность гормона к подавлению стресс-индуцированного липолиза.

В группе животных, где применялась доза мелатонина 1 мг/кг, отмечались заметные сдвиги, демонстрирующие повышение содержания глюкозы на 37 % ($p < 0,05$) в сравнении с показателями контрольной группы. Использование большей дозировки провоцировало достоверное снижение ЛПНП на 37 % при одновременном повышении ЛПВП на 37 %. Содержание холестерола и ТГоказалось ниже контрольных величин в 1,4 и 1,5 раза соответственно. Незначительное уменьшение содержания ОХ при введении мелатонина в данной дозе можно связать с торможением его распада в печени за счет ингибирования фермента 7 – альфа - гидроксилазы

Таблица 4 – Влияние разных доз мелатонина на показатели углеводного и липидного обмена в крови крыс (Me (Q1/Q3))

Показатели	Интактные (n =15)	Контрольные (n = 15)	Мелатонин в дозе	
			0,1 мг/кг (n = 15)	1 мг/кг (n = 15)
Глюкоза ммоль/л	5.6 (4.93/5.63)	6.3 (5.2/6.3)	6.62 (5.41/6.82)	8.61 (8.2/8.8)*
Холестерол ммоль/л	2.23 (2.04/2.63)	2.31 (2.19/2.51)	1.9 (1.85/2.0)	1.65 (1.23/1.88)
ТГ ммоль/л	1.79 (1.32/2.45)	1.91 (1.5/2.1)	1.8 (1.65/2.03)	1.24 (1.08/1.34)
ЛПНП (%)	0.21 (0.15/0.21)	0.19 (0.16/0.22)	0.15 (0.15/0.19)	0.12 (0.12/0.16)*
ЛПВП (%)	1.17 (1.17/1.45)	1.20 (1.2/1.42)	1.32 (1.31/1,66)	1.65 (1.61/1.79)*
НЭЖК ммоль/л	0.79 (0.35/0.85)	0.62 (0.54/0.73)	0.69 (0.62/0.74)	1.18 (1.14/1.65)*

Примечание: * – статистически значимые отличия ($p < 0,05$) от показателя контрольной группы.

Ежедневное введение мелатонина в дозе 1 мг/кг заметно увеличивало (в 1,9 раза) содержание НЭЖК в крови крыс в сравнении с данными животных контрольной группы. Количество НЭЖК повышалось (на 71 %) и при использовании физиологической дозы (0,1 мг/кг). Указанные эффекты, возможно, объясняются незначительной мобилизацией ТГ и этерификацией НЭЖК вследствие стимуляции активности аденилатциклазы мелатонином. Данные сдвиги могут являться отражением начала перестройки метаболизма с углеводного на липидный путь. Резкое повышение концентрации НЭЖК в плазме, вызванное стрессом, является одним из сильнейших стимулов образования ЛПОНП и ЛПНП. С другой стороны, триггерной точкой гиперпродукции ЛПВП может стать и активация ПОЛ, т.к. известно, что ЛПВП обладают выраженным антиокстидантным действием [А.Н. Климов и соавт., 1992].

Влияние мелатонина на интенсивность перекисного окисления липидов выражалось заметным снижением содержания МДА на 14 % при дозе 0,1 мг/ кг и на 41 % при 1 мг/кг (таблица 5).

Таблица 5 – Влияние разных доз мелатонина на интенсивность процессов в печени у крыс (Me (Q1/Q3))

Показатели	Интактные (n =15)	Контрольные (n =15)	Группа получавшая мелатонин в дозе	
			0.1мг/кг (n =15)	1 мг/кг (n =15)
МДА нмоль/мл	3.69 (3.68/4.42)	3.81 (3.69/4.42)	3.29* (3.28/3.81)	2.45* (2.2/3.28)
Активность СОД, ЕД	3.28 (2.42/3.55)	3.55* (3.28/3.81)	2.89* (2.75/3.55)	2.450* (3.32/2.69)
Активность каталазы, мкат/л	6.12 (5.92/6.25)	6.25 (5.68/6.82)	5.85 (5.68/6.25)	5.68 (5.62/5.85)
Активность АСТ (ЕД/л)	25.1 (20.3/25.3)	30.1 (25.3/32.1)	25.3 (25.1/30.1)	25.15 (22.4/28.9)
Активность АЛТ (ЕД/л)	30.1 (25.2/31.9)	30.8 (26.5/32.7)	33.7 (31.65/38.9)	31.8 (30.1/34.1)

Примечание: * – статистически значимые отличия ($p < 0,05$) от показателя контрольной группы.

Одновременно снижалась активность СОД на 17 и 25 % соответственно. Активность каталазы не изменялась.

Согласно литературным данным мелатонин способен модулировать функцию печени как нейрогормон мозговой железы эпифиза, выполняющий роль паракринной сигнальной молекулы. Поэтому физиологические и биохимические возможности МТ привлекают сегодня особое внимание. После использования экзогенного мелатонина в дозе 1 мг/кг у крыс наблюдается заметное снижение активности АЛТ в сыворотке крови (на 9 %) и АСТ (на 18,7 %). Это может свидетельствовать как о достаточной сохранности гепатоцитов, так и о снижении проницаемости цитоплазматической мембраны клеток.

Активность митохондриальной СДГ заметно не изменялась. Учитывая, что наиболее высокая внутриклеточная концентрация мелатонина обнаружена в митохондриях, в качестве одного из путей биотрансформации мелатонина рассматривают его окисление митохондриальным цитохромом [RJ Reiter et al., 2016].

В современной литературе преобладают сведения, указывающие на преимущественно сдерживающий контроль эпифиза и его мелатонина за деятельности различных эндокринных желез, в том числе и надпочечников [Э.Б. Арушанян и соавт., 1993]. В частности, внутрижелудочковое введение МТ вызывает падение уровня глюкокортикоидов в плазме крови крыс. Определены и возможные пути угнетающего эффекта МТ. Однако такое вмешательство не может быть однозначным, исходя из понимания места эпифиза в системе эндокринной регуляции. МТ должен осуществлять лишь модуляторный, поправочный контроль работы периферических желез. На это указывают и наши наблюдения.

В частности, на фоне хронического введения различных доз мелатонина выявлено снижение уровня кортикостерона. Это проявилось в том, что после низкой дозы вещества снижение уровня кортикостерона оказалось статистически достоверным. Такой же сдвиг обнаружен и от 1 мг/кг вещества. Впрочем, у 10 % крыс этой группы какие - либо нарушения вообще отсутствовали. Мелатонин в дозе 0,1мг/кг приводил к снижению концентрации кортикостерона на 19,5 %, а 1,0 мг/кг - на 9,0 % по сравнению с показателями контрольной группы. Исходя из полученных результатов, следует, по - видимому, признать существование сдерживающего контроля со стороны эпифиза функции коркового вещества надпочечников (рисунок 5).

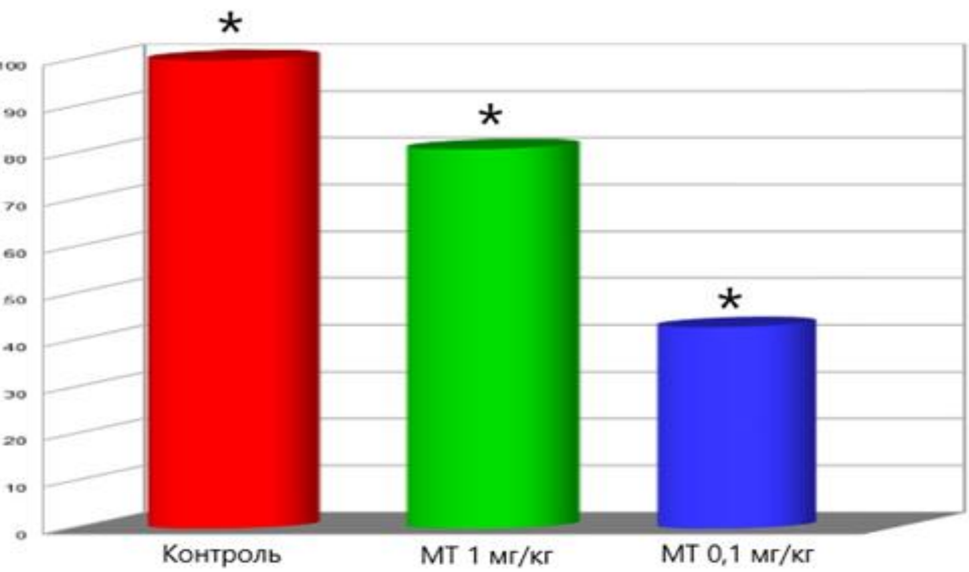

Рисунок 5 – Влияние различных доз мелатонина на уровень плазменного кортикостерона

Резюмируя вышеприведенные данные, можно отметить, что у МТ линейной зависимости доза - эффект отсутствует. В сравнении с другими сигнальными молекулами многие из перечисленных свойств мелатонина являются исключительными.

Безопасность синтетического мелатонина и его клиническая эффективность при различных патологических состояниях представляются интересным с точки зрения понимания как патогенеза заболеваний, так и новых терапевтических перспектив.

3.3. Исследование взаимодействия мелатонина с сукцинатдегидрогеназой с использованием методов хемоинформатики и компьютерного анализа

Молекулярный докинг является один из методов молекулярного моделирования [N. Brooijmans et al., 2003]. Он позволяет исследователю предсказать вероятное взаимодействие молекулярных моделей, определить трехмерные пространственные параметры молекулярных моделей относительно друг к другу, рассчитать энергетические показатели взаимодействия с учетом среднеквадратических отклонений (RMSD) [X. Xu et al., 2019]. Для обеспечения максимальной точности данных обычно применяется парный докинг [О. Раевский, 2008]. Он представляет собой процесс прогнозирования взаимодействия биологически активных соединений (лиганд) и мишени (биомакромолекула). В настоящее время существует два типа докинга-жесткий и мягкий. Они отличаются друг от друга степенями свободы пространственных позиций атомов мишени [B.K. Shoichet et al., 2002]. Во время жесткого докинга позиции атомов лиганда по отношению к мишени имеют максимально возможную степень свободы в том случае, когда мишень неподвижна. Для мягкого докинга вместе с степенями свободы атомов лиганда атомы определенной части мишени имеют ограниченную степень свободы (мобильность). В результате формируется система, в которой лиганды позиционируют на поверхности мишени в выгодных пространственно-энергетических положениях [R. Ruyck et al., 2016]. В целях обеспечения статистически достоверных результатов в ходе in silico эксперимента генерируются определенные количества первичных пространственных позиций лиганда, на основе которых производится прогноз взаимодействия. Данные позиции лигандов называются конформерами. Минимальное количество первичных конформеров, принятых в биомоделировании, равно двадцати [L. Brian et al., 1998]. В настоящее время метод молекулярного докинга широко применяется в ряде направлений биологии и фармацевтики, таких как процесс создания новых лекарственных средств, предварительная оценка биоактивности новых или модифицированных соединений, изучение особенностей взаимодействия биомакромолекул и биологически активных соединений и т.д. [J. Gasteiger et al., 2006]. В данной работе проведены результаты комплексообразования гормона шишковидной железы мелатонина с сукцинатдегидрогеназой с использованием методов хемоинформатики и компьютерного анализа.

Трехмерная модель мелатонина была взята из базы данных DragBank [https:www.drugbank.ca] с идентификационным номером AN: DB01065. В качестве мишени сукцинатдегидрогеназы была использована трехмерная модель биомакромолекулы мономерной формы, взятой из базы данных RCSB [https:www.rcsb.org], с идентификационным номером PDB ID: 1NEK. Выбор данной мишени обусловлен высоким разрешением трехмерной структуры модели молекулы в 2.60 Å.

Докинг - анализ

Для докинг - анализа были использованы программные пакеты AutoDock Vina и AutoDock Tools [O. Trott et al., 2009]. Достоверность результатов докинга обеспечивалась 5 - кратной повторяемостью 20 - и начальных конформаций для каждого соединения с объёмом виртуального бокса, не превышающим 27000 Å. Значение континуума исчислений при докинге было взято 500.

Конформационный анализ взаимодействия

Для выявления аминокислотных остатков комплексообразования, определения типов взаимодействия и составления конформационных карт использовали программный пакет BIOVIA Discovery Studio [D. Biovia et al., 2017].

Кластерный анализ результатов

Процесс кластеризации и визуализации результатов докинга проводился с использованием программы, созданной нами на основе алгоритма FOREL в среде Python. Разработанная нами программа позволяет автоматизировать процесс многоступенчатого анализа данных, полученных в результате молекулярного докинга, с последующей визуализацией, что, в свою очередь, увеличивает эффективность представления данных.

Определение константы связывания

Для определения константы связывания исследуемых соединений с мишенями было использовано следующее уравнение:

$$\Delta G_{\exp} = -RT \ln\left(\frac{1}{K}\right)$$

где ΔG – энергия Гиббса, R – газовая постоянная, T – абсолютная температура, K - константа связывания [Л. Ландау и соавт., 1976].

Статистический анализ результатов исследования проводился на основе комплексного применения стандартных статистических методов, включающих вычисления стандартных отклонений, средних значений, стандартных средних ошибок.

Известно, что структура сукцинатдегидрогеназы является мультисубъединичной и включает четыре цепи [M Maher et al., 2018]. Ключевую роль в процессе метаболизма играет субъединица SDHA, где формируется высококонсервативный каталитический FAD (флавин - адениндинуклеотид) домен, обеспечивающий цепь переноса электронов Fe - S [V. Yankovskaya et al., 2003]. Полученные нами результаты докинг - анализа свидетельствуют, что мелатонин связывается в каталитическом домене SDHA субъединицы (рисунок 6). Кластерный анализ полученных мест связывания мелатонина с SDHA свидетельствует, что все конформеры образуют единый кластер с отклонением ≤ 0.4 Å относительно друг друга. В результате докинг - анализа были получены пространственно-энергетические параметры комплексообразования. Рассчитанная свободная энергия Гиббса для комплекса мелатонин-сукцинатдегидрогеназа равна $-7{,}50 \pm 0{,}37$ ккал/моль при среднеквадратическом отклонении ≤ 2 Å. На основе энергии была рассчитана константа связывания комплексообразования, которая равна $2{,}9 \cdot 10^5$. Нами была построена конформационная карта взаимодействия.

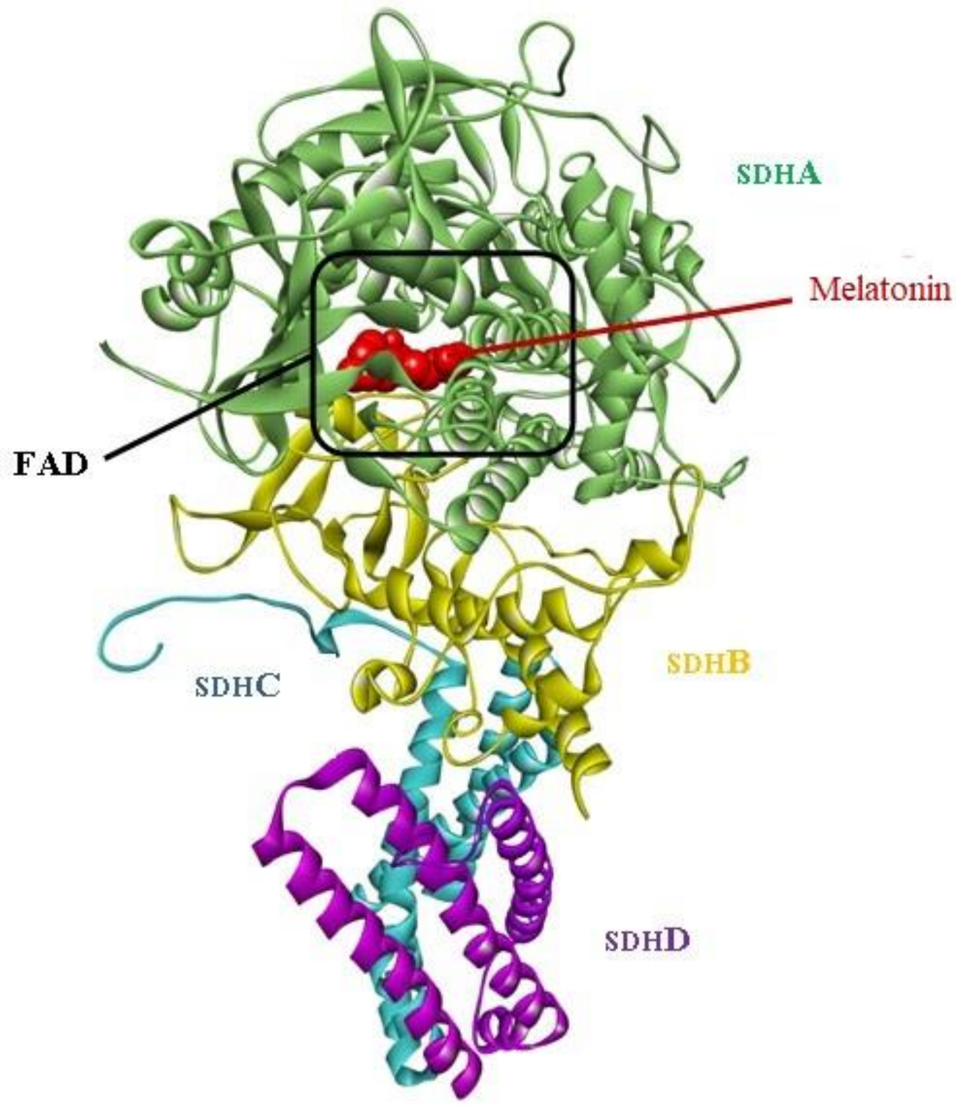

Рисунок 6 – Расположение молекулы мелатонина в FAD домене цепи SDHA

В результате были получены аминокислотные остатки, вовлеченные в процесс комплексообразования (рисунок 7). Полученные результаты конформационного анализа свидетельствуют, что в комплексообразование вовлечены аминокислотные остатки, образующие FAD - домен (рисунок 7.А).

Комплексообразование осуществляется в основном за счет водородных сил и Ван – дер - Ваальсовых взаимодействий (рисунок 7. В). Наблюдаются две водородные связи. Первая, образуется между карбонильной группой Tyr 202 и аминогруппы пентозного кольца мелатонина с дистанцией 2,11 Å, вторая водородная связь образуется с карбоксильной группой фенольного кольца мелатонина и цианогруппой Gly14 с дистанцией 3,51 Å.

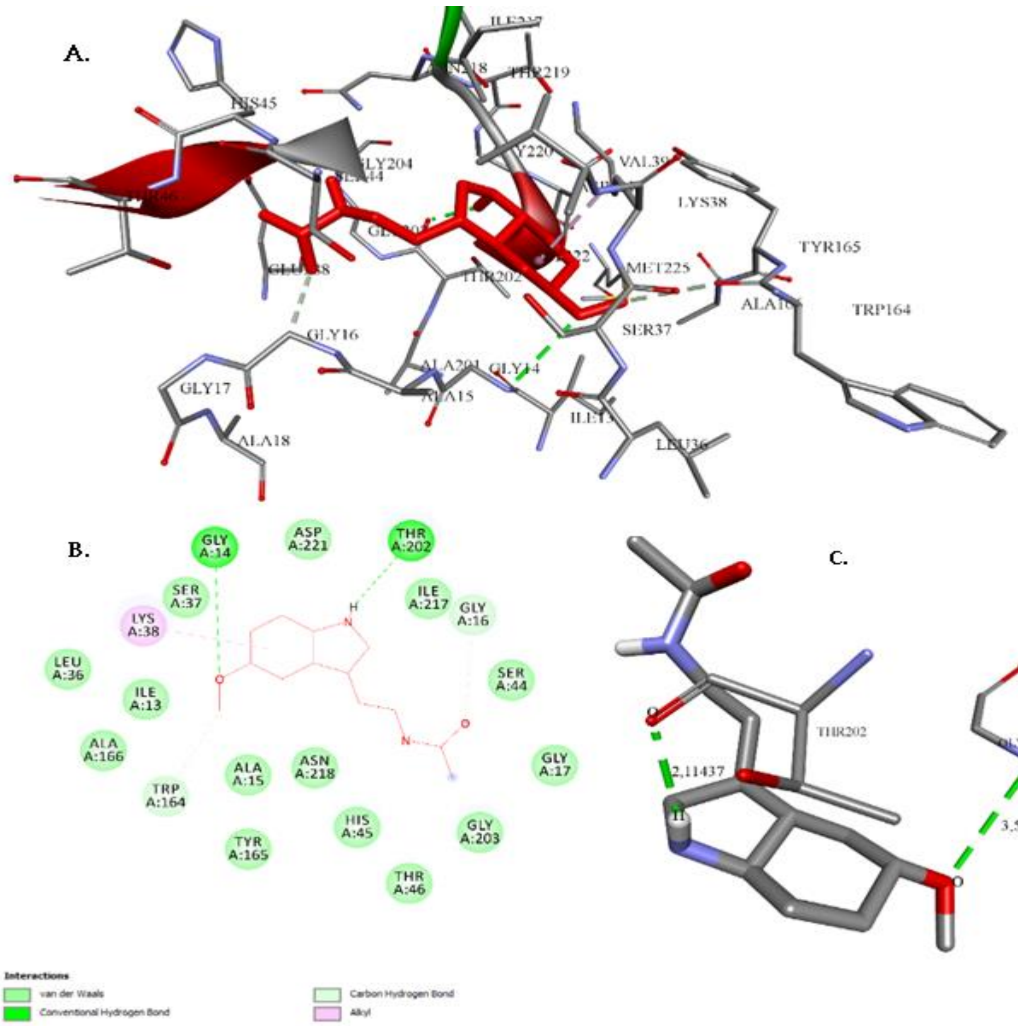

Рисунок 7 – Визуализация взаимодействия мелатонина в каталитическом центре сукцинатдегидрогеназы. А. пространственное расположение мелатонина (мелатонин обозначен красным цветом); В. конформационная карта комплексообразования; С. наблюдаемые водородные связи

Наблюдается также единичное гидрофобное взаимодействие с Lys 38. Необходимо отметить, что мелатонин практически блокирует каталитический домен, о чем свидетельствуют полученная карта энергетической оболочки мелатонина и сопряженные аминокислотные остатки, вовлеченные в комплексообразование (рисунок 8).

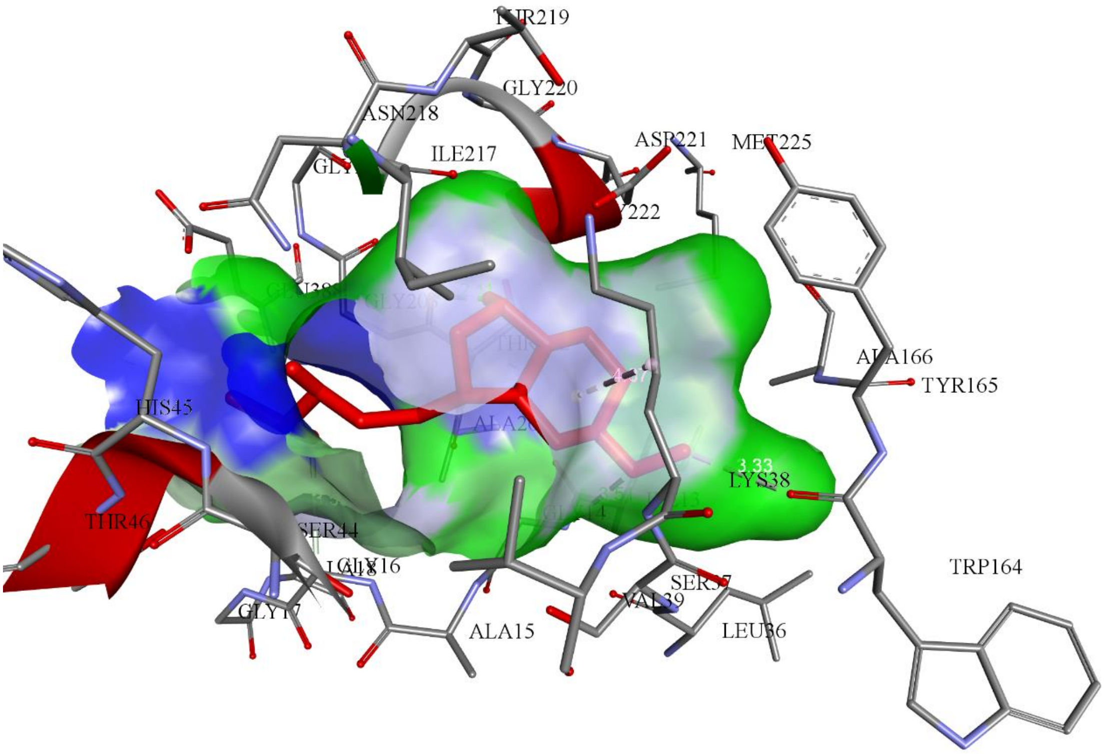

Рисунок 8 – Визуализация энергетической оболочки мелатонина в FAD - домене SDHA субъединицы (мелатонин обозначен красным цветом)

Таким образом, взаимодействие мелатонина с сукцинатдегидрогеназой может привести к блокированию каталитического домена SDHA субъединицы. Пространственное расположение и обнаруженные типы связей при комплексообразовании мелатонина с FAD могут быть конкурентоспособными относительно нативного лиганда, проявляя возможное ингибирующее действие.

ГЛАВА 4
КОРРЕКЦИЯ МЕЛАТОНИНОМ ВЫЯВЛЕННЫХ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ СДВИГОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ АЛЛОКСАН – ИНДУЦИРОВАННОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

При оценке эффективности терапевтического применения мелатонина использовались две дозировки – 0,1мг/кг и 1 мг/кг. Гормон вводили ежедневно (25 дней) в вечернее время суток (18 - 19 часов).

Интегральные показатели животных с аллоксановым диабетом демонстрировали уменьшение массы тела, заметное увеличение потребления воды и суточного диуреза. К концу эксперимента смертность животных составила 30 %.

Применение мелатонина в изучаемых дозах эффективно предотвращало гибель животных, объем потребляемой жидкости и уровень суточного диуреза уменьшались, что в целом было сопоставимо не только с показателями контрольной группы, но и с данными интактных животных. Мелатонин способствовал также восстановлению массы тела на 13 % независимо от дозы вводимого гормона.

Результаты биохимических исследований основных показателей углеводного и липидного обмена подтвердили эффективность применения мелатонина только в дозе 1 мг/кг. Возможно, это объясняется тем, что аллоксан в дозе 150 мг/кг у крыс с низкой уремической чувствительностью не вызывал заметных сдвигов в углеводном обмене, как было показано ранее.

Выраженные сдвиги наблюдались в группе животных с высокой уремической чувствительностью.

Гликогемоглобин при введении разных доз мелатонина заметных сдвигов не демонстрировал и оставался на достаточно высоком уровне у всех животных, что, возможно, связано с тем, что показатель экспонирует средний уровень сахара в крови в течение длительного периода (таблица 6).

Таблица 6 – Показатели углеводного обмена в сыворотке крыс с разной чувствительностью к аллоксану

Показатель		Глюкоза ммоль/л	Гликогемоглобин (%)
Контроль (физ. р-р)		6.3 (5.9/6.4)	5.2 (5.1/5.4)
Алл 150 мг/кг	НУЧ	6.6 (5.8/6.3)	7.8 (7.5/7.8) *
	ВУЧ	11.5(11.3/12.3)*	12.0 (12.1/12.2) *
Алл +МТ 0,1 мг/кг	НУЧ	6.1 (5.9/6.3)	6.3 (6.2/6.5) *
	ВУЧ	8.6 (7.9/8.6)*	10.6 (10.5/10.9) *
Алл+МТ 1 мг/кг	НУЧ	6.8 (6.6/6.8)	6.2 (5.8/6.7)
	ВУЧ	6.7 (6.5/6.8)	10.5 (10.1/10.8) *

Примечание: * $p < 0,05$ – достоверность различий при сравнении показателей экспериментальных групп ссоответствующими контрольными группами.

Введение мелатонина в дозе 0,1 мг/кг сопровождалось снижением всех показателей липидного обмена в группе с НУЧ: общего холестерина - на 4 %, ТГ – 25 %, ЛПНП – 57 %, ЛПВП – 11 %, НЭЖК – 30 % в сравнении с показателями животных с аллоксан-индуцированным СД. Отношение ЛПНП/ЛПВП составляло 1,12, как у контрольных крыс, в то время как у крыс с аллоксановым диабетом этот коэффициент составлял 1,92 (таблица 7).

Использование большей дозы не изменяло направленность сдвигов в сравнении с меньшей дозировкой, но наблюдалась выраженность эффекта для следующих показателей: концентрация ОХ снижалась на 34 % (при дозе 0,1 мг/кг на 4 %); ЛПВП – 24 % (при дозе 0,1 мг/кг 11 %), НЭЖК - 61 % 9 при дозе 0,1мг/кг 30 %). ТГ - 24 %, ЛПНП – 50 %, Соотношение ЛПНП/ЛПВП = 1,1, что также соответствует контрольным величинам.

Таблица 7 - Показатели липидного обмена в сыворотке крыс с разной чувствительностью к диабетогенному действию аллоксана при введении мелатонина

Эспериментальные группы		Изучаемые показатель				
		ОХ ммоль/мл	ТГ ммоль/л	ЛПНП (%)	ЛПВП (%)	НЭЖК ммоль/л
Аллоксан	НУЧ	2.33 (1.80/3.50)	1.77 (1.50/2.30)	2.67 (2.30/3,50)	1.39 (1.00/3,30)	1.79 (1.30/2.50)
	ВУЧ	2.81 (2.30/3.50)	1.58 (1.30/1.80)	3.64 (3.00/4.30)	1.52 (1.00/2.30)	1.91 (1.30/2.50)
Аллоксан +МТ 0,1 мг/кг	НУЧ	2.24 (2.00/2.80)	1.33 (1.00/1.50)	1.41* (1.30/1.80)	1.24 (1.00/1.50)	1.15 (1.00/1.50)
	ВУЧ	2.16 (2.00/2.80)	1.26 (1.00/1.50)	2.19* (2.00/2.50)	1.17 (1.00/1.80)	0.69* (0.50/0.80)
Аллоксан +МТ 1 мг/кг	НУЧ	1.96 (1.50/2.30)	1.29 (1.00/1.70)	1.36* (1.10/1.80)	1.23 (1.00/1.50)	0,98 (0.80/1.30)
	ВУЧ	1.90 (1.50/2.30)	1.21 (1.10/1.70)	1.82* (1.50/2.10)	1.15 (1.00/1.30)	0.74* (0.50/0.01)

Примечание: $^{*}p < 0{,}05$–достоверность различий при сравнении показателей экспериментальных групп с соответсвующими соконтрольными группами.

Содержание ОХ, ТГ и ЛПВП У животных обеих групп с синдромом ВУЧ и НУЧ снижалось в среднем в 1,3 раза, а уровень ЛПНП И НЭЖК - в среднем в 1,7 - 2, 6 раза по сравнению с показателями соответствующего контроля (таблица 7).

Заметные сдвиги наблюдались и при изучении состояния про - и антиоксидантного статуса. Отмечено было, что мелатонин проявлял выраженную антиоксидантную активность, что соответствует литературным и нашим данным. Установлено было, что при использовании обеих дозировок у крыс с НУЧ содержание вторичного оксидантного продукта – МДА - уменьшалось в 1,1

(0,1мг/кг) и 1,2 (1 мг/кг) раза, а у животных с синдромом ВУЧ - в 1,4 (0,1 мг/кг) и 2 раза (1 мг/кг) (таблица 8).

Таблица 8 – Влияние разных доз мелатонина на состояние про - и антиоксидантного статуса в сыворотке крови крыс

Экспериментальные группы		Изучаемые показатели		
		МДА, нмоль/мл	КАТ, мкат/л	СОД, ед
Контрольные крысы		3.72 (3.00/4.40)	2.25 (1.90/2.80)	2.55 (2.00/3.30)
Аллоксан	НУЧ	4.8 (4.20/5.40)*	3.45 (3.20/3.50)*	3.65 (3.50/3.80)*
	ВУЧ	7.5 (6.80/8.10)*	4.55 (2.90/6.50)*	5.25 (4.40/6.10)*
Аллоксан+ мелатонин 0,1 мг/кг	НУЧ	4.1 (3.60/4.80)	3.25 (2.80/4.20)	2.65 (2.30/3.00)
	ВУЧ	5.5 (4.80/6.00)	4.32 (3.90/5.10)	3.92 (3.40/4.20)
Аллоксан+ мелатонин 1 мг/кг	НУЧ	3.9 (3.60/4.30)	3.15 (2.80/3.50)	3.12 (2.80/3.90)
	ВУЧ	3.7 (3.30/4.10)	2.32 (2.00/2.80)	2.85 (2.50/3.30)

Примечание: $*p < 0,05$ - достоверность различий при сравнении показателей экспериментальных групп с соотвествующими контрольными группами.

Активность антиоксидантных ферментов в группах с НУЧ и ВУЧ снижалась на 5,8 и 8,7 % соответственно при введении мелатонина в дозе 0,1 мг/кг. Более выраженные сдвиги наблюдались при использовании дозы 1 мг/кг. Так, например, в этом случае значение показателей активности каталазы уменьшалось на 27,4 %, а СОД - на 12,8 %, что практически совпадало с показателями контрольной группы (таблица 8).

Сывороточная активность ферментов АСТ и АЛТ, являющаяся возможным показателем вовлеченности печени в патомеханизм сахарного диабета, под влиянием мелатонина в обеих дозировках значительно снижается и приближается к значениям в контрольной группе (таблица 9).

Таблица 9 - Показатели кортикостерона и аминотрансфераз в сыворотке крыс с различной чувствительностью к диабетогенному действию аллоксана после введения разных доз мелатонина

Экспериментальные группы		Изучаемые показатели		
		АСТ Е/л	АЛТ Е/л	КС нг/мг
Контрольные крысы		58.1 (57.8/60.3)	70.0 (67.3/74.6)	50.3 (47.8/54.0)
Аллоксан	НУЧ	60.2 (56.8/61.3)	73.0 (70.5/76.8)	55.1 (54.5/56.8)*
	ВУЧ	145.0 (142.3/150.0)*	150.0 (147.3/152.1)*	85.5 (82.3/87.8)*
Аллоксан + мелатонин 0,1 мг/кг	НУЧ	58.6 (53.4/62.2)	71.2 (68.2/74.3)	4.9 (4.1/5.9) $^{\#}$
	ВУЧ	75.2 (73.5/79.5) $^{\#}$	142.0 (137.2/146.8)	6.35 (5.1/7.4) $^{\#}$
Аллоксан + мелатонин 1 мг/кг	НУЧ	59.1 (56.30/64.5)	71.5 (68.0/74.0)	3.1 (2.8/3.5)
	ВУЧ	57.2 (54.3/60.0)	73.2 (71.8/76.0)	2.85 (2.5/3.3)

Примечание: *р < 0,05 – достоверность различий при сравнении показателей экспериментальных групп с контрольными $^{\#}$ < 0,05 – достоверность различий при сравнении показателей с группой с аллоксановым диабетом**.**

У животных после использования мелатонина заметно улучшалось состояние энергетического обмена. Это выражалось восстановлением активности СГД в ткани поджелудочной железы и заметным снижением ее активности в печени. Результаты наших исследований показали, что в печени активность сукцинатдегидрогеназы у крыс с НУЧ уменьшилось до 0,32 нмоль/мг белка (0,48 нмоль/мг белка с аллоксановым диабетом), а у крыс с ВУЧ - 0,5 нмоль/мг белка (0,75 нмоль/мг белка в группе с аалоксановым диабетом) и приближались к данным контрольной группы крыс (0,4 нмоль/мг белка). Такое снижение активности фермента в печени крыс свидетельствует о восстановлении функционирования ЦТК. В сравнении с тканями печени, поджелудочная железа, наоборот, демонстрировала высокий уровень активности СДГ, что может указывать на активацию интенсивности цикла Кребса в результате восстановления β - клеток Лангерганса. Активность фермента восстанавливалась у животных с 0,48 нмоль/мг до нормы (в контроле – 0,6 нмоль/мг белка), у крыс с с ВУЧ до 0,4 нмоль/мг белка (с 0,12 нмоль/мг белка у животных с аллоксановым диабетом).

Таким образом, мелатонин в дозе 1 мг/кг способствует нормализации содержания липидов в сыворотке крови у крыс с НУЧ и заметно улучшает состояние липидного и углеводного обмена у крыс с ВУЧ, что является важным аргументом для выбора препаратов, которые обладают не только выраженным сахароснижающим действием, но также и влиянием на ликвидацию дислипидемии. Введение мелатонина приводит к нормализации активности СДГ возможно через блокирование А домена фермента.

ГЛАВА 5
ГИСТОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У ЖИВОТНЫХ ПРИ АЛЛОКСАН – ИНДУЦИРОВАННОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ И ЕЕ КОРРЕКЦИЯ

5.1. Гистологическая характеристика поджелудочной железы в норме

Одним из направлений, позволяющих получить ценные сведения для понимания патогенеза СД, а также управления процессами репарации, является изучение степени морфофункционального повреждения β - клеток поджелудочной железы при аллоксановом диабете.

Поджелудочная железа в норме окутана рыхлой соединительнотканной капсулой. Капсула отдает соединительнотканные тяжи, которые разделяют железу на дольки. Отчетливо прослеживаются выводные протоки и сосуды, которые находятся в трабекулах. Степень наполнения сосудов слабая, и стенки тонкие. Дольки образованы скоплениями клеток – ацинусами. Их расположение достаточно плотное, без видимой ориентации клетки ацинусов имеют пирамидальную форму с выраженными ядрышками.

Поджелудочная железа имеет сложное строение и состоит из 2 частей: экзокринной и эндокринной. Структурно – функциональной единицей эндокринной части является ацинус, представленный скоплением 8 - 10 клеток. Экзокринная часть вырабатывает панкреатический сок, эндокринная часть вырабатывает гормоны (рисунок 9).

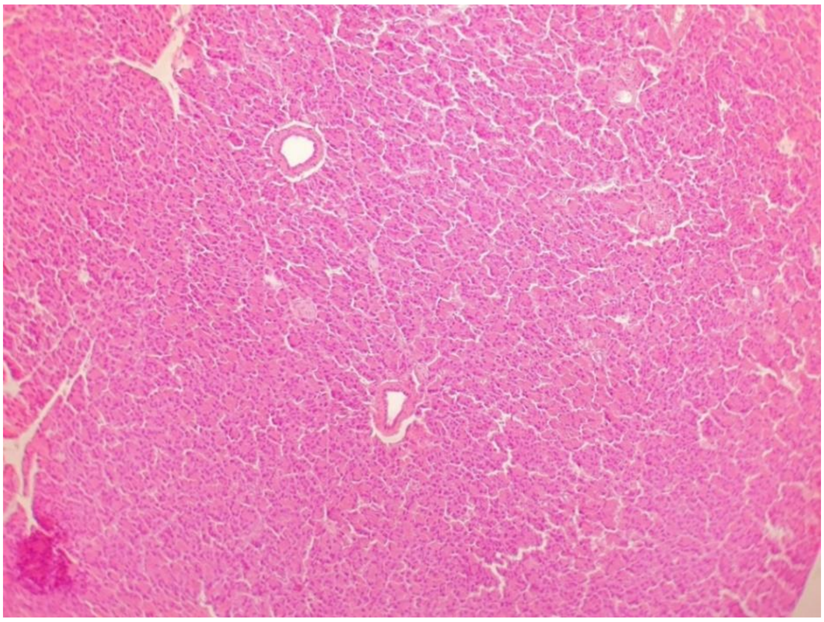

Рисунок 9 – Поджелудочная железа крысы в норме (контроль). Окраска: гематоксилином и эозином. Ув. х200

В паренхиме поджелудочной железы определяются эндокринные островки или островки Лангерганса. Эндокринная часть железы – островки Лангерганса, окрашены светлее экзокринной зоны железы (рисунок 10).

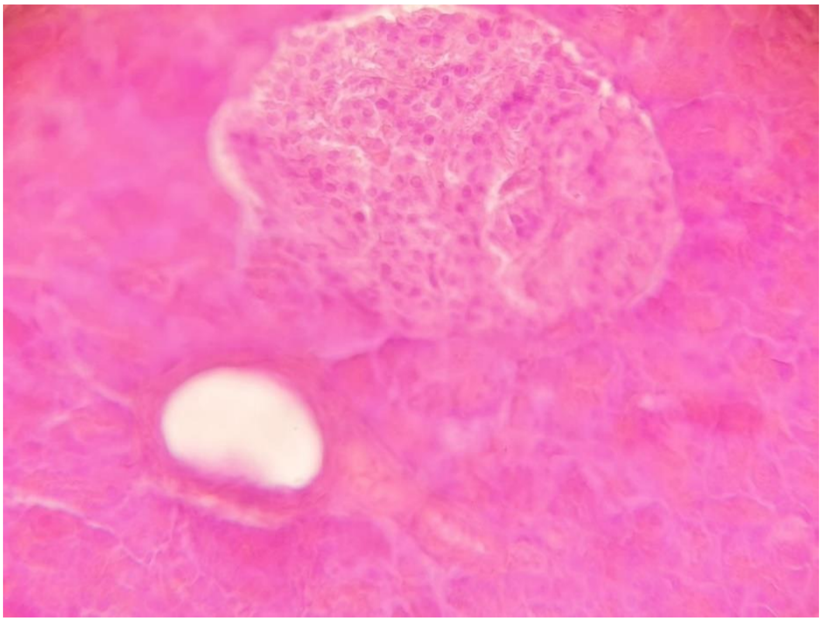

Рисунок 10 – Эндокринные островки поджелудочной железы крыс (островки Лангерганса) контроль. Окраска: гематоксилином и эозином. Ув. х400

В среднем на дольку приходится 3 - 4 островков Лангерганса. Островки Лангерганса располагаются между ацинусами. Большая часть островков - овальной или округлой формы, встречаются островки лентовидной или звездчатой формы. Диаметр островков составляет 103±0,04 мкм.

Островки Лангерганса состоят из эпителиальных клеток, среди которых определяется густая сеть кровеносных капилляров. Эпителиальные клетки островков представляют собой клетки паренхимы железы, потерявшие связь с выводными протоками. Их называют инсулярными клетками (рисунок 11).

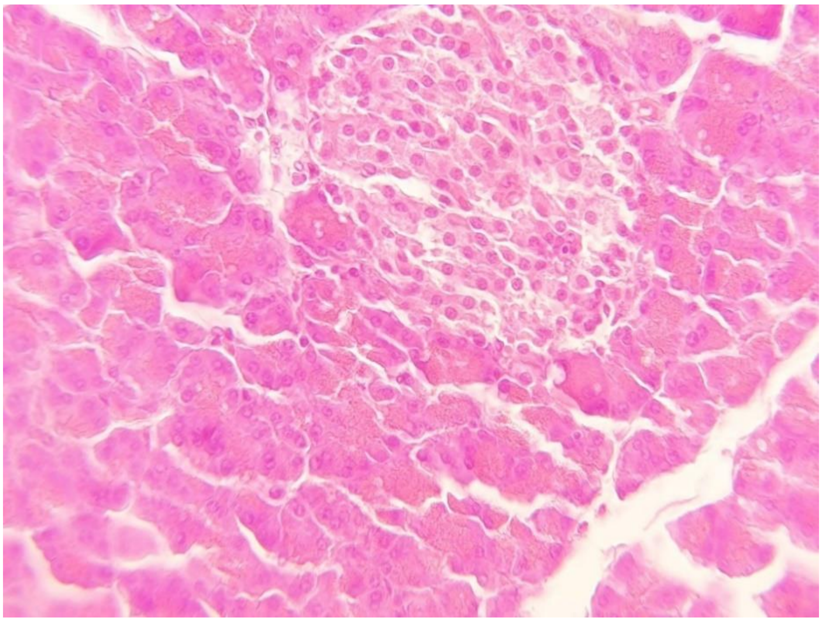

Рисунок 11 – Эпителиальные инсулярные клетки островков Лангерганса поджелудочной железы крыс (контроль). Окраска: гематоксилином и эозином. Ув.х400

Количество и размеры островков вариабельны. Эпителиальные клетки островков подразделяются на 5 групп: А - клетки, В - клетки, Д - клетки, Д - 1 и РР. А - клетки, вырабатывающие глюкагон, составляют 20 - 25% от общего числа инсулярных клеток, окрашиваются оксифильно. А - клетки эндокринных островков расположены на периферии островков (рисунок 12).

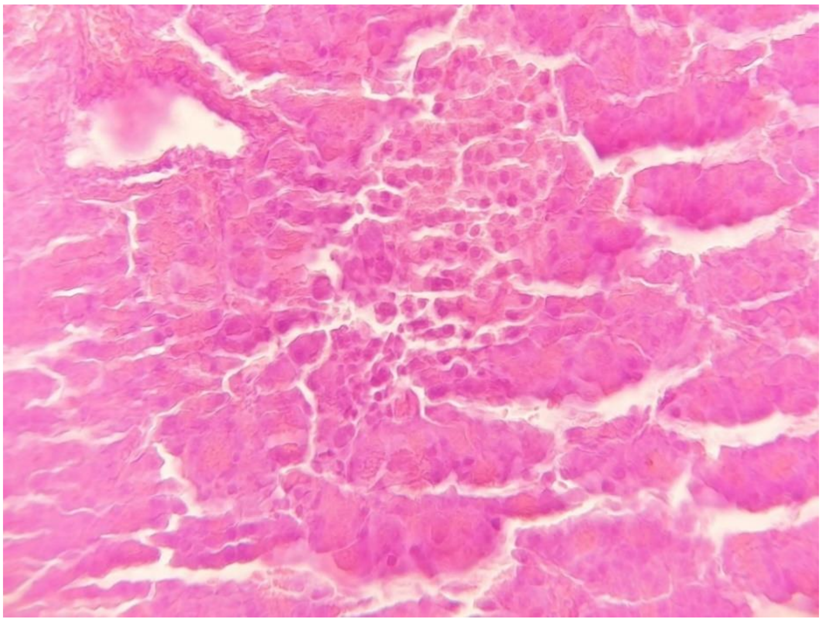

Рисунок 12 – А-клетки эндокринных островков поджелудочной железы в норме (контроль). Окраска: гематоксилином и эозином. Ув.х400

В - клетки, продуцирующие инсулин, составляют большую часть клеток эндокринных островков, на их долю приходится 70 – 75 %. Они окрашены базофильно. В цитоплазме β - клеток имеются секреторные гранулы. В - клетки располагаются в центре эндокринных островков, они больше α - клеток. Цитоплазма β - клеток бледная, ядро пузырьковидное. В ядре видны рыхло расположенные глыбки хроматина (рисунок 13).

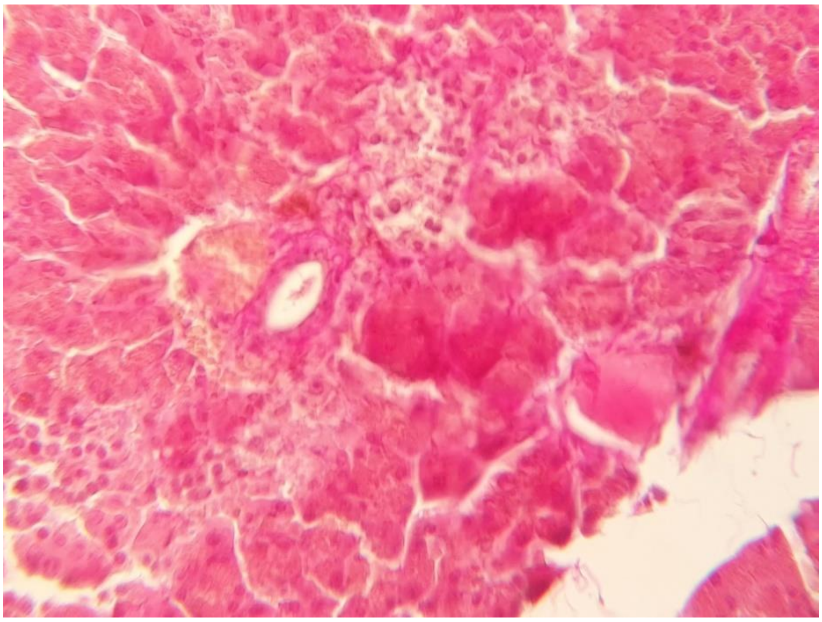

Рисунок 13 – В - клетки эндокринных островков поджелудочной железы в норме (контроль). Окраска: пикрофуксином по Ван Гизон. Ув.х400

Д - клетки, вырабатывающие соматостотин, темные, малочисленные, представляют дегенерирующие формы α - и β - клеток. Дельта - клетки составляют 5 – 10 %, располагаются на периферии островков, имеют грушевидную форму.

РР - клетки, вырабатывающие панкреатический полипептитд, составляют 2 - 5 % от всех инсулярных клеток, располагаются на периферии островков, в их цитоплазме определяются мелкие зерна.

5.2. Гистологические изменения в поджелудочной железе при аллоксан - индуцированном сахарном диабете

Согласно результатам исследования, внутрибрюшинное введение животным аллоксана вызывало изменение общего состояния животного и появление клинико-биохимических признаков, характерных для развития сахарного диабета (гипергликемия, глюкозурия, полифагия, полидипсия, полиурия, потеря веса).

При гистологическом исследовании поджелудочной железы крыс после введения аллоксана в дозе 150 мг/кг выявлено, что соединительнотканная капсула, покрывающая железу, более плотная. Стенки сосудов утолщены, внутренний слой рыхлый, клетки увеличены в размере с признаком вакуолизации. Наблюдается выраженное полнокровие сосудов, особенно в области островков. Наблюдается отек междольковой соединительной ткани. Контуры эндокриноцитов становятся нечеткими. Сосудистые нарушения: полнокровие вен, стазы, диапедезные кровоизлияния (рисунок 14).

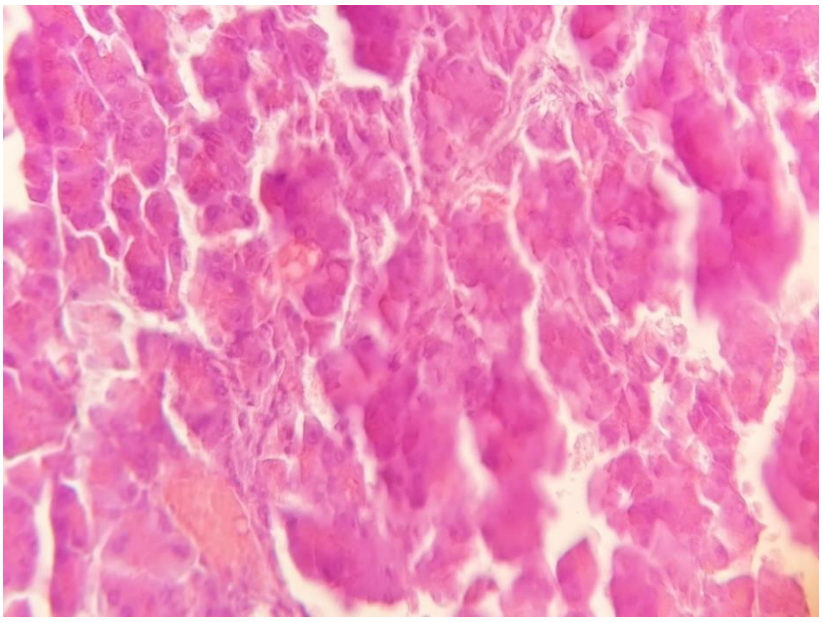

Рисунок 14 – Сосудистые нарушения: полнокровие вен, диапедезные кровоизлияния. Окраска: гематоксилином и эозином. Ув.х400

В строме поджелудочной железы, преимущественно в периваскулярных пространствах, обнаружен отек, средняя площадь инсулинопродуцирующих клеток резко снижается. В это же время площадь глюкагенопродуцирующих α - клеток возрастает (рисунок 15).

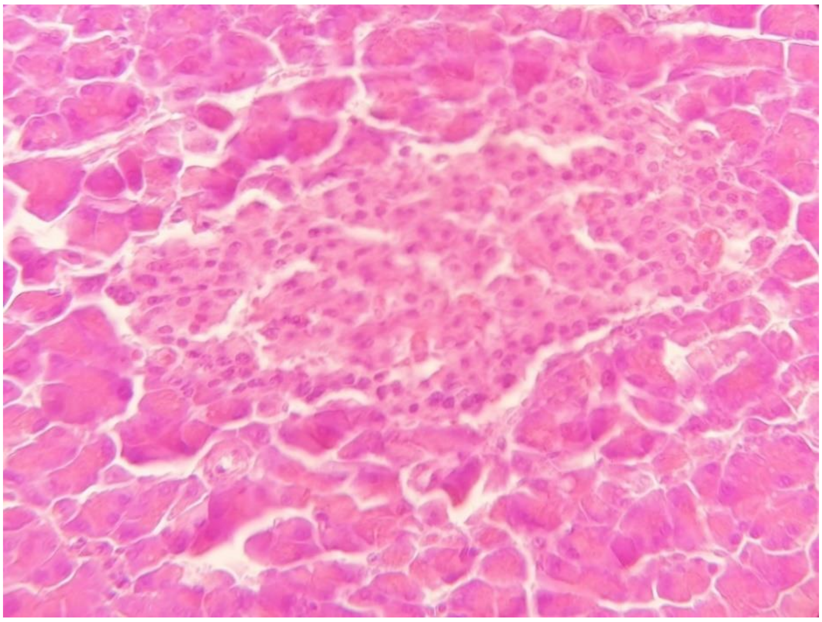

Рисунок 15 – Отек стромы поджелудочной железы. Окраска: гематоксилином и эозином. Ув.х400

Железистые дольки обычных размеров. Экзокриноциты ацинусов с дистрофильными изменениями. В цитоплазме клеток определяются скопления тканевой жидкости в виде вакуолей, т.е. развивается белковая гидропическая дистрофия (рисунок 16).

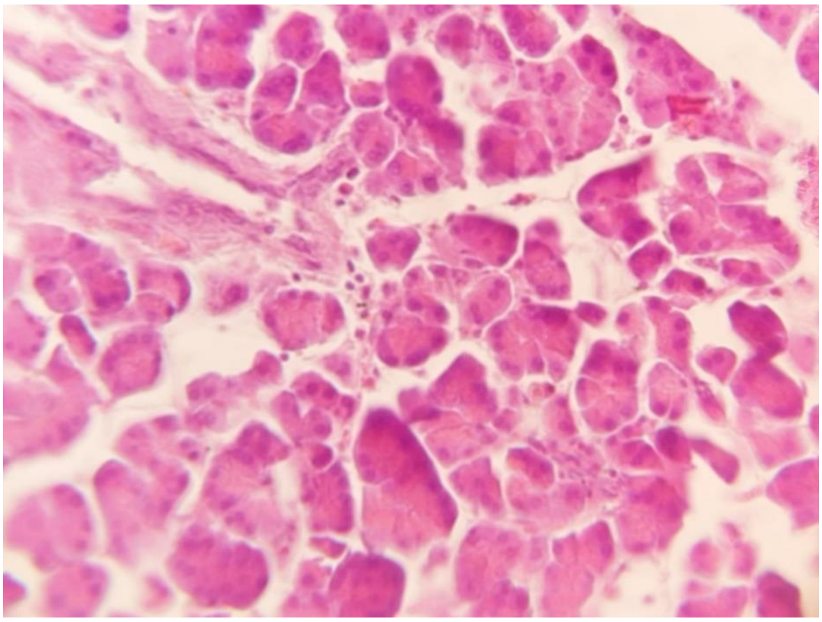

Рисунок 16 – Гидропическая белковая дистрофия экзокриноцитов поджелудочной железы крысы. Окраска: гематоксилином и эозином. Ув.х400

Уменьшенные в размерах панкреатические островки рассеяны по всей паренхиме железы (рисунок 17).

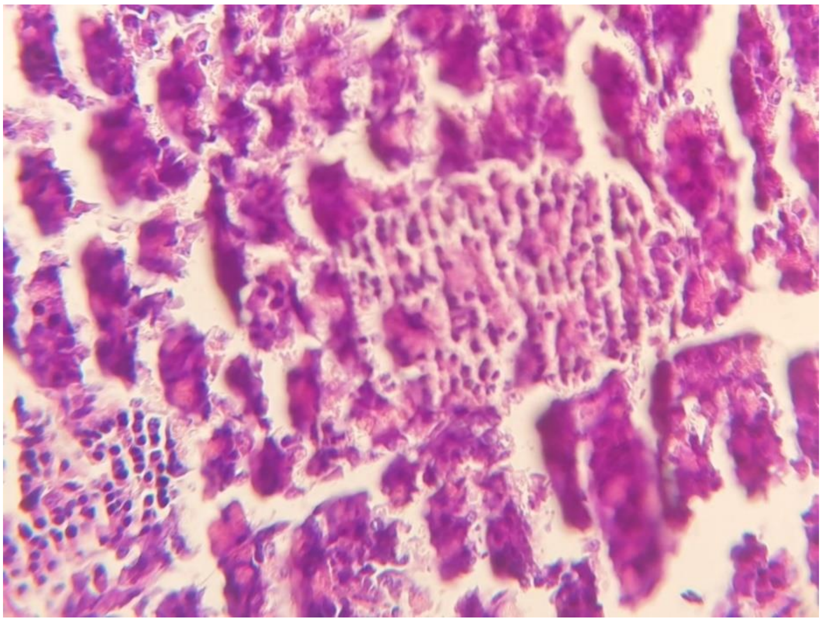

Рисунок 17 – Уменьшенные в размерах панкреатические островки поджелудочной железы. Окраска: гематоксилином и эозином. Ув.х400

У крыс с аллоксановым диабетом наблюдался отек междольковой соединительной ткани. В панкреатических островках кое - где можно проследить лимфоцитарную инфилтрацию. В части островков наблюдалась деструкция. С помощью морфометрических исследований установлено, что к концу эксперимента показатели диаметра панкреатических островков уменьшались в 1,4 раза по отношению к показателям интактных (таблица 10).

Таблица 10 – Показатели диаметра панкреатических островков поджелудочной поджелудочной железы крысы при аллоксан – индуцированном сахарном диабете

Группы сравнения	Исследуемые показатели		
	Диаметр панкреатических островков (мкм)	Количество β -клеток	
Интактные	103±0,04	75%	25%
Введение аллоксана	71,3±0,04	45%	55%
Введение мелатонина	98,5±0,05	70%	30%

На следующем рисунке отмечается деформация островков Лангерганса, они сморщены, неправильной формы (рисунок 18).

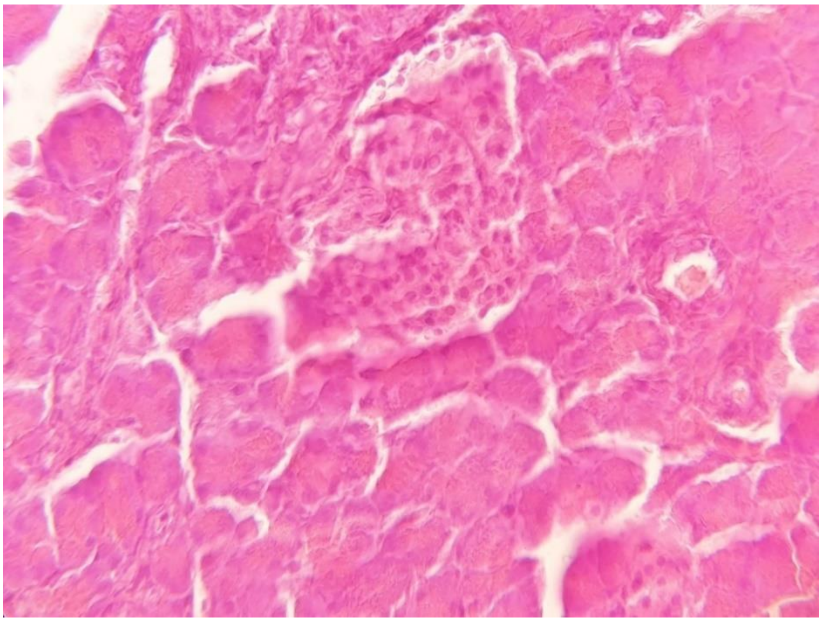

Рисунок 18 – Деформированные островки Лангерганса поджелудочной железы крысы. Окраска: гематоксилином и эозином. Ув.х400

В островках Лангерганса наблюдается уменьшение количества β - клеток. В центре островков появляются пустоты (рисунок19).

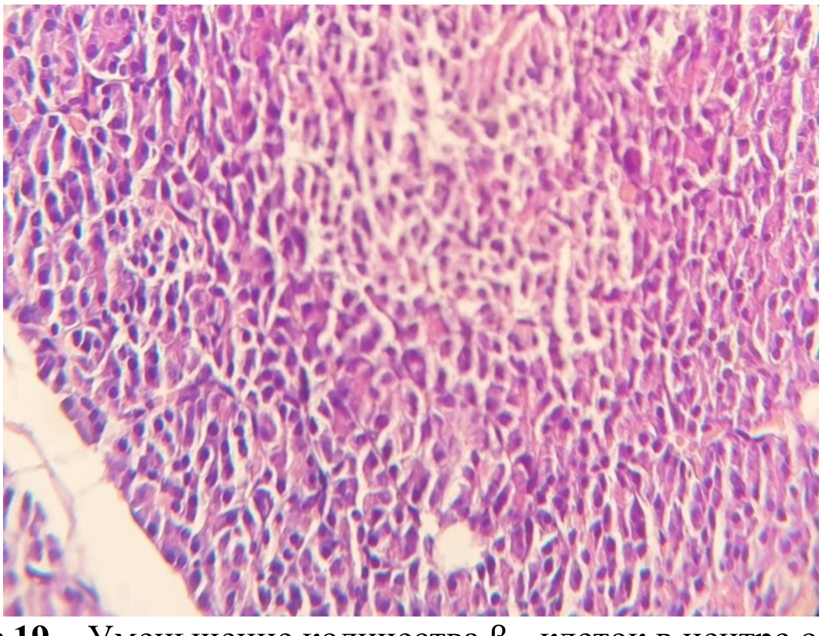

Рисунок 19 – Уменьшение количества β - клеток в центре островков Лангерганса. Окраска: гематоксилином и эозином. Ув.х400

В соответствии с этим увеличивается количество α - клеток до 55% (таблица 10). В островках Лангерганса выявлены некробиотические и некротические изменения β - клеток. На их месте определяются пустоты (рисунок 20).

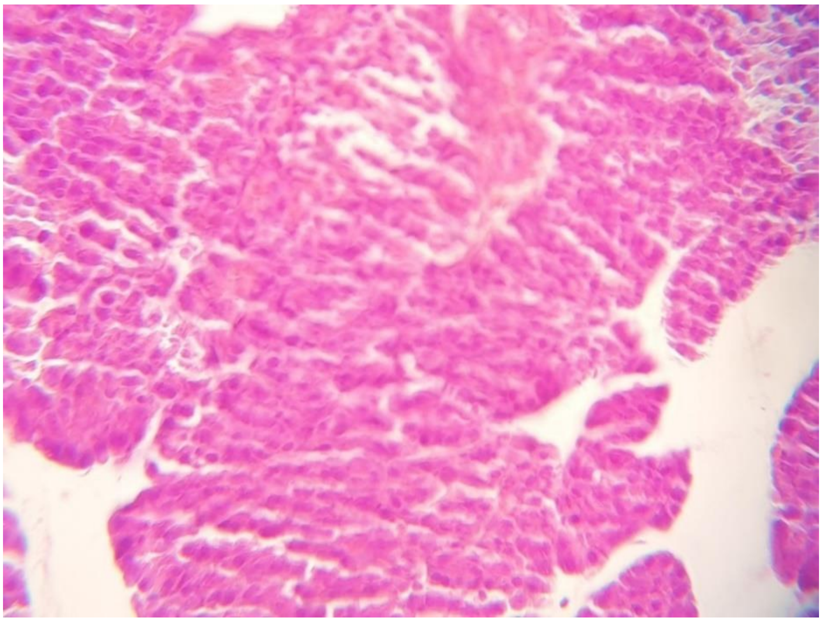

Рисунок 20 – Пустоты на месте β - клеток в панкреатических островках поджелудочной железы. Окраска: гематоксилином и эозином. Ув.х400

В некоторых клетках островков были обнаружены атрофические изменения, островки окружены соединительнотканной капсулой. Между клетками островков отмечаются разрастание соединительной ткани и гиалиноз (рисунок 21).

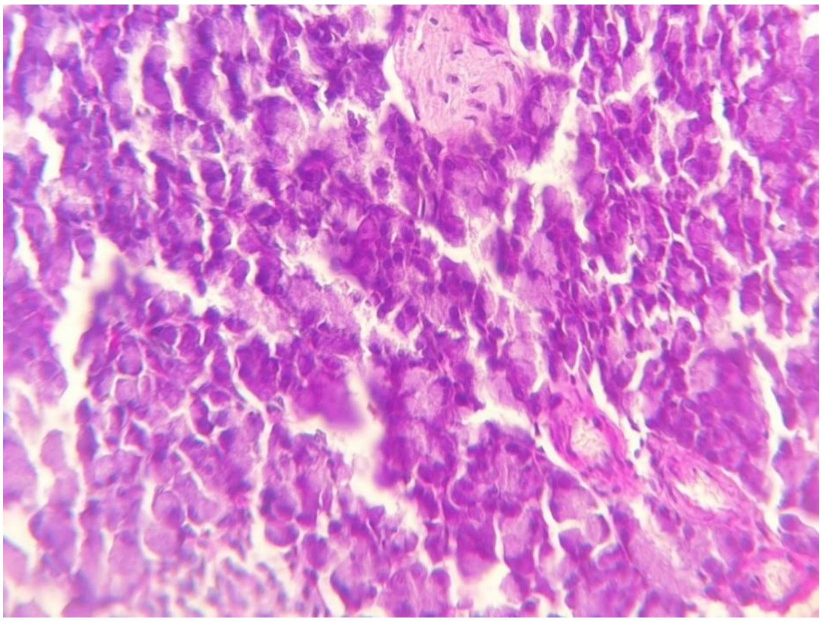

Рисунок 21 – Склероз панкреатических островков поджелудочной железы. Окраска: гематоксилином и эозином. Ув.х400

Железистые дольки поджелудочной железы атрофированы и деформированы. В строме железы отмечаются разрастание соединительной ткани и гиалиноз (рисунок 22).

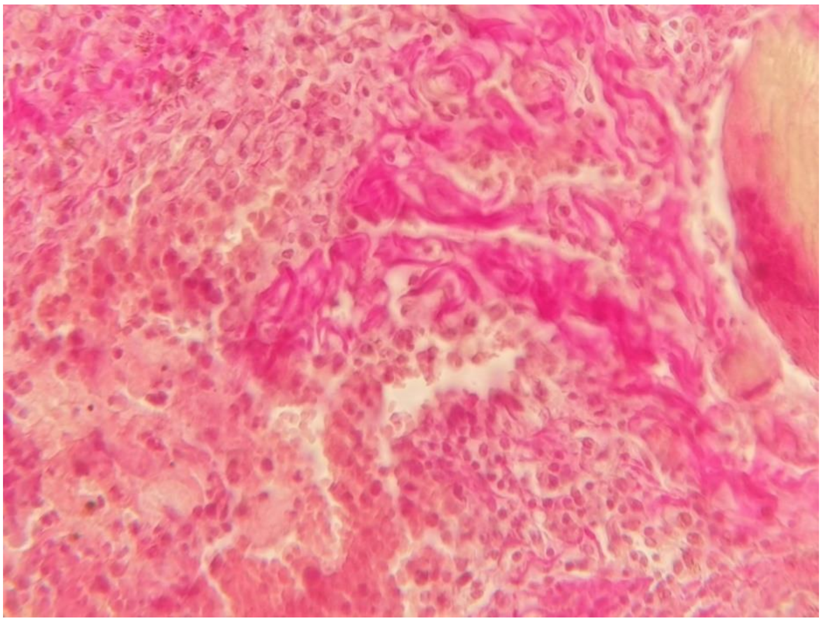

Рисунок 22 – Разрастание соединительной ткани в строме поджелудочной железы. Окраска: пикрофуксином по Ван Гизон.Ув.х400

В поджелудочной железе при аллоксан - индуцированном сахарном диабете наряду с атрофическими, дистрофическими и некротическими изменениями β – клеток островков обнаружены признаки начинающейся регенерации.

Таким образом, при введении аллоксан - тетрагидрата в дозе 150 мг/кг у лабораторных животных развивается аллоксан - индуцированный сахарный диабет средней степени, который характеризуется изменением размеров панкреатических островков, деформацией их, уменьшением количества β - клеток, развитием дистрофических изменений, некробиоза и некроза β - клеток с образованием пустот. Отмечается дегрануляция β - клеток. В строме островков наблюдаются склероз и гиалиноз.

В паренхиме поджелудочной железы выявлены сосудистые нарушения (полнокровие, стазы кровоизлияния, стромальный отек). Ацинулы железы атрофированы и деформированы. В строме наблюдаются разрастание соединительной ткани и гиалиноз. У животных, чувствительных к аллоксану, наблюдались диффузное венозное полнокровие железы, множественные кровоизлияния в паренхиму и строму железы (рисунок 23).

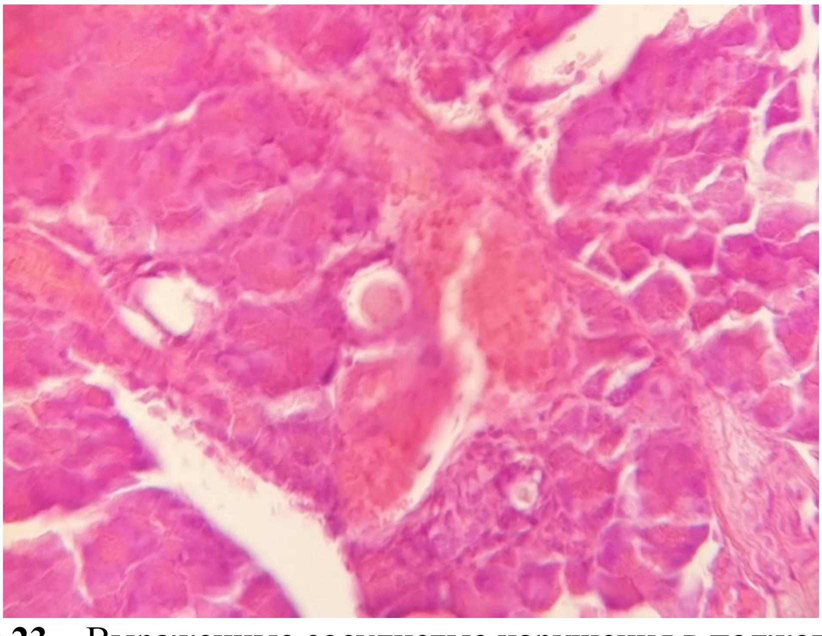

Рисунок 23 – Выраженные сосудистые нарушения в поджелудочной железе при аллоксан - индуцированном сахарном диабете.
Окраска: гематоксилином и эозином. Ув.Х400

Был выявлен распространенный интерстициальный отек (рисунок 24).

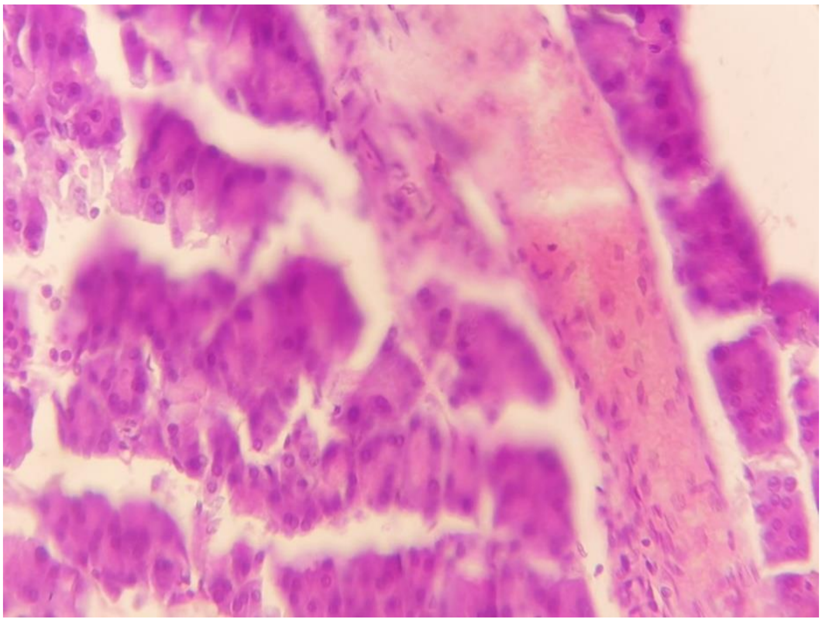

Рисунок 24 – Выраженный интерстициальный отек стромы поджелудочной железы. Окраска: гематоксилином и эозином. Ув.х400

В островках Лангерганса развивались тяжелые дистрофические изменения и некроз β - клеток. На месте разрушенных β - клеток хорошо видны пустоты. Островки Ланегрганса опустошены (рисунок 25).

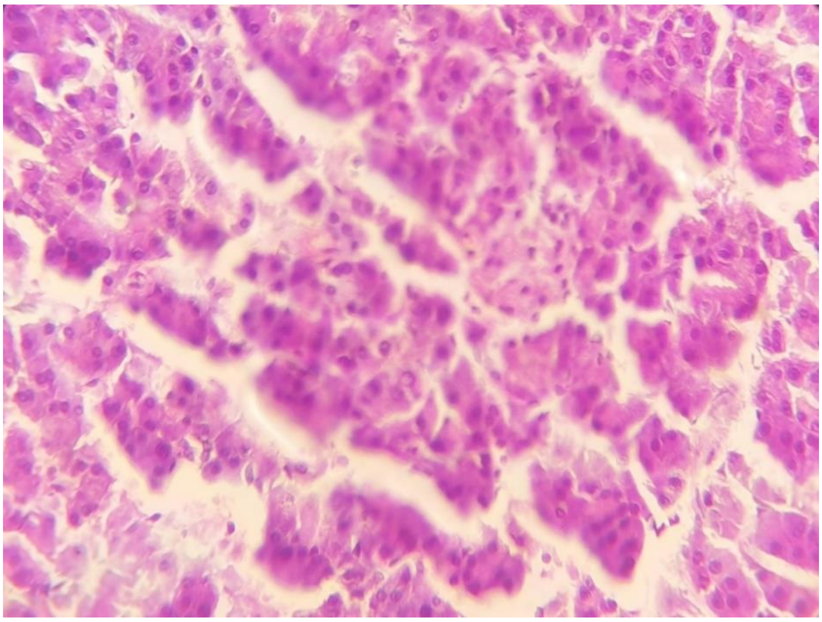

Рисунок 25 – Опустошенный островок Лангерганса поджелудочной железы крыс. Окраска: гематоксилином и эозином. Ув.х400

В некоторых наблюдениях в строме поджелудочной железы обнаружены очаговые лимфоцитарные инфильтраты (рисунок 26).

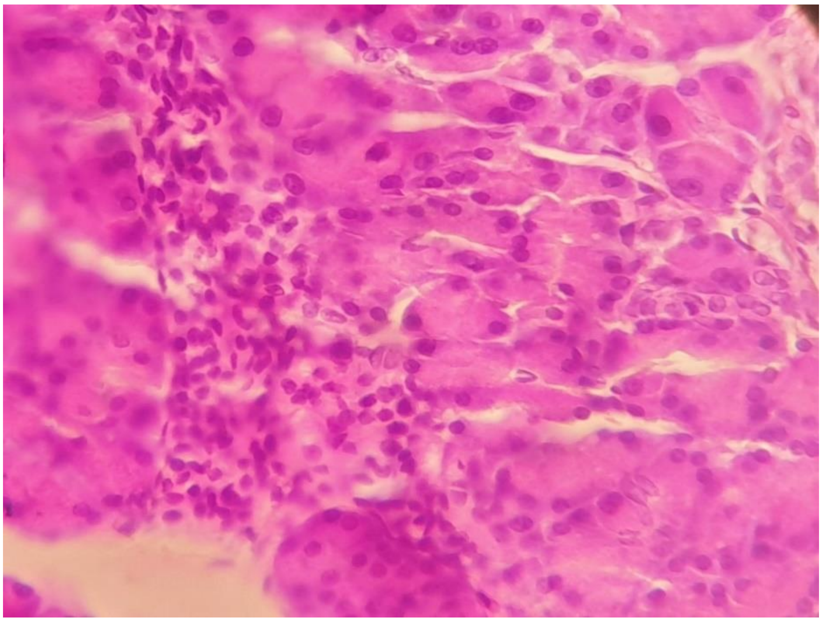

Рисунок 26 – Очаговые лимфоцитарные инфильтраты в строме поджелудочной железы. Окраска: гематоксилином и эозином. Ув.х400

Таким образом, у высокочувствительных к аллоксану животных в поджелудочной железе развиваются тяжелые сосудистые нарушения, резко выраженный интерстициальный отек, некробиоз и некроз β - клеток с опустошением островков Лангерганса.

5.3. Гистологическая характеристика поджелудочной железы крыс при аллоксан - индуцированном сахарном диабете с применением мелатонина

При применении мелатонина у крыс с аллоксан - индуцированным сахарным диабетом в поджелудочной железе обнаружены умеренные сосудистые нарушения в виде полнокровия вен и стазов (рисунок 27).

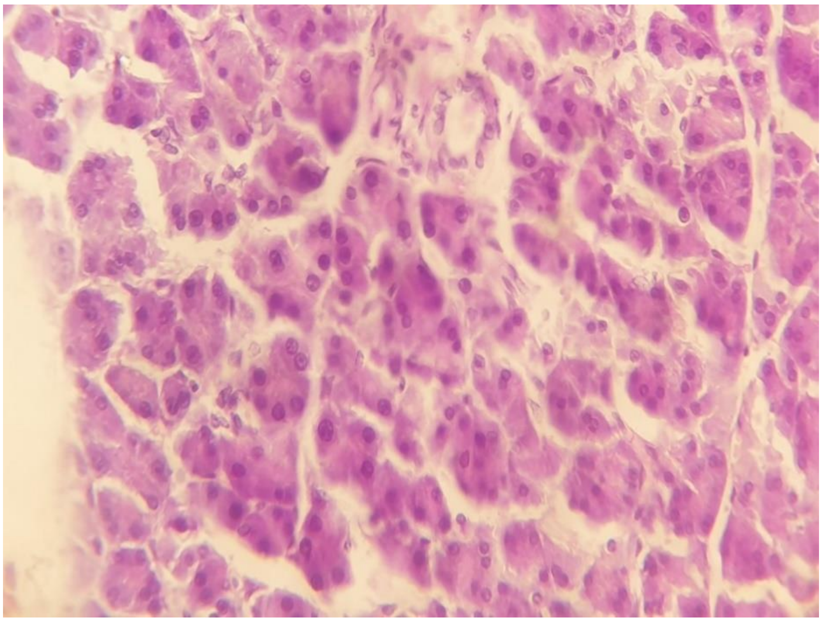

Рисунок 27 – Умеренные сосудистые нарушения в поджелудочной железе. Окраска: гематоксилином и эозином. Ув.х200

Диапедезные кровоизлияния не выявлены. В перивенулярных пространствах определяется начинающийся незначительный отек (рисунок 28).

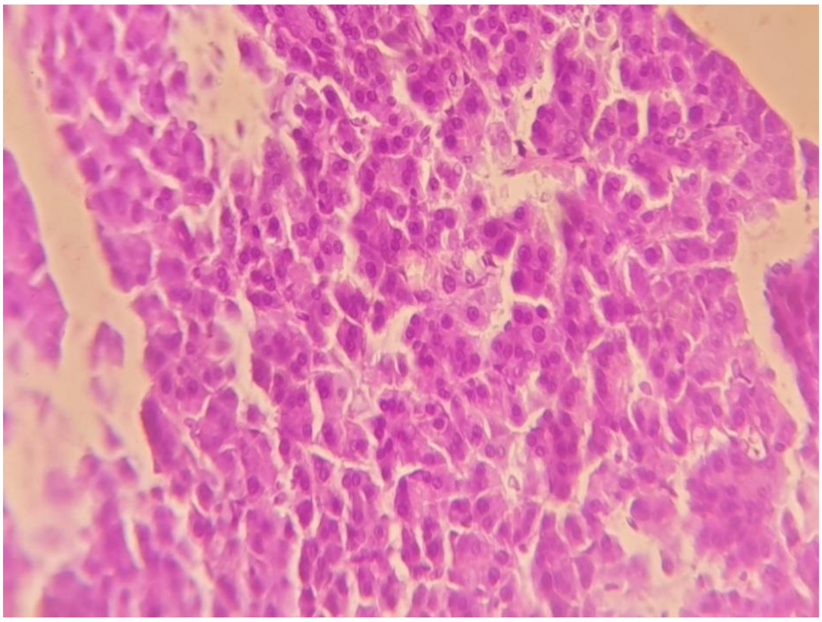

Рисунок 28 – Начинающийся незначительный отек в перивенулярных пространствах. Окраска: гематоксилином и эозином. Ув.х400

Дольки поджелудочной железы не изменены в размерах. Экзокриноциты без патологических изменений. Панкреатические островки незначительно уменьшены в размерах, диаметр их составляет 98,5+0,05 мкм (таблица 10). Форма островков сохранена (рисунок 29).

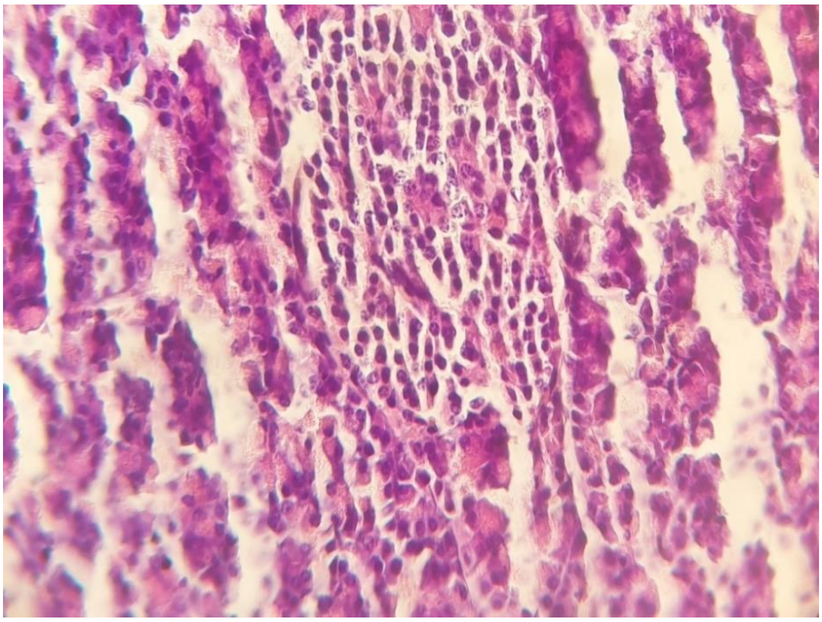

Рисунок 29 – Панкреатические островки овальной формы. Окраска: гематоксилином и эозином. Ув.х400

В панкреатических островках уменьшается количество β - клеток и составляет 30 % (таблица 10). Однако уменьшение β - клеток в данной группе менее выражено, чем в группе с аллоксановым диабетом. Соответственно увеличивается число α - клеток (таблица 10). Признаки некробиоза и некроза в островках не выявлены. Определяются дистрофические изменения β - клеток (рисунок 30).

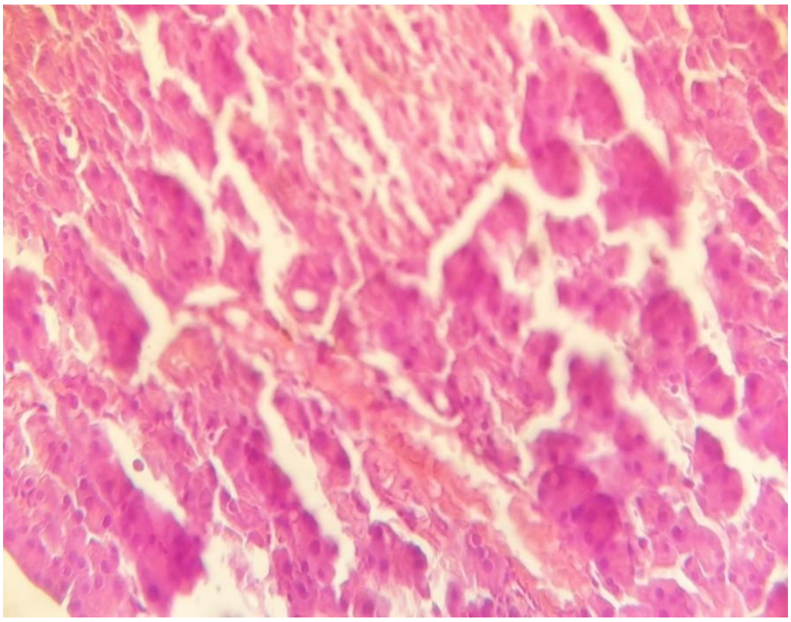

Рисунок 30 – Дистрофические изменения β - клеток в панкреатических островках. Окраска: гематоксилином и эозином. Ув.х400

В панкреатических островках четко выражена соединительнотканная строма. Склеротические изменения в строме не обнаружены. Дольки поджелудочной железы без патологических изменений.

В данной экспериментальной группе обнаружены признаки регенерации клеток панкреатических островков. При использовании мелатонина репаративные процессы в поджелудочной железе более интенсивные.

Таким образом, при применении мелатонина патологические изменения в поджелудочной железе менее выражены: сосудистые нарушения умеренные, отек носит очаговый характер, деструктивные изменения (некробиоз и некроз) не обнаружены. Опустошенных и гиализированных островков нет. Форма островков сохранена. Количество β - клеток уменьшено незначительно. Репаративные изменения проходят более интенсивно.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного исследования было установлено:

во – первых, полученные результаты по моделированию сахарного диабета первого типа обосновывают использование аллоксан - тетрагидрата в дозе 150 мг/кг для изучения физиологических, биохимических и гистологических сдвигов, характерных для данной патологии в эксперименте;

во – вторых, установлено, что при моделировании сахарного диабета у животных (самцов) линии Wistar уже в течение первых суток эксперимента проявилась индивидуальная чувствительность (гетерогенность) к токсичному действию аллоксана, что позволило разделить животных на две подгруппы – с высокой и низкой уремической активностью. Эти группы отличались по состоянию активности печеночных ферментов (АСТ, АЛТ, СДГ), по содержанию кортикостерона в крови, по антиоксидантному статусу, по сдвигам в липидном и углеводном обмене;

в – третьих, цитотоксическое действие аллоксана явилось причиной выраженных патоморфологических изменений поджелудочной железы (уменьшением и изменением размеров β - клеток, развитием некроза с образованием пустот, их дегрануляцией, в строме островков наблюдались склероз и гиалиноз);

в – четвертых, результаты экспериментов подтверждают участие мелатонина в регуляции работы поджелудочной железы, поддержании энергетического гомеостаза организма в целом, а потому и в генезе сахарного диабета. Установлено, что мелатонин в силу своей плейотропности может оказывать цитопротекторное, антиоксидантное, гипохолестеринемическое и гипогликемическое действие. Однако для эффективного применения мелатонина в лечебных целях большое значение имеет подбор дозы препарата. В наших экспериментах фармакологический эффект мелатонина в дозе 1,0 мг/кг был существенно более выражен по сравнению с дозой 0,1мг/кг.

Проведение исследований, посвященных моделированию сахарного диабета и изучению эффектов аллоксана в отношении основных звеньев патогенеза, было продиктовано рядом причин: во - первых, вопросом об универсальности биохимических изменений в клетках и тканях для всех типов диабета, а во - вторых, ролью таксономических групп в развитии диабетических состояний организма. Аллоксан в силу своей гидрофильности и нестабильности [K. Goto et. al., 2019] проникнуть через плазматическую мембрану не способен. Однако, вследствие своей схожести с глюкозой ГЛЮТ - 2 может воспринять его как аналог глюкозы и способствовать проникновению в цитозоль [K. Goto et. al., 2019], чего нельзя сказать о липофильных производных аллоксана, например, бутилаллоксане. Эти вещества способны проникнуть через мембрану без переносчика ГЛЮТ - 2, но в то же время их действие преимущественно токсическое, а не диабетогенное. Поэтому существует мнение, что именно гидрофильность аллоксана и есть основное свойство, ответственное за избирательную аккумуляцию в β - клетках. Аллоксан, аккумулируясь в β - клетках, блокирует глюкокиназу, что, возможно, и становится причиной уменьшения секреции инсулина и синтеза АТФ [А.Н. Климов, 1995; В.Б. Гриневич и соавт., 2015]. Наши данные также демонстрируют невысокий уровень активности фермента СДГ в поджелудочной железе, что, возможно, становится причиной снижения активности цикла Кребса. Однако одновременно с этим мы наблюдали повышение активности данного фермента в ткани печени крыс, что может указывать на ускорение функционирования ЦТК, и увеличение поставок энергетических эквивалентов АТФ - НАДН и адаптацию клеточного метаболизма в гепатоцитах. Результаты исследования активности показали, что выраженность сдвигов наблюдается у животных с ВУЧ. Известно, что фермент СДГ не только является высоко - субстратспецифичным, но и сопряжен с внутренней митохондриальной мембраной [А. Ленинджер, 1985]. В этой связи более выраженное (в 2,6 раза) снижение его активности при диабете позволяет говорить о существенных нарушениях аэробного синтеза АТФ в митохондриях поджелудочной железы.

Ряд авторов относит образование диалуровой кислоты к основной причине токсического поражения β - клеток, вызыванного аллоксаном, т.к. аутоокисление данной кислоты приводит к образованию супероксидного радикала (O_2^-) и перекиси водорода (H_2O_2), а в финальной реакции - гидроксильных радикалов (•OH) [В.Я Бродский и соавт., 2010; Д.А. Куликов и соавт., 2014; С.Г. Дзугкоев и соавт., 2016], которые в конечном итоге и отвечают за гибель β - клеток, особенно с низкой антиоксидантной способностью [Р.М. Заславская и соавт., 2007; Н.Н. Каладзе и соавт., 2010; Э.Б. Арушанян и соавт., 2016]. Если уменьшить образование активных форм кислорода, можно предупредить разрушение β-клеток и развитие аллоксанового диабета [Н.Н. Васильева и соавт., 2014; И.А. Волчегорский и соавт., 2015].

В нашем случае при моделировании сахарного диабета у животных линии Wistar уже в течение первых суток эксперимента проявилась гетерогенность в индивидуальной чувствительности к токсичному действию аллоксана. Возможно, это связано с механизмами адаптации животных к изменениям внешней и внутренней среды, которые значительно отличаются у разных организмов скоростью и выраженностью в зависимости от индивидуальных особенностей каждого. Как известно, механизм реализации стресс - реакции запускается в гипоталамусе под влиянием нервных импульсов. Происходит активация системы гипоталамус-гипофиз-кора надпочечников. В современной литературе преобладают сведения, указывающие на преимущественно сдерживающий контроль эпифиза и его мелатонина деятельности различных эндокринных желез, в том числе и надпочечников [Э.Б. Арушанян, К.С.Эльбекьян, 1993]. В частности, внутрижелудочковое введение МТ вызывало падение уровня глюкокортикоидов в плазме крови крыс. Однако такое вмешательство не может быть однозначным, исходя из понимания места эпифиза в системе эндокринной регуляции. МТ должен осуществлять лишь модуляторный, поправочный контроль работы периферических желез. На это указывают и наши наблюдения.

В частности, использование мелатонина в дозе 0,1 мг/кг привело к заметному падению уровня кортикостерона. Такой же сдвиг нами был зарегистрирован и от дозы 1 мг/кг вещества. Впрочем, следует отметить, что у 10 % крыс этой группы какие-либо нарушения вообще отсутствовали. Мелатонин в дозе 0,1 и 1,0 мг/кг приводил к падению уровня гормона надпочечников кортикостерона на 19,5 и 9,0 % (соответственно) в сравнении с показателями животных контрольной группы. Исходя из полученных результатов, следует, вероятно, признать существование сдерживающего контроля со стороны эпифиза функции коркового вещества надпочечников.

Зафиксированный рост активности трансаминаз в сыворотке крови могут указывать на повреждение мембран гепатоцитов, изменение их проницаемости, а также на апоптоз клеток печени. О преимущественном повреждении внешних мембран клеток печени аллоксаном у животных с НУЧ свидетельствует значительное повышение активности АЛТ – цитоплазматического энзима по сравнению с изменением активности АСТ, имеющего митохондриально-цитоплазматическую локализацию, в то время как у животных с ВУЧ активность АСТ выше, что указывает на более глубокие повреждения митохондрий.

В наших исследованиях активность индикаторных ферментов клеток печени АСТ и АЛТ и степень их поражения оказались заметно выше у животных как с низкой, так и высокой уремической чувствительностью. У крыс с НУЧ значения АСТ оказались выше в 2,1 раз, а АЛТ - в 1,7 раза. У крыс с ВУЧ активность АСТ выше в 2,6 раза, а АЛТ – в 2 раза. Соотношение показателей коэффициента де Ритиса точно определяет локацию воспалительного очага. У контрольных крыс его величина соответствует 1,3. В нашем случае у крыс с НУЧ он равен 1,1, а у животных с ВУЧ – 0,96, что ниже нормы на 0,3%. Более выраженное снижение коэффициента говорит о глубоких повреждениях в печени.

Трудности адаптации животных с сахарным диабетом могут быть обусловлены нарушениями в энергетическом обмене организма. Для подтверждения вклада изменений энергетического обмена в формирование особенностей течения сахарного диабета был проведен анализ показателей активности основного маркера интенсивности клеточных энергетических реакций – СДГ в тканях печени и поджелудочной железе и изменение уровней нуклеотидов.

Результаты исследования активности сукцинатдегидрогеназы показали, что выраженность сдвигов наблюдается в печени у животных с ВУЧ. Известно, что фермент СДГ является субстратспецифичным и сопряжен с внутренней митохондриальной мембраной [А.Ленинджер, 1985]. В этой связи более выраженное (в 2,6 раза) снижение его активности при диабете позволяет говорить о существенных нарушениях аэробного синтеза АТФ в митохондриях поджелудочной железы и превалировании катаболических процессов в печени, приводящих к повышению энергетического заряда клетки, необходимого для осуществления адаптивной реакции.

Использование методов молекулярной биологии позволило установить, что индукция активности СДГ осуществляется благодаря синтезу de novo [М.А. Гати, 2013]. Этим же автором показано, что активация адаптационных механизмов, направленных на компенсацию энергетического дефицита, проявляется, в первую очередь, ускорением обмена веществ (обмен липидов, белков) и изменением состояния про - и антиоксидантной системы.

Патоморфологические изменения в островковой части поджелудочной железы и нарушение балочной структуры долек гепатоцитов сопряжены с трансформацией основных путей клеточного метаболизма, обеспечиваемой изменением функционирования ключевых ферментов цикла Кребса и глиоксилатного пути. Экспериментальный диабет индуцирует изменения уровней экспрессии генов *sdha*, *mdhjntx* и *aco,* обусловливая перестройку клеточного метаболизма, обеспечивая адаптацию животных в патологических условиях [J.

Girard et al., 1997; A.M. Cervera et al., 2009; H. Yamashita et al., 2001; M.A. Гати, 2013; Y. Lei et al., 2020] (рисунок 31).

Рисунок 31 – Гипотетическая схема действия аллоксанового диабета на трансформацию метаболических потоков в клетках путем изменения функционирования клеточных ферментов ЦТК и ГЦ и морфологические изменения в тканях органов крыс (по Гати М., 2013)

В условиях выбранной нами модели при изучении состояния системы ПОЛ - САЗ содержание МДА оказалось достоверно высоким в группах с НУЧ и ВУЧ. Увеличение активности антиоксидантных ферментов в сыворотке, которые создают мощную систему защиты от свободных радикалов - каталазы (Кат) в 1,5 раза и супероксиддисмутазы (СОД) в 1,4 раза по сравнению с интактными животными, может указывать на образование большого количества активных форм кислородом.

Проведённый нами анализ экспериментального материала показал, что участие гормона в поддержании энергетического гомеостаза организма в целом и есть один из возможных путей участия гормона в метаболизме углеводов и липидов, следовательно, его роли в генезе сахарного диабета. Нам удалось показать, что введение мелатонина способствует нормализации активности СДГ. С помощью молекулярного докинга удалось установить взаимодействие мелатонина и СДГ. Полученные стереохимические параметры свидетельствуют о пространственной ориентации мелатонина на домене А сукцинатдегидрогеназы. Известно, что на субъединице А расположен сайт связывания и окисления сукцината. Боковые группы тирозина - 254, гистидина - 354 и аргинина - 399 этой субъединицы стабилизируют молекулу сукцината в то время, как ФАД окисляется и передаёт электроны на первый железосерный кластер [2Fe - 2S] .

В результате окисления сукцината его электроны переносятся на ФАД, а затем передаются по цепи из железосерных кластеров от кластера [Fe – S] k [3Fe-4S]. Там эти электроны переносятся на ожидающую в сайте связывания молекулу убихинона [Д. Нельсон и соавт., 2014].

Мелатонин ингибирует комплекс II и таким образом выполняет защитную роль, сводя к минимуму обратный транспорт электронов в комплексе I, в результате которого происходит образование супероксида.

Расчет энергии конформационных изменений показывает, что образование комплекса происходит за счет водородных связей. Полученные пространственные и энергетические параметры свидетельствуют о возможном конкурентном связывании мелатонина с сайтом связывания убихинона.

В основе противодиабетических свойств МТ, возможно, лежат конкурентные отношения с инсулином. Корригирующее действие МТ на обменные процессы более ярко проявляется лишь при грубых поломках, например, в условиях сахарного диабета. Возможно, это достигается с помощью различных МТ – рецепторов, имеющихся на клеточной мембране поджелудочной железы. Защитный эффект мелатонина может осуществляться на двух уровнях: во-первых, на клеточном - благодаря выраженному антиоксидантному действию. И, во - вторых, на системном - связанный с ограничением ресурсов внутриклеточных структур синтезировать и аккумулировать энергию для поддержания энергетического баланса в системе «организм — среда» [E. Peschke et al., 2010; Э.Б. Арушанян, 2012; S. Sharma et al., 2015; S. Owino et al., 2016].

В основе антидиабетической функции мелатонина лежит несколько причин.

1) воздействие гормона на уровень свободных радикалов и процессы перекисного окисления липидов, резко повышающихся при сахарном диабете.

2) МТ, выступая в роли естественного антиоксиданта, выполняет роль «ловушки» свободных радикалов и индуктора антиоксидантных ферментов [И.А. Волчегорский и соавт., 2014; О.В. Кокорев и совт., 2018].

Механизмы действия мелатонина до конца не изучены. Наиболее возможным считается механизм нейтрализации свободных радикалов, протекающий несколькими путями:

а) переход электрона от молекулы мелатонина к активному радикалу с образованием катион - радикала МТ ($Mel - H^{\cdot}$) и аниона ($R^{\cdot -}$) с последующей транспортировкой протона от катион - радикала к аниону с образованием мелатонил – радикала $Mel^{\cdot}$ и $R - H$;

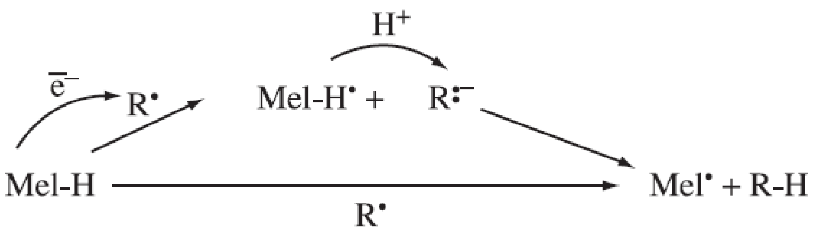

Рисунок 32 – Основные механизмы взаимодействия молекулы мелатонина со свободными радикалами [ZA Velkov et al., 2009]

б) ещё один возможный механизм – прямой перенос атома водорода между мелатонином и свободным радикалом, с образованием более стабильного радикала (рисунок 32).

С другой стороны, если в эксперименте применяются достаточно высокие дозы мелатонина, в результате последовательных реакций соответствующий радикал не успевает превратиться в стабильный метаболит, вследствие чего общая антиоксидантная активность мелатонина снижается [ZA Velkov et al., 2009].

Таким образом, резюмируя современные литературные и полученные нами в ходе исследования данные, можно предположить об участии МТ в поправочной регуляции деятельности поджелудочной железы, поддержании энергетического гомеостаза организма в целом, а, следовательно, и в генезе сахарного диабета.

ВЫВОДЫ

1. При моделировании сахарного диабета у животных (крыс) линии Wistar уже в течение первых суток эксперимента проявилась выраженная вариабельность в индивидуальной чувствительности к токсичному действию аллоксана (по величине диуреза и уровню глюкозурии), что позволило разделить животных на группы с высокой (ВУЧ) и низкой (НУЧ) уремической активностью. Эти группы отличались по состоянию активности печеночных ферментов (АСТ, АЛТ, СДГ), по содержанию кортикостерона в крови, по антиоксидантному статусу, по сдвигам в липидном и углеводном обмене.

2. Активность антиоксидантных ферментов (КАТ и СОД) в группах с НУЧ и ВУЧ снижалась на 5,8 и 8,7 % (соответственно) при введении мелатонина в дозе 0,1 мг/кг. Более значимые сдвиги наблюдались при использовании мелатонина в дозе 1 мг/кг. Активность каталазы уменьшалась на 27,4 %, а СОД – на 12,8 %, что практически совпадало с показателями контрольной группы.

3. О преимущественном повреждении внешних мембран клеток печени аллоксаном у животных с НУЧ свидетельствует увеличение активности АЛТ, являющийся цитоплазматическим энзимом в сравнении с изменением активности АСТ в 1,2 раза, имеющего митохондриально - цитоплазматическую локализацию. В то же время у животных с ВУЧ активность АСТ выше, что указывает на более глубокие повреждения митохондрий. Под влиянием мелатонина активность ферментов значительно снижается и приближается к показателям контрольной группы.

4. Одной из основных составляющих генеза заболевания СД может являться нарушение энергетического обмена. Результаты исследования показали выраженное снижение активности СДГ при аллоксановом диабете в печени у животных с ВУЧ, что указывает о нарушениях аэробного синтеза АТФ в митохондриях поджелудочной железы и превалировании катаболических

процессов. Введение мелатонина приводит к нормализации активности СДГ через блокирование А домена фермента.

5. При введении аллоксан - тетрагидрата в дозе 150 мг/кг у лабораторных животных развивается аллоксан - индуцированный сахарный диабет средней степени, который характеризуется изменением размеров панкреатических островков, деформацией их, уменьшением количества β - клеток, развитием дистрофических изменений, некробиоза и некроза β - клеток с образованием пустот. После применения мелатонина патологические изменения в поджелудочной железе менее выражены: сосудистые нарушения умеренные, отек носит очаговый характер, деструктивные изменения (некробиоз и некроз) не обнаружены. Опустошенных и гиализированных островков нет. Форма островков сохранена. Количество β - клеток уменьшено незначительно. Репаративные изменения проходят более интенсивно.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Полученные результаты подтверждают о заинтересованности мелатонина в упорядочении процессов в поджелудочной железе, активности индикаторных ферментов состояния клеток печени, в поддержании энергетического гомеостаза организма в целом, а потому и в генезе сахарного диабета.

Однако, имеющиеся данные, как правило, получены в экспериментах на животных. При экстраполяции их на человеческий организм необходимо дополнительно провести масштабные исследования на больных сахарным диабетом. Обоснованность таких исследований определяется происхождением самого мелатонина, его универсальными адаптогенными свойствами и безопасностью, подтвержденной его экспериментальным использованием при лечении ряда нервных и соматических заболеваний.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АТФ	– аденозинтрифосфат
АФК	– активные формы кислорода
АСТ	– аспартатаминотрансфераза
АЛТ	– аланинаминотрансфераза
АЛЛ	– аллоксан
АКТГ	– адренокортикотропный гормон
АКС	– антикристализирующая способность мочи
ВУЧ	– высокая уремическая чувствительность
КАТ	– катализатор
ЛС	– лекарственные средства
ЛПНП	– липопротеины низкой плотности
ЛПВП	– липопротеины высокой плотности
МДА	– метилендиоксиамфетамин
МС	– метаболический синдром
МТ	– мелатонин
МТ1	– рецепторы
МТ2	– рецепторы
НУЧ	– низкая уремическая чувствительность
НЭЖК	– неэтерифицированные жирные кислоты
ПОЛ	– перекисное окисление липидов
ОХ	– общий холестерин
ОС	– окислительный стресс
СД	– сахарный диабет
СД1	– сахарный диабет 1 типа
СД2	– сахарный диабет 2 типа
СДГ (SDH)	– сукцинатдегидрогеназа
СОД	– супероксиддисмутаза

ТГ	– тиреоглобулин
ЦТК	– цикл трикарбоновых кислот
ЖК	– жирные кислоты
ЭДТА	– этилендиаминтетрауксусная кислота
Tur	– тироксин
GLU	– глутаминовая кислота
FAD (ФАД)	– флавинадениндинуклеотид

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1 Агарков, А.А. Активность супероксиддисмутазы и каталазы в сердце крыс со стрептозоциновым сахарным диабетом 2 типа при введении SKQ1/ А.А. Агарков, Т.Н. Попова, Я.Г. Воронкова, В.В. Уразова// Вестник современных исследований.- 2017.- № 10 (1).- С. 6-8.

2 Алексеенко Е.А. Нарушение окислительного метаболизма у больных с сахарным диабетом 2-го типа и заболеваниями органов дыхания/ Е.А. Алексеенко, И.М. Быков, И.А. Луконин// Кубанский научный медицинский вестник.- 2017.- № 1.(162).- С. 7-11

3 Аметов, А.С. Сердечно - сосудистые осложнения при сахарном диабете: патогенез и пути коррекции/ А.С. Аметов, О.Л. Соловьева// РМЖ.- 2011.- Т. 19.- № 27.- С. 1694-1699.

4 Аметов, А.С. Окислительный стресс при сахарном диабете 2-го типа и пути его коррекции/ А.С. Аметов, О.Л. Соловьева// Проблемы эндокринологии.- 2011.- № 6.- С. 52-56.

5 Арушанян, Э.Б. Гормон мозговой железы эпифиза мелатонин - универсальный естественный адаптоген/ Э.Б. Арушанян, Э.В. Бейер// Успехи физиологических наук.- 2012.- Т.43.- № 3.- С. 83-100.

6 Арушанян, Э.Б. Защитная роль мелатонина при заболеваниях поджелудочной железы/ Э.Б. Арушанян// Экспериментальная и клиническая фармакология.- 2012.- Т. 75.- № 4.- С. 42-48.

7 Арушанян, Э.Б. Мелатонин и сахарный диабет (обзор современных экспериментальных данных)/ Э.Б. Арушанян// Проблемы эндокринологии.- 2012.- Т. 58.- № 3.- С. 35-40.

8 Арушанян, Э.Б. Мелатонин как лечебное средство: состояние вопроса сегодня и грядущие перспективы/ Э.Б. Арушанян// Экспериментальная и клиническая фармакология.- 2014.- Т. 77.- № 6.- С. 39-44.

9 Арушанян, Э.Б. Мелатонин как универсальный модулятор любых патологических процессов/ Э.Б. Арушанян, Е.В. Щетинин// Патологическая физиология и экспериментальная терапия.- 2016.- Т. 60.- № 1.- С. 79-88.

10 Арушанян, Э.Б. Место эпифизарно-адренокортикальных отношений в поправочной регуляции поведения/ Э.Б. Арушанян, Л.Г. Арушанян, К.С. Эльбекьян // Успехи физиол.наук. - 1993.- Т. 24.- № 4.- с.12-28.

11 Арушанян, Э.Б. Ограничение окислительного стресса как основная причина универсальных защитных свойств мелатонина/ Э.Б. Арушанян// Экспериментальная и клиническая фармакология.- 2012.- № 75 (5).- С. 44-49.

12 Арушанян, Э.Б. Участие эпифиза в антистрессорном действии адаптогенных средств/ Э.Б. Арушанян, Э.В. Бейер// Экспериментальная и клиническая фармакология.- 2015.- Т. 78.- № 1.- С. 9-12.

13 Асраров, М.И. Действие дитерпеноида сальвифолина на состояние митохондриальной поры сердца крыс с аллоксан-индуцированным диабетом/ М.И. Асраров, А.В. Шкинев, М.К. Позилов, Н.А. Эргашев [и др.]// Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.- 2018.- Т. 21.- № 2.- С. 44-48.

14 Банзаракшеев, В.Г. Экспериментальная оценка патофизиологии и фармакотерапии аллоксанового диабета у крыс/ В.Г. Банзаракшеев// Забайкальский медицинский вестник.- 2016.- № 4.- С. 124-128.

15 Белкина, Л.М. Влияние блокады синтеза NO на свободно радикальные процессы при остром аллоксановом диабете у крыс разных генетических линий/ Л.М. Белкина, О.Л. Терехова, Т.А. Антипова, Е.А. Смирнова [и др.]// Российский физиологический журнал.- 2013.- № 11.- С. 1273-1284.

16 Березова, Д.Т. Мелатонин: свойства, биоритмы и возможности использования в медицине/ Д.Т. Березова// Владикавказский медико-биологический вестник.- 2012.- Т. 15.- С. 127-133.

17 Березовский, В.А Реактивность паренхимы печени крыс после введения экзогенного мелатонина/ В.А. Березовский, Р.В. Янко, И.Г. Литовка, О.И.

Волович// Украинский морфологический альманах.- 2012.- Т. 10.- № 4.- С. 178-181.

18 Бродский, В.Я. Мелатонин модифицирует ритм синтеза белка/ В.Я. Бродский, Н.Д. Дубовая, Т.К. Звездина, В.И. Фатеева [и др.]// Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.- 2010.- Т. 49.- № 1.- С. 45-47.

19 Брюхина, Е.В. Мелатонин в формировании менопаузального метаболического синдрома/ Е.В. Брюхина, А.Г. Мамонтова, Е.Н. Усольцева// Клиническая медицина.- 2018.- Т. 96.- № 2.- С.116-122.

20 Булавинцева, Т.С. Особенности развития компенсаторных процессов в инсулинсинтезирующей системе при аллоксановом диабете/ Т.С. Булавинцева, Б.Г. Юшков, К.В. Соколова, И.Г. Данилова// Российский физиологический журнал им И.М. Сеченова.- 2018.- Т.104.- № 11.- С. 1291-1300.

21 Быков И.М. Особенности свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты у детей с сахарным диабетом первого типа/ И.М. Быков, Л.Г. Ивченко, Д.А. Доменюк, Н.Ю. Костюкова, А.П. Сторожук и [и др.]// Кубанский научный медицинский вестник.- 2017.- № 24 (4).- С. 27-38.

22 Быков И.М. Особенности метаболических нарушений у крыс с аллоксановым диабетом, развившимся на фоне хронической алкогольной интоксикации/ И.М. Быков, К.А. Попов, Х.П. Берберици, И.Ю. Цымбалюк, Г.А. Ермакова и [и др.]//Медицинский вестник Северного Кавказа.- 2018.- Т.13.- № 3.- С.511-514.

23 Васендин, Д.В. Медико-биологические эффекты мелатонина: некоторые итоги и перспективы изучения/ Д.В. Васендин// Вестник Российской Военно - Медицинской академии.- 2016.- № 3 (55).- С. 171-178.

24 Васильева, Н.Н. Сурфактантная система легких при аллоксановом диабете у крыс с различной устойчивостью к стрессу/ Н.Н. Васильева, И.Г. Бряндина, С.В. Протасова, Е.Г. Бутолин// Патологическая физиология и экспериментальная терапия.- 2014.- № 1.- С.44-47.

25 Вечканова, Н.А. Аналитический подход к оценке роли системы IL-1 и IL-33 в аспекте сбоев рецепторного аппарата клетки при сахарном диабете как

предпосылка применения иммунофармпрепаратов/ Н.А. Вечканова, Н.Ю. Степанов, В.В. Селькин, А.В. Абинова [и др.]// Вестник современных исследований.- 2019.- № 2.12(29).- С. 27-31.

26 Волчегорский, И.А. Анксиолитическое и антидепрессивное действие производных 3-оксипиридина и янтарной кислоты при аллоксановом диабете/ И.А. Волчегорский, И.Ю. Мирошниченко, Л.М. Рассохина, Р.М. Файзуллин [и др.]// Российский физиологический журнал.- 2015.- № 3.- С. 258-267.

27 Волчегорский, И.А. Анксиолитическое и антидепрессивное действие эмоксипина, реамберина и мексидола при экспериментальном сахаром диабете/ И.А. Волчегорский, И.Ю. Мирошниченко, Л.М. Рассохина, Р.М. Файзуллин [и др.]// Журнал неврологии и психиатрии.- 2017.- № 5.- С. 52-57.

28 Волчегорский, И.А. Влияние реамберина и α-липоевой кислоты на устойчивость к острой церебральной ишемии при экспериментальном сахарном диабете/ И.А. Волчегорский, И.Ю. Мирошниченко, Л.М. Рассохина, Р.М. Файзуллин// Журнал неврологии и психиатрии.- 2016.- № 6.- С. 53-59.

29 Волчегорский, И.А. Динамика состояния системы перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита при аллоксановом диабете у крыс/ И.А. Волчегорский, Л.М. Рассохина, И.Ю. Мирошниченко// Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.- 2013.- Т. 15.- № 1.- С. 31-35.

30 Волчегорский, И.А. Протекторное действие производных 3-оксипиридина и янтарной кислоты при острой аллоксановой интоксикации у мышей/ И.А. Волчегорский, И.Ю. Мирошниченко, Л.М. Рассохина, М.П. Малкин [и др.]// Экспериментальная и клиническая фармакология.- 2014.- Т. 77.- № 1.- С. 13-16.

31 Воронков, А.В. Антиоксидантная активность новых производных хромон – 3 – альдегида в условиях мышечной дифункции/А.В. Воронков, Д.И. Поздняков, В.М. Руковицина, Э.Т. Оганесян// Вопросы биологической медицинской и фармацевтической химии.- 2018.- Т.21.- № 6.- С. 38-41.

32 Гати, М.А. Физиолого-биохимические особенности адаптации крыс при аллоксановом диабете: дис. канд. биол. наук/ М.А. Гати. - Воронеж, 2013.

33 Гафарова, Е.А. Применение мелатонина в акушерско-гинекологической практике/ Е.А. Гафарова, Л.И. Мальцева// Гинекология. - 2014. - № 6. - С. 25-28.

34 Гриневич, В.Б. Вклад кишечной микробиоты в патогенез инсулинорезистентности (обзор литературы)/ В.Б. Гриневич, О.Н. Ткачева, Л.В. Егшатян, Е.И. Сас [и др.]// Профилактическая медицина. - 2015. - № 1. - С. 54-58.

35 Гриненко, Т.Н. Мелатонин как маркер выраженности структурно-функциональных изменений сердца и сосудов при метаболическом синдроме/ Т.Н. Гриненко, М.Ф. Баллюзек, Т.В. Кветная// Клиническая медицина. - 2012. - № 2. - С. 30-34.

36 Губин, Д.Г. Многообразие физиологических эффектов мелатонина/ Д.Г.Губин// Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. - 2016. - № 11. - С. 1148-1153.

37 Данилова, И.Г. Морфологическая перестройка почти у крыс с аллоксановым диабетом при стимуляции функциональной активности макрофагов/ И.Г. Данилова, В.А. Черешнев, Н.Б. Блинкова, С.Ю. Медведева [и др.]// Морфология. - 2018. - № 4. - С. 58-64.

38 Дворецкая, Ю.Д. Дифференциальная экспрессия генов свободнорадикальной защиты как потенциональный биомаркет ранней диагностики диабета I типа/ Ю.Д. Дворецкая, В.Ю. Гланц, В.Н. Попов// Прикладные информационные аспекты медицины. - 2017. - № 4. - С. 92-95.

39 Дедов, И.И. Эпидемиология сахарного диабета в Российской Федерации: клинико-статистический анализ по данным федерального регистра сахарного диабета/ И.И. Дедов, М.В. Шестакова, О.К. Викулова// Сахарный диабет.- 2017.- № 1.- С. 13-41.

40 Дедов И.И. Сахарный диабет в Российской Федерации: распространенность, заболеваемость, смертность, параметры углеводного обмена и структура сахароснижающей терапии по данным Федерального регистра сахарного диабета, статус 2017/ И.И. Дедов, М.В. Шестакова, О.К. Вакулова, А.В. Железнякова, М.А. Исаков// Сахарный диабет. - 2018. - Т.21. - № 3. - С. 144-159

41 Джафарова, Р.Э. Сравнительное изучение различных моделей аллоксан-индуцированного сахарного диабета/ Р.Э. кызы Джафарова// Казанский медицинский журнал. - 2013. - Т. 94. - № 6. - С. 915-919.

42 Джериева, И.С. Мелатонин как регулятор метаболических процессов/ И.С. Джериева, Н.И. Волкова, С. И. Рапопорт// Клиническая медицина. - 2012. - № 10. - С. 27-30.

43 Джериева, И.С. Связь между содержанием инсулина, лептина и мелатонина у больных с метаболическим синдромом/ И.С. Джериева, С. И. Рапопорт, Н.И. Волкова// Клиническая медицина. - 2011. - № 6. - С. 46-49.

44 Дзугкоев, С.Г. Влияние комплексного гомеопатического препарата, содержащего коэмзим Q, на показатели окислительного стресса и гемодинамики при экспериментальном сахарном диабете/ С.Г. Дзугкоев, В.А. Метельская, И.В. Можаева, Ф.С. Дзугкоева// Рациональная фармакотерапия в кардиологии.- 2010.- Т. 6.- № 3.- С. 376-380.

45 Дзугкоев, С.Г. Влияние коэнзима Q_{10}, афобазола и L-карнитина и их комбинации на эндотелиальную функцию у крыс с экспериментальным сахарным диабетом/ С.Г. Дзугкоев, Ф.С. Дзугкоева, Н.Г. Гуманова, В.А. Метельская// Вопросы экспериментальной биологии и медицины.- 2012.- № 11.- С. 49-53.

46 Дзугкоев, С.Г. Механизмы влияния афобазола на NO-продуцирующую функцию эндотелия и показатели окислительного стресса у крыс с экспериментальным сахарным диабетом/ С.Г. Дзугкоев, Ф.С. Дзугкоева,

И.В.Можаева, О.И. Маргиева [и др.]// Экспериментальная и клиническая фармакология.- 2016.- Т. 79.- № 5.- С. 15-19.

47 Дорощук, Н.А. Окислительный стресс и укорочение телометров в лейкоцитах крови больных с впервые выявленным сахарным диабетом 2 типа/ Н.А. Дорощук, В.З. Ланкин, А.К. Тихазе, О.А. Одинокова. [и др.]// Кардиологический вестник.- 2016.- Т. 11.- № 2.- С. 56-60.

48 Ершова, Е.В. Динамика показателей липидного обмена и их взаимосвязь с секрецией глюкагоноподобного пептида-1 и глюкозозависимого инсулинотропного полипептида у пациентов с ожирением и сахарным диабетом 2 типа после билиопанкреатического шунтирования в модификации Hess-Marceau на ранних сроках послеоперационного наблюдения/ ЕВ. Ершова, Е.А. Трошина, Ю.И. Яшков// Ожирение и метаболизм.- 2016.- № 3.- С. 38-44.

49 Жариков, А.Ю. Функция почек в условиях экспериментального сахарного диабета/ А.Ю. Жариков, Б.А. Баландович, Р.О. Щекочихина, Г.В. Жарикова// Нефрология.- 2019.- № 1.- С.79-83.

50 Жилюк, В.И. Влияние средств с ноотропными и нейропротекторными свойствами на процессы энергетического метаболизма и проявления митохондриальной дисфункции в нейронах головного мозга крыс с аллоксановым диабетом/ В.И. Жилюк, В.И. Мамчур, С.И. Павлов, Н.В. Бухтиярова// Проблемы эндокринной патологии.- 2010.- № 3.- С. 69-74.

51 Занозина, О.В. Окислительный стресс: особенности при сахарном диабете - источники образования, характеристика составляющих, патогенетические механизмы токсичности (обзор)/ О.В. Занозина// Уральский медицинский журнал.- 2010.- № 1.- С.79-87.

52 Заславская, Р.М. Оценка различных методов лечения больных стабильной стенокардией в сочетании с артериальной гипертензией по данным эхокардиографии/ Р.М. Заславская, Э.А. Щербань, С.И. Логвиненко// Клин. мед.- 2007.- № 85(8).- С. 40-43.

53 Иванов, В.В. Влияние аллоксана на спонтанный липолиз и систему глутатиона в изолированных адипоцитах крыс/ В.В. Иванов, Е.В. Шахристова, Е.А. Степовая, Т.В. Жаворонок, В.В. Новицкий// Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.- 2011.- Т. 151.- № 3.- С. 288-291.

54 Каладзе, Н.Н. Итоги и перспективы изучения физиологических, патогенетических и фармакологических эффектов мелатонина/ Н.Н. Каладзе, Е.М. Соболева, Н.Н. Скромная// Здоровье ребенка.- 2010.- № 2.- С. 156-166.

55 Калапко, Е.Н. Сравнительный анализ эффективности N, N' – (этан – 1,2 – диил) бис (хинолин – 2 карбоксамида), диакамфа гидрохлорида и метформина в остром периоде аллоксанового сахарного диабета у крыс/ Е.Н. Калапко, С.Ю. Штрыголь, Т.В. Горбач, Ю.Б. Ларьяновская, С.И. Мерзликин// Вестник фармации.- 2016.- № 3 (73).- С. 67-77.

56 Каминская, О.В. Сравнительная оценка влияния мелатонина и диклофенака на динамику принудительного плавания животных при формалиновом артрите/ О.В. Каминская// Вестник молодого ученого.- 2014.- № 2.- С. 26-28.

57 Климов, А.Н. Антиоксидантная активность липопротеинов высокой плотности/ А.Н. Климов, В.С.Гуревич, А.А. Никифорова// Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.-1992.- Т. 108.- № 7.- С. 40-42.

58 Климов, А.Н. Липиды, липопротеиды и атеросклероз/ А.Н. Климов, Н.Г. Никульчева.- СПб.: Питер, 1995.

59 Кокорев, О.В. Динамика изменения метаболических и гематологических параметров после трансплантации островковых клеток поджелудочной железы на носителе из никелида титана при экспериментальном диабете/ О.В. Кокорев, В.Н. Ходоренко, С.Г. Аникеев, В.Э. Гюнтер// Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.- 2018.- Т. 165.- № 3.- С. 373-378.

60 Коненков, В.И. Мелатонин при сахарном диабете: от патофизиологии к перспективам лечения/ В.И. Коненков, В.В. Климонтов, С.В. Мичурина, М.А. Прудникова [и др.]// Сахарный диабет.- 2013.- № 2.- С. 11-16.

61 Куликов, Д.А. Влияние пересадки аллогенной ткани фетальной поджелудочной железы на регенерацию островковых клеток крысы-реципиента с аллоксановым сахарным диабетом/ Д.А. Куликов, А.В. Куликов, Л.В. Архипова, Г.Н. Смирнова, А.В. Древаль [и др.]// Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.- 2014.- № 9.- С. 349-351.

62 Кучерявенко, А.Ф. Влияние нового антиоксидантного вещества эноксифол на агрегацию тромбоцитов и реологические свойства крови лабораторных крыс при экспериментальном диабете/ А.Ф. Кучерявенко, А.А. Спасов, В.А. Анисимова// Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.- 2015.- Т. 160.- № 12.- С. 721-724.

63 Ландау Л.Д. Теоретическая физика. Статистическая физика. Часть 1./ Л.Д. Ландау, Е.М.Лифшиц.- Изд. 3-е, доп. М.: Наука, 1976. 584 с.

64 Ланкин, В.З. Влияние природных дикарбонилов на активность антиоксидантных ферментов in vitro и in vivo/ В.З. Ланкин, Г.Г. Коновалова, А.К. Тихазе, Л.В. Недосугова// Биомедицинская химия.- 2012.- Т. 58.- № 6.- С. 727-736.

65 Леваков, С. Физиологическая роль и клинические эффекты мелатонина/ С. Леваков, Е. Боровкова// Врач. - 2015. - № 3. - С. 72-75.

66 Левин, Я.И. Мелатонин (Мелаксен) в неврологической практике/ Я.И. Левин// Consilium Medicum. - 2012.- № 2.- С. 111-115.

67 Ленинджер, А. Основы биохимии. - М.: МИР, 1985.

68 Лисицын, А.Б. Изучение влияния мясных полуфабрикатов, изготовленных с добавлением воды с пониженным содержанием дейтерия, на показатели лабораторных животных с моделью аллоксанового диабета/ А.Б. Лисицын, А.Н. Богатырев, А.С. Дыдыкин, О.К. Деревицкая [и др.]// Вопросы питания. - 2017. - № 1. - С. 64-71.

69 Ломоносова, К.В. Значение дозы мелатонина для выраженности его психотропных свойств на различных поведенческих моделях у крыс/ К.В. Ломоносова// Вестник молодого ученого. - 2014. - № 1-2. - С. 45-47.

70 Мазо, В.К. Генетические модели сахарного диабета 2 типа на мышах для оценки эффективности минорных биологически активных веществ пищи/ В.К. Мазо, Ю.С. Сидорова, А.А. Кочеткова// Вопросы питания. - 2015. - Т. 84. - № 6. - С. 63-68.

71 Мазо, В.К. Полифенольные растительные экстракты: влияние на нарушения углеводного и липидного обмена у лабораторных грызунов/ В.К. Мазо, Ю.С. Сидорова, В.А. Шипелин, Н.А. Петров [и др.]// Проблемы эндокринологии. - 2016. - № 4. - С. 38-44.

72 Малинин, В.В. Гиполипидемическое и гипогликемическое действие пептида LYS-GLU-TRP-NH_2 у крыс с сочетанными метаболическими нарушениями/ В.В. Малинин, Т.Н. Саватеева-Любимова, К.В. Сивак// Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2013. - № 9. - С. 313-316.

73 Малиновская, Н.К. Мелатонин и сердечнососудистая система/ Н. К.Малиновская, С.И. Рапопорт// РМЖ. - 2010. - № 3. - С.140-142.

74 Марданов, Б.У. К вопросам течения и прогноза кардиоваскулярных заболеваний у больных сахарным диабетом/ Б.У. Марданов, М.Н. Мамедов, Э.Б. Ахмедова, Р.Ш. Оганов// Кардиоваскулярная терапия и профилактика. - 2015. - № 1. - С. 83-89.

75 Мартынова, Е.А. Общие представления о роли сфинголипидов в сигнальных путях апоптоза/ Е.А. Мартынова// Патогенез. - 2012. - Т. 10. - № 4. - С. 16-28.

76 Микаелян, Н.П. Взаимосвязь между процессом пероксидации липидов, активностью антиоксидантной системы и жирнокислотным составом крови у больных сахарным диабетом 1-го типа и при его осложнениях/ Н.П. Микаелян, А.Е. Гурина, Х.З. Нгуен, А.А. Терентьев [и др.]// Российский медицинский журнал. - 2014. - № 4. - С. 33-38.

77 Микаелян, Н.П. Изменение состава жирных кислот и инсулинсвязывающая активность клеток в условиях оксидативного стресса при экспериментальном сахарном диабете/ Н.П. Микаелян, А.Е. Гурина, А.А. Терентьев, А.А. Микаелян// Российский медицинский журнал. - 2017. - № 6. - С. 308-311.

78 Микаелян, Н.П. Метаболические нарушения в мембранах эритроцитов и гомогенатах печеночной ткани при сахарном диабете в эксперименте/ Н.П. Микаелян, Х.З. Нгуен, А.А. Терентьев// Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2015. - Т. 159. - № 2. - С. 154-157.

79 Михайличенко, В.Ю. Сравнительная оценка различных методов хирургической коррекции аллоксанового сахарного диабета/. В.Ю. Михайличенко, А.А. Пилипчук, С.А. Самарин// Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. - 2018. - Т. 8. - № 3. - С. 52-57.

80 Мичурина, С.В. Влияние комплекса мелатонина, оксида алюминия и полиметилсилоксана на апоптоз клеток печени мышей в модели ожирения и сахарного диабета 2-го типа/ С.В. Мичурина, И.Ю. Ищенко, С.А. Архиров, В.В. Климонтов [и др.]// Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2017. - №8. - С. 192-196.

81 Мичурина, С.В. Влияние мелатонина на клеточный состав печени крыс Wistar при алиментарном ожирении/ С.В. Мичурина, Д.И. Васендин, И.Ю. Ищенко// Патологическая физиология и экспериментальная терапия. - 2018. - Т. 62. - №2- С. 107-112.

82 Можейко Л.А. Экспериментальные модели для изучения сахарного диабета часть II. Хирургический, стрептозотоциновый и дитизоновый диабет/ Л.А. Можейко// Журнал Гродненского государственного медицинского университета. - 2013. - № 4 (44). - С. 005-010.

83 Недогода, С.В. Влияние терапии препаратом мелатонина на функцию эндотелия, артериальное давление и сосудистую жестокость у пациентов с метаболическим синдромом и нарушениями сна/ С.В. Недогода, В.О. Смирнова, И.Н. Барыкина, А.С. Саласюк// Артериальная гипертензия. - 2017. - № 23 (2). - С. 150-159.

84 Нельсон, Д. Основы биохимии Ленинджера/ Д. Нельсон, М. Кокс. - 2014.

85 Нечаева, Г.И. Эффективность и переносимость таурина у пациентов с СД 2-го типа и диастолической дисфункцией левого желудочка/ Г.И. Нечаева, И.В. Друк, Е.А. Ряполова// Лечащий врач. - 2011. - №11. - С. 1-5.

86 Новгородцева, Т.Р. Особенности состава жирных кислот крови и уровень оксилипинов у пациентов с метаболическим синдромом/ Т.Р. Новгородцева, Ю.К. Караман, Н.В. Жукова, Е.Г. Лобанова [и др.]// Клиническая лабораторная диагностика.- 2010.- № 10.- С. 22-25.

87 Островская, Р.У. Дефицит нейротрофинов при экспериментальном диабете - коррекция пролинсодержащим дипептидом/ Р.У. Островская, Т.А. Антипова, С.В. Николаев, С.В. Круглов [и др.]// Российский физиологический журнал им И.М. Сеченова.- 2017.- № 11.- С. 1292-1300.

88 Островская, Р.У. Ноопепт восстанавливает показатели инкретиновой системы при моделировании диабета у крыс/ Р.У. Островская, Н.Н. Золотов, И.В. Озерова, Е.А. Иванова [и др.]// Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.- 2014.- № 3.- С. 321-327.

89 Пак, И.В. Влияние локального ДМВ - облучения на уровень гликемии у животных с аллоксаниндуцированным сахарным диабетом и ксенотрансплантацией β- клеток поджелудочной железы/ И.В. Пак, Р.Р. Тухватшин// Вестник Казахского Национального медицинского университета.- 2013.- № 5 (1).- С. 209-211.

90 Пальман, А.Д. Мелатонин и артериальная гипертензия: от понимания патогенеза к терапевтическим возможностям/ А.Д. Пальман, С.И. Рапопорт// Клиническая медицина.- 2014.- №8.- С.14-19.

91 Перцев, С.С. Влияние мелатонина на перекисное окисление липидов в крови крыс с разными характеристиками поведения при остром эмоциональном стрессе/ С.С. Перцев, Е.В. Коплик, Л.С. Калиниченко, И.В. Алексеева// Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова.- 2014.- № 6.- С. 759-766.

92 Попов, С.С. Антиапоптотическое действие мелатонина при неалкогольном стеатогепатите, развивающемся при сахарном диабете 2-го типа/ С.С. Попов, А.Н. Пашков, И.Э. Есауленко, Т.Н. Попова [и др.]// Проблемы эндокринологии.- 2017.- Т. 63.- № 3.- С. 162-168.

93 Попов, С.С. Действие мелатонина на активность аконитатгидратазы, содержание продуктов липопероксидации и некоторых неферментативных антиоксидантов в крови больных сахарным диабетом 2 типа, осложненным стеатогепатитом/ С.С. Попов, А.Н. Пашков, К.К. Шульгин// Экспериментальная и клиническая фармакология.- 2015.- Т. 78.- № 12.- С. 6-9.

94 Попов, С.С. Мелатонин в коррекции антиоксидантного статуса у больных неалкогольным стеатогепатитом, развивающимся при сахарном диабете 2 – го типа/ С.С. Попов, А.Н. Пашков, В.И. Болотских, Т.Н. Попова, [и др.]// Клиническая медицина.- 2017.- Т. 95.- № 10.- С. 906-912.

95 Попова, Т.Н. Активность глутатионовой системы и НАДФН-генерирующих ферментов при действии мелатонина на фоне ишемии/реперфузии головного мозга у крыс/ Т.Н. Попова, О.А. Сафонова, А.О. Столярова, Т.И. Рахманова [и др.]// Патологическая физиология и экспериментальная медицина.- 2018.- Т. 62.- № 3.- С. 19-24.

96 Рапопорт, С.И. Метаболический синдром и мелатонин/ С.И. Рапопорт, А.Ю. Молчанов, В.А. Голиченков, О.В. Бурлакова [и др.]// Клиническая медицина.- 2013.- Т. 91.- № 11.- С. 8-14.

97 Раевский О.А. Моделирование соотношений «структура - свойства»/ О.А. Раевский.- М.: Добросвет.- 2008.

98 Ресниченко, А. Патогенетическое лечение осложнений сахарного диабета/ А. Ресниченко, М. Дзидзария// Врач.- 2011.- № 8.- С. 27-30.

99 Родин, А.Н. Сравнительная эффективность применения препаратов с антиоксидантной активностью в комплексном лечении гнойно-некротических осложнений сахарного диабета/ А.Н. Родин// Медицинский альманах.- 2013.- № 3 (27).- С. 140-141.

100 Сергиенко, В.А. Влияние длинноцепочечных ω-3 полинасыщенных высших жирных кислот, бенфотиамина и α-липоевой кислоты на некоторые показатели липидного обмена у больных сахарным диабетом 2-го типа с кардиоваскулярной автономной нейропатией/ В.А. Сергиенко, В.Б. Сегин, А. Самир, А.А. Сергиенко// Журнал неврологии и психиатрии.- 2013.- № 11.- С. 54-58.

101 Сидоров, П.И. Синергетическая концепция формирования сахарного диабета/ П.И. Сидоров, И.А. Новикова// Ученые записки СПбГМУ им. И.П Павлова.- 2008.- Т. 15.- № 4.- С. 11-16.

102 Смирнова, Е.А. Влияние аллоксанового диабета на функцию сердечно-сосудистой системы и перекисное окисление липидов у крыс разных генетических линий/ Е.А. Смирнова, О.Л. Терехова, Д.Д. Мациевский, Т.А. Антипова [и др.]// Патологическая физиология и экспериментальная терапия.- 2014.- № 1.- С. 37-43.

103 Смирнова, Е.А. Влияние блокады синтеза оксида азота на морфологию островков Лангерга́нса при остром аллоксановом диабете у крыс линии Август и популяции Вистар/ Е.А. Смирнова, А.Б. Мичуринская, О.Л. Терехова, Л.П. Кобозева [и др.]// Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.- 2015.- Т. 159.- № 2.- С. 238-243.

104 Смирнова, В.О. Возможности мелатонина пролонгированного высвобождения в коррекции симптомов метаболического синдрома/ В.О. Смирнова, И.Н. Барыкина, А.С. Саласюк, В.Ю. Хрипаева [и др.]// Российский кардиологический журнал.- 2016.- № 6.- С. 61-67.

105 Снигур, Г.Л. Профилактика сахарного диабета типа 1 с помощью антиоксидантных веществ в эксперименте/ Г.Л. Снигур, Е.В. Тибирькова, В.А. Косолапов, А.А. Спасов [и др.]// Актуальные вопросы экспериментальной и клинической морфологии.- Под ред. В.И. Петрова.- Волгоград.- 2010.- С. 139-145.

106 Спасов, А.А. Экспериментальная модель сахарного диабета типа 2/ А.А. Спасов, М.П. Воронкова, Г.Л. Сингур, Н.И. Чепляева [и др.]// Биомедицина.- 2011.- № 3.- С. 12-18.

107 Супрун, А.С. Влияние рецепторного антагониста интерлейкина-1 на динамику показателей системы глутатиона, энергетического метаболизма и окислительной модификации белков при экспериментальной гипергликемии/ А.С. Супрун, И.Ф. Беленичев// Казанский медицинский журнал.- 2014.- № 6.- С. 881-887.

108 Супрун Э.В. Ронколейкин - корректор нарушений энергетического метаболизма при экспериментальном геморрагическом инсульте// Укр. ж. клин. и лаб. мед. - 2010.- Т. 11.- № 4.- С. 117-121.

109 Сухарева, О.Ю. Система инкретинов при сахарном диабете 2-го типа: сердечно-сосудистые эффекты/ О.Ю. Сухарева, И.А. Шмушкович, Е.А. Шестакова, М.В. Шестакова// Проблема эндокринологии.- 2012.- № 6.- С. 33-42.

110 Стаценко М.Е. Возможности Дибикора в коррекции метаболических и сосудистых нарушений у больных хронической сердечной недостаточностью и сахарным диабетом 2 типа/ М.Е. Стаценко, А.А. Винникова, Н.Н. Шилина, А.М. Ронская// Фарматека.- 2014.- № 4.- С. 33-40.

111 Стаценко, М.Е. Патогенетическое обоснование включения таурина в лечение пациентов с сахарным диабетом типа 2/ М.Е. Стаценко, С.В. Туркина, И.А. Тыщенко, Е.Е. Горбачева// Consilium Medicum.- 2017.- Т. 19.- № 4.- С. 36-42.

112 Тишковец, С.В. Исследование мембраностабилизирующей и антиоксидантной активности комплексного растительного средства в условиях in vitro/ С.В. Тишковец, А.А. Торопова, А.Г. Мондодоев, Я.Г. Разуваева [и др.]// Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.- 2019.- Т. 22.- № 1.- С. 35-39.

113 Тюренков, И.Н. Гиполипидемическое, антиоксидантное и эндотелиопозитивное действие нового агониста рецептора GPR119 соединения ZB-16 при экспериментальном сахарном диабете/ И.Н. Тюренокв, Д.В. Куркин, Д.А. Бакулин, Е.В. Волотова [и др.]// Экспериментальная и клиническая фармакология.- 2017.- № 1.- С. 18-23.

114 Филинова, С.О. Патоморфологическая картина диабетической нефропатии при экспериментальном сахарном диабете/ С.О. Филинова, А.Ю. Жариков, И.П. Бобров, О.Н. Мазко [и др.]// Казанский медицинский журнал.- 2019.- № 1.- С. 147-152.

115 Черепанова, К.А. Показатели углеводно - липидного обмена у больных с сахарным диабетом 2 типа, проживающих в северном регионе/ К.А. Черепанова// Медицинская наука и образование Урала.- 2018.- № 4.-С. 33-36.

116 Чистякова, О.В. Влияние интраназального введения инсулина и серотонина на ферменты антиоксидантной защиты у крыс с неонатальным стрептозотоциновым диабетом/ О.В. Чистякова, В.Н. Шипилов, И.Б. Сухов, А.М. Трост// Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова.-2016.- Т. 102.- № 1.- С. 67-77.

117 Шапкина, Л.Г. Связь экспрессии рецепторов мелатонина с тяжестью острого панкреатита/ Л.Г. Шапкина, Д.Ю. Семенов, З.Х. Османов// Анналы хирургической гепатологии.- 2014.- Т. 19.- № 2.- С.79-82.

118 Шахристова, Е.В. Окислительная модификация белков и система глутатиона в адипоцитах при сахарном диабет/ Е.В. Шахристова, Е.А. Степовая, В.В. Иванов, О.Л. Носарева [и др.]// Бюллетень Сибирской медицины.- 2014.- № 3.- С. 84-90.

119 Шахристова, Е.В. Свободнорадикальное окисление белков и липидов в адипоцитах в условиях окислительного стресса/ Е.В. Шахристова, Е.А. Степовая, В.В. Иванов, О.Л. Носарева [и др.]// Молекулярная медицина.- 2014.- № 1.- С. 59-64.

120 Шипилов, В.Н. Взаимосвязь уровня механического порога ноцицептивной чувствительности и активности ферментов антиоксидантной защиты при экспериментальном диабете 1-го типа у самцов крыс/ В.Н. Шипилов, О.В. Чистякова, А.М. Трост// Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.- 2016.- Т. 161.- № 1.- С. 18-22.

121 Шишкова, В.Н. Особенности развития неврологических осложнений у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа и метаболическим синдромом: возможность коррекции и профилактики/ В.Н. Шишкова// Терапевтический архив.- 2015.- № 1.- С. 109-114.

122 Шпаков, А.О. Функционирование гормоночувствительной аденилатциклазной системы в периферических тканях при сахарном диабете/ А.О. Шпаков, К.В. Деркач// Цитология. - 2014.- Т. 56.- № 2.- С. 91-103.

123 Шурлыгина, А.В Влияние мелатонина на показатели иммунной и нервной систем мышей линии CBA и C57BL/6J при нарушении светового режима/ А.В. Шурлыгина, Г.И. Литвиненко, М.А. Гилинский, Т.В. Латышева [и др.]// Иммунология. - 2016.- Т. 37.- № 2.- С. 68-75.

124 Эльбекян, К.С. Особенности нарушения макро- и микроэлементного спектра сыворотки крови при экспериментальном сахарном диабете/ К.С. Эльбекян, А.Б. Ходжаян, А.Б. Муравьева// Фундаментальные исследования. - 2011.- № 10.- С. 411-413.

125 Южакова, А.Е. Развитие нарушений углеводного обмена/ А.Е. Южакова, А.А. Нелаева// Медицинский совет.- 2018.- № 4.- С. 42-47.

126 Юндунова, О.В. Фармакологическое и фармакотерапевтическое действие многокомпонентного растительного средства на сосудистую проницаемость и течение экспериментального сахарного диабета/ О.В. Юндунова, Л.Д. Дымшеева, Л.Э. Мархаева, И.С. Бутуханова// Современные проблемы науки и образования.- 2016.- № 2.- С. 130-136.

127 Яшанова, М.И. Валидность моделей экспериментального диабета для изучения окислительного стресса/ М.И. Яшанова, Т.Г. Щербатюк, В.Ю.

Николаев//Журнал медико - биологических исследований.- 2019.- Т.7.- № 1.- С. 66-78.

128 Abunab, H. Effect of olive leaf extract on glucose levels in diabetes-induced rats: A systematic review and meta-analysis/ H. Abunab, WL Dator, S. Hawamdeh// J Diabetes.- 2017.- Vol. 9.- Is. 10.- P. 947-957.

129 Adam, GO Long-term oral intake of Panax ginseng improves hypomagnesemia, hyperlactatemia, base deficit, and metabolic acidosis in an alloxan-induced rabbit model/ GO Adam, GB Kim, SJ Lee, HR Lee [et al.]// Iran J Basic Med Sci.- 2019.- Vol. 22.- Is. 6.- P. 703-709.

130 Afanasiev, S.A. Influense of Fatti Acids on Oxugen Consumption Cardiomyocites of Rats with Ischemic or Diabetic Heart Disease/ S.A. Afanasiev, M.V. Egorova, T.V. Kutsykova, S.V. Popov// Vestn Ross Akad Med Nauk.- 2016.- Vol.- 2.- P.- 97-101.- doi: 10.15690/ vramn 612.

131 Agil, A. Melatonin ameliorates low-grade inflammation and oxidative stress in young Zucher diabetic fatty rats/ A. Agil, RJ Reiter, A. Iban-Arias, R. Navaro-Alarcon [et al.]// J Pineal Res.- 2012.- Vol. 54.- Is. 4.- P. 381-388.

132 Ajiboye, BO Antihyperglycaemia and related gene expressions of aqueous extract of Gongronema latifolium leaf in alloxan-induced diabetic rats/ BO Ajiboye, BE Oyinloye, PE Agboinghale, SA Onikanni [et al.]// Pharm Biol.- 2019.- Vol. 57.- Is. 1.- P. 604-611.

133 Akmali, M. Pre- and post-treatment of streptozotocin administrated rats with melatonin: effects on some hepatic enzymes of carbohydrate metabolism/ M. Akmali, R. Ahmadi, M. Vessal// Arch Iran Med.- 2010.- Vol. 13.- Is. 2.- P. 105-110.

134 Al-Awar, A. Experimental Diabetes Mellitus in Different Animal Models/ A. Al-Awar, K. Kupai, M. Veszelka, G. Szűcs [et al.]// J Diabetes Res.- 2016.- Is. 3.- P. 1-12.

135 Aldera, AP Gene or the month: SDH/ AP Aldera, D. Govender// J Clin Pathol.- 2018.- Vol. 71.- P. 2.- P. 95-97.

136 Anagnostis, P. Glucagon-like peptide-1-based therapies and cardiovascular disease: looking beyond glycaemic control/ P. Anagnostis, VG Athyros, F. Adamidou, A. Panagiotou [et al.]// Diabetes Obes Metab.- 2011.- Vol. 14.- Is. 4.- P. 302-312.

137 Arch, NK Modulation of the lipid profile and insulin levels of streptozotocin induced diabetic rats by ethanol extract of Cnidoscolus aconitifolius leaves and some fractions: Effect on the oral glucose tolerance of normoglycemic rats/ NK Achi, OC Ohaeri, II Ijeh, C. Eleazu// Biomed Pharmacother.- 2017.- Vol. 86.- P. 562-569.

138 Axelrod, J. Enzymatic O - methylation of N - acetylserotonin to melatonin/ J. Axelrod, H. Weissbach// Science.- 1960.- Vol. 131.- Is. 3409.- P. 1312-1316.

139 Azeez, Ol. Ameliorative effects of Cnidoscolus aconitifolius on alloxan toxicity in Wistar rats/ Ol. Azeez, AA Oyagbemi, MO Oyeyemi, AA Odetola// Afr Health Sci.- 2010.- Vol. 10.- Is. 3.- P. 283-291.

140 Babu, PV Recent advances in understanding the anti - diabetic actions of dietary flavonoids/ PV Babu, D. Liu, ER Gilbert// J Nutr Biochem.- 2013.- Vol. 24.- Is. 11.- P. 1777-1789.

141 Badami, E. Defective Differentiation of regulatory FoxP3(+) T Cells by small-intestinal dendritic cells in patients with type 1 diabetes / E. Badami, C. Sorini, M. Coccia, V. Usuelli// Diabetes.- 2011.- Vol. 60.- Is. 8.- P. 2120-2124.

142 Bahr, I. Evidence of the receptor-mediated influence of melatonin on pancreatic glucagon secretion via the Gαq protein-coupled and PI3K signaling pathways/ I. Bahr, E. Muhlbauer, E. Albrecht, E. Peschke// J Pineal Res.- 2012.- Vol. 53.- Is. 4.- P. 390-398.

143 Bahr, I. Melatonin stimulates glucagon secretion in vitro and in vivo/ I. Bahr, E. Muhlbauer, H. Schule, E. Peschke // J Pineal Res.- 2011.- Vol. 50.- Is. 3.- P. 336-344.

144 Belkheiri, N. Synthesis and antioxidant activity evaluation of a syringic hydrazones family/ N. Belkheiri, B. Bouguerne, F. Bedos-Belval, H. Duhan [et al.]// Eur J Med Chem.- 2010.- Vol. 45.- Is. 7.- P. 3019-3026.

145 Beydoun, MA Serum antioxidant status is associated with metabolic syndrome among U.S. adults in recent national surveys/ MA Beydoun, MR Shroff, X. Chen, HA Beydoun [et al.]// J Nutr.- 2011.- Vol. 141.- Is. 6.- P. 903-913.

146 Bhatti, JS Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in metabolic disorders - A step towards mitochondria based therapeutic strategies/ JS Bhatti, GK Bhatti, PH Reddy// Biochim Biophys Acta Mol Dasis Dis.- 2017.- Vol. 1863.- Is. 5.- P. 1066-1077.

147 Bhavani, R. Anti-hyperglycemic activity of alcoholic leaf extract of Aegle marmelos (linn.) on alloxan induced diabetic rats/ R. Bhavani, S. Rajeshkumar// Int J Pharma Sci Res.- 2014.- Vol. 5.- P. 56-62.

148 Biovia, D. A comprehensive predictive science application for the Life Sciences/ D. Biovia, S. Biovia// San Diego, CA, USA. Com/products/collaborative-science/biovia-discovery-studio.- 2017.

149 Bohn, T. Dietary factors affecting polyphenol bioavailability/ T. Bohn// Nutr Rev.- 2014.- Vol. 72.- Is. 7.- P. 429-452.

150 Brian, L. Flexible ligand docking using conformational ensembles Protein Science/ L. Brian, K. Shoichet// Protein Sci.- 1998.- Vol. 7.- Is. 4.- P. 938-950.- doi: 10.1002/pro. 5560070411.

151 Brooijmans, N. Molecular recognition and docking algorithms/ N. Brooijmans, ID Kuntz// Ann Rev Biophys Struct.- 2003.- Vol. 32.- Is. 1.- P. 335-373.

152 Callaghan, BC Diabetic neuropathy: clinical manifestations and current treatments/ BC Callaghan, HT Cheng, CL Stables, AL Smith [et al.]// Lancet Neurol.- 2012.- Vol. 11.- Is. 6.- P. 521-534.

153 Cao, Q. Macrophages in kidney injury, inflammation and fibrosis/ Q. Cao, DC Harris, Y. Wang// Physiology.- 2015.- Vol. 30.- Is. 3.- P. 94-183.

154 Cervera, AM Inhibition of succianate dehydrogenase dysregylates histone modification in mammalian cells/ AM Cervera, J. Bayleu, K. McCreath// Mol Cancer.- 2009.- Vol.- 8.- P.- 89-96.

155 Champney, TH Alterations in components of the pineal melatonin synthetic pathway by acute insulin stress in the rat and Syrian hamster/ TH Champney, RW Steger, DS Christie, RJ Reiter// Brain Res.- 1985.- Vol. 338.- Is. 1.- P. 25-32.

156 Chen, S. Therapeutic Effects of Quercetin on Inflammation, Obesity, and Type 2 Diabetes/ S. Chen, H. Jiang, X. Wu, J. Fang// Mediators Inflamm.- 2016.- doi: 10.1155/2016/9340637.

157 Chen, T. Protective effect of platyodin D on liver injury in alloxan-induced diabetic mice via regulation of Treg/ Th 17 balance/ T. Chen, J. Gao, P. Xiang, Y. Chen [et al.]// Int Immunopharmacol J.- 2015.- Vol. 26.- Is. 2.- P. 338-348.

158 Choinacki, C. Evaluation of melatonin effectiveness in the adjuvant treatment of ulcerative colitis/ C. Choinacki, M. Wisniewska-Jaroinska, E. Walecka-Kapica, G. Klupinska [et al.]// J Psysiol Pharmacol.- 2011.- Vol. 62.- Is. 3.- P. 682-687.

159 Cipolla-Neto, J. Melatonin, energy metabolism, and obesity: a review/ J. Cipolla-Neto, FG Amaral, SC Afeche, DX Tan [et al.]// J Pineal Res.- 2014.- Vol. 56.- Is. 5.- P. 371-381.

160 Claustrat, B. Melatonin: Physiological effects in humans/ B. Claustrat, J. Leston// Neuroochirurgie.- 2015.- Vol. 61.- Is. 2-3.- P. 77-84.

161 Col, C. Exogenous melatonin treatment reduces hepatocyte damage in rats with experimental acute pancreatitis/ C. Col, K. Dinner, AO Hasdemir, O. Buyukasik// J Hepato- Billary-Pancreatic Sci.- 2010.- Vol. 17.- Is. 5.- P. 682-687.

162 Cook, DN Retinoid-related orphan receptors (RORs): critical roles in development, immunity, circadian rhythm, and cellular metabolism/ DN Cook, HS Kang, AM Jetten// Nucl Receptors Res.- 2015.- Vol. 2.- Doi: 10.11131/2015/101185.

163 Curtis, J. Downregulation of adipose glutathione S-transferase A4 leads to increased protein carbon - ylatio, oxidative stress, and mithochondrial dysfunction/ J. Curtis, PA Grimsrud, WS Wright, X. Xu [et al.]// Diabetes.- 2010.- Vol. 59.- Is. 5.- P. 1132-1142.

164 Das, J. Taurine ameliorates alloxan - induced diabetic renal injury, oxidative stress-related signaling pathways and apoptosis in rats/ J. Das, PC Sil// Amino Acids.- 2012.- Vol. 43.- Is. 4.- P. 1509-1523.

165 Dehdashtian, E. Diabetic retinopathy pathogenesis and the ameliorating effects of melatonin; involvement of autophagy, inflammation and oxidative stress/ E. Dehdashtian, S. Mehrzadi, B. Yousefi, A. Hosseinzadeh [et al.]// Life Sci.- 2018.- Vol. 193.- Is. 1.-P. 20-33.

166 Deng, Yu. Melatonin Antagonizes Mn-Induces Oxidarive In jury Through the Activation of Keap1-Nrf2-ARE Singnaling Pathway in the Striatum of Mice/ Yu Deng, J. Zhu, C. Mi, B. Xu [et al.]// Neurotoxicity Research.- 2015.- Vol. 27.- Is. 2.- P. 156-171.

167 Desai, KM Oxidative stress and aging: is methylglyoxal the hidden enemy/ KM Desai, T. Chang, H. Wang, A. Baniqesh [et al.]// Can J Physiol Pharmacol.- 2010.- Vol. 88.- Is. 3.- P. 273-284.

168 Diaz, E. Clock Genes Disruption in the Intensive Care Unit/ E. Diaz, I. Diaz, C. Del Busto, D. Escudero [et al.]// J Intensive Cart.- 2019.- doi: 10.1177/0885066619876572.

169 Dominguez - Rodriguez, A. Melatonin in cardiovascular diseases/ A. Dominguez-Rodriguez// Expert Opin Investig Drugs.- 2012.- Vol. 21.- Is. 11.- P. 1593-1596.

170 Dra, LA Antidiabetic potential of Caralluma europaea against alloxan - induced diabetes in mice/ LA Dra, S. Sellami, H. Rais, F. Aziz [et al.]// Saudi J Biol Sci.- 2019.- Vol. 26.- Is. 6.- P. 1171-1178.

171 Dunn, JS Necrosis of islets of Langerhans produced experimentally/ JS Dunn, HL Sheehan, NGB Mclethie// Lancet.- 1943.- P. 484-487.

172 Edit, HM The Antidiabetic Potential of Quercetin: Underlying Mechanisms/ HM Edit, PS Haddad// Curr Med Chem.- 2017.- Vol. 24.- Is. 4.- P. 355-364.

173 Elangovan, A. Antidiabetic and hypolipidemic efficacy of skin and seed extracts of Momordica cymbalaria on alloxan induced diabetic model in rats/ A. Elangovan,

A. Subramanian, S. Durairaj, J. Ramachandran [et al.]// J Ethnopharmacol.- 2019.- doi: 10.1016/j.jep.2019.111989.

174 Espino, J. Role of melatonin on diabetes-related metabolic disorders/ J. Espino, JA Pariente, AB Rodrigues// World J Diabetes.- 2011.- Vol. 2.- Is. 6.- P. 82-91.

175 Faizal, P. A study on the hypoglycemic and hypolipidemic effects of an ayurvedic drug Rajanyamalakadi in diabetic patients/ P. Faizal, S. Suresh, R. Satheesh Kumar, KT Augusti// Indian J Clin Biochem.- 2009.- Vol. 24.- Is. 1.- P. 82-87.

176 Favero, G. Melatonin and its atheroprotective effects: a review/ G. Favero, LF Rodella, RJ Reiter, R. Rezzani// Mol Cell Endocrinol.- 2014.- Vol. 78.- Is. 12.- P. 962-937.

177 Fischer, TW Melatonin enhances antioxidative enzyme gene expression (CAT, GPx, SOD), prevents their UVB-induced depletion, and protects against the formation of DNA damage (8 - hydroxyl - 2′- deoxyguanosine) in ex vivo human skin/ TW Fischer, K. Kleszczynski, LH Hardkop, N. Kruse [et al.]// J Pineal Res.- 2013.- Vol. 54.- P. 303–312.

178 Forbes, JM Mechanisms of diabetic complications/ JM Forbes, ME Cooper// Physiol Rev.- 2013.- Vol. 93.- Is. 1.- P. 137-188.

179 Fouli, GE The future: Experimental therapies for renal disease in diabetes/ GE Fouli, L. Gnudi// Nephron.- 2018.- Vol. 26.- P. 1-5.

180 Galley, HF Bench - to - bedside review: targeting antioxidants to mitochondria in sepsis/ HF Galley// Crit Care.- 2012.- Vol. 14.- Is. 4.- P. 230-240.

181 Gan, MJ Type 1 diabetes:current concepts in epidemiology, pathophysiology, clinical care, and research/ MJ Gan, A. Albanese-O'Neill, MJ Haller// Curr Probl Peiatr Adolesc Health Care.- 2012.- Vol. 42.- Is. 10.- P. 269-291.

182 Gao, T. Reduction of mitochondrial 3 – oxoacyl - ACP synthase (OXSM) by hyperglycemia is associated with deficiency of α - lipoic acid synthetic pathway in kidney of diabetic mice/ T. Gao, S. Qian, S. Shen, X. Zhang [et al.]// Biochem Biophys Res Commun.- 2019.- Vol. 512.- Is. 1.- P. 106-111.

183 Gasteiger, J. Chemoinformatics: a new field with a long tradition/ J. Gasteiger// Anal Bioanal Chem.- 2006.- Vol. 384.- Is. 1.- P. 57-64.- doi: 10.1007/s00216-005-0065-y.

184 Golbidi, S. Diabetes and alpha lipoic Acid/ S. Golbidi, M. Badran, I. Laher// Front Pharmacol.- 2011.- doi.org/10.3389/fphar.2011.00069.

185 Gomes-Moreno, G. Melatonin in diseases of the oral cavity/ G. Gomez-Moreno, J. Guardia, MJ Ferrera, A. Cutando [et al.]// Oral Dis.- 2010.- Vol. 16.- P. 242-247.

186 Gorąca, A. Lipoic acid - biological activity and therapeutic potential/ A. Gorąca, H. Huk-Kolega, A. Piechota, P. Kleniewska [et al.]// Pharmacol Rep.- 2011.- Vol. 63.- Is. 4.- P. 849-858.

187 Goto, K. Endothelium-Dependent Hyperpolarization (EDH) in Diabetes: Mechanistic Insights and Therapeutic Implications/ K. Goto, T. Kitazono// Int J Mol Sci.- 2019.- Vol. 20.- Is. 15.- P. 373-380.

188 Govender, J. Mitochondrial catastrophe during doxorubicin-induced cardiotoxicity: a review of the protective role of melatonin/ J. Govender, B. Loos, E. Morais, AM Engelbrecht/ J Pineal Res.- 2014.- Vol. 57.- Is. 4.- P. 367- 380.

189 Gravotto, G. Phytotherapeutics: an evaluation of the potential of 1000 plants/ G. Gravotto, L. Boffa, L. Genzini, D. Garella// J Clin Pharm Ther.- 2010.- Vol. 3.- Is. 1.- P. 11-48.

190 Girard, J. Mechanisms by which carbohydrates regulate expression of genes for glucolytic and lipogenic enzymes/ J. Girard, P. Ferre, F. Foufelle// Annu Rev Nutr.- 1997.- Vol.- 17.- P.- 325-352.

191 Guardiola-Lermaite, B. Melatonunergic receptor agonists and antagonists: pharmocologocal aspects and therapeutics perspectives/ B.Guardiola-Lermaite// Ann Pharm Fr.- 2005.- Vol. 63.- Is. 6.- P. 385-400.

192 Gürpinar, T. The effects of the melatonin treatment on the oxidative stress and apoptosis in diabetic eye and brain/ T. Gürpinar, N. Ekerbicer, N. Uysal, T. Barut [et al.]// Scientific World Journal.- 2012.- doi: 10.1100/2012/498489.

193 Gunata M. Melatonin: A review of its potenteial functions and effects on neurological diseases/ M. Gunata, H. Parlakpinar, H.A. Acet// Rev Neuro.- 2020.- Vol. 176.- Is. 3.- doi: 10.15690.

194 Hardeland, R. Melatonin - a pleotropic, orchestrating regular molecule/ R. Hardeland, DP Cardinali, V. Srinivasan, DW Spence [et al.]// Int J Inflam.- 2011.- Vol. 93.- Is. 3.- P. 350-384.

195 Hatware, K. The effect of quercetin on blood glucose levels of normal and streptozotocin induded diabetic (Type I& Type II) rats/ K. Hatware, A. Annapurna// Int J Pharm Biol Sci.- 2014.- Vol. 4.- Is. 3.- P. 613-619.

196 He, C. Mitochondria synthesize melatonin to ameliorate its function and improve mice oocyte quality under in vitro conditions/ C. He, J. Wang, Z. Zhang, M. Yang [et al.]// Int J Mol Sci.- 2016.- Vol.17.- Is. 6.- P. E939.

197 Huang, B. Intravitreal Injection of Hydrogen Peroxide Induces Acute Retinal Degeneration, Apoptosis, and Oxidative Stress in Mice/ B. Huang, J. Liang, X. Zhuang, SW Chen [et al.]// Oxid Med Cell Longev.- 2018.- doi: 10.1155/2018/5489476.

198 International Diabetes Federation /IDF Diabetes Atlas 8 th ed Brussels, 2017.

199 Inam-U-Llah, A. Ameliorative effects of taurine against diabetes: a review/ A. Inam-U-Llah, F. Piao, RM Aadi, R. Suleman [et al.]// Amino Acids.- 2018.- Vol. 50.- Is. 5.- P. 587-502.

200 Ismawati, I. The effect of alpha-lipoic acid on expression of VCAM-1 in type 2 diabetic rat/ I. Ismawati, M. Mukhyarjon, E. Asni, I. Romus// Anat Cell Biol.- 2019.- Vol. 52.- Is. 2.- P. 176-182.

201 Jung, KH Melatonin downregulates nuclkear erythroid 2 - related factor 2 and nuclear factor - kappaB during prevention of oxidative liver injury in dimethylnitrosamine model/ KH Jung, SW Hong, HU Zheng, DH Lee [et al.]// J Pineal Res.- 2009.- Vol. 47.- Is. 2.- P. 173-183.

202 Karam, BS Oxidative stress and inflammation as central mediators of atrial fibrillation in obesity and diabetes/ BS Karam, A. Chavez-Moreno, W. Koh, JG Akar [et al.]// Cardiovasc Diabetol.- 2017.- Vol. 16.- Is. 1.- P. 120.

203 Khaki, A. The anti-oxidant effects of ginger and cinnamon on spermatogenesis dys-function of diabetes rats/ A. Khaki, AA Khaki, L. Haihosseini, FS Golzar// Afr J Tradit Complement Altern Med.- 2014.- Vol. 11.- Is. 4.- P. 1-8.

204 Kitada, M. Rodent models of diabetic nephropathy: Their utility and limitations/ M. Kitada, Y. Ogura, D. Koya// Int J Nephrol Renovasc Dis.- 2016.- Is. 9.- P. 279-290.

205 Kozirog, M., Melatonin treatment improves blood pressure, lipid profile, and parameters of oxidative stress in patients with metabolic syndrome/ M. Kozirog, A. Poliwczak, P. Duchnowicz// J Pineal Res.- 2011.- Vol. 50.- P. 261-266.

206 Kumar, R. Evaluation of antidiabetic activity of alcoholic extract of Sesbania grandiflora flower in alloxan induced diabetic rats/ R. Kumar, S. Janadri, S. Kumar, DR Dhanajaya, S. Shivakumar// Asian J Pharm Pharmacol.- 2015.- Vol. 15.- Is. 1.- P. 21-26.

207 Kumari, S. Antidiabetic activity of Pandanus fascicularis Lamk aerial roots in alloxan - induced hyperglycemic rats/ S. Kumari, M. Wanjari, P. Kumar, S. Palani// Int J Nutr Pharmacol Neurol Dis.- 2012.- Vol. 2.- Is. 2.- P. 105-110.

208 Laliena, A. Melatonin attenuates inflammation and promotes regeneration in rabbits with fulminant hepatitis viral origin/ A. Laliena, B. San Miguel, I. Cavaiheiro, M. Alvarez// J Pineal Res.- 2012.- Vol. 53.- Is. 3.- P. 270-278.

209 Lambert, IH Physiological role of taurine – from organism to organelle/ IH Lambert, DM Kristensen, JB Holm, OH Mortensen// Acta Physiol.- 2015.- Vol. 213.- Is. 1.- P. 191-212.

210 Lee, IC Antioxidative activity of blueberry leaf extract prevents high-fat diet-induced obesity in C57BL/6 mice/ IC Lee, DY Kim, BY Choi// J Cancer Prev.- 2014.-Vol. 19.- Is. 3.- P. 209-215.

211 Lee, KM Protective effect of quercetin against arsenite-induced COX-2 expression by targeting PI3K in rat liver epithelial cells/ KM Lee, MK Hwang, DE Lee, KW Lee [et al.]// J Agric Food Chem.- 2010.- Vol. 58.- Is. 9.- P. 5815-5820.

212 Lei, Y. Carbohydrate response element binding protein (ChREBP) correlates with colon cancer progression and contributes to cell proliferation/ Y. Lei, S. Zhou, Q. Hu, X. Chen [et al.]// Sci Rep.- 2020.- Vol. 10.- Is. 1.- doi: 10.1038/s41598-020-60903-9.

213 Le Lay, S. Oxidative stress and metabolic pathologies: from an adipocentric point of view/ S. Le Lay, G. Simard, MC Martines// Oxid Med Cell Longev.- 2014.- doi: 10.1155/2014/908539.

214 Leo, CH Impairment of both nitric oxide-mediated and EDHF-type relaxation in small mesenteric arteries from rats with streptozotocin-induced diabetes/ CH Leo, JL Hart, OL Woodman// Br J Pharm.- 2011.- Vol. 162.- Is. 2.- P. 365-377.

215 Lihinich, N. Effects of 7-day melatonin introduction on the hydrogen sulfide production and glutathione system in the liver of alloxan induced diabetic rats/ N. Lihinich, I. Gerush// Geotgian Med News.- 2019.- №. 289.- P. 135-139.

216 Lorber, D. GLP-1 receptor agonists: effects on cardiovascular risk reduction / D. Lorber// Cardiovasc Ther.- 2013.- Vol. 31.- Is. 4.- P. 238-249.

217 Maher, MJ. Crystal structure of bacterial succinate: quinone oxidoreductase flavoprotein SdhA in complex with its assembly factor SdhE/ MJ. Maher, AS Herath, SR Udagedara, DA Dougan [et al.]// Proceedings of the National Academy of Sciences.- 2018.- Vol.- 115.- Is. 12.- P. 2982-2987.

218 Meng, JM Effects and Mechanisms of Tea for the Prevention and Management of Diabetes Mellitus and Diabetic Complications: An Updated Review/ JM Meng, SY Cao, XL Wei, RY Gan [et al.]// Antioxidants (Basel).- 2019.- Vol. 8.- Is. 6.- doi: 10.3390/antiox8060170.

219 Middha, SK Amelioration of antioxidant potential, toxicity, and antihyperglycemic activity of Hippophae salicifolia D. Don leaf extracts in alloxan-

induced diabetic rats/ SK Middha, T. Usha, BC Basistha, AK Goyal// 3 Biotech.- 2019.- Vol. 9.- Is. 8.- P. 308.

220 Mithell, T.The mitochondrial-targeted antioxidant mitoquinone protects against cold storage injury of renal tubular cells and rat kidneys/ T. Mithell, D. Rotaru, H. Saba H, RA Smith [et al.]//J Pharmacol Exp Ther.- 2011.- Vol. 336.- Is. 3.- P. 682-692.

221 Mohrzadi, S. Melatonin synergistically enhances protective action of atorvastatin against gentamicin-induced nephrotoxicity in rat kidne/ S. Mohrzadi, SK Komrava, B. Dormanesh, M.Motevalian [et al.]// Can J Physiol Pharmacol.- 2016.- Vol. 94.- Is. 3.- P. 265-271.

222 Murotomi, K. Switching from singlet-mediated oxidation in the pathogenesis of tyre 2 diabetes in model mouse/ K. Murotomi, A. Umeno, M. Ysunaga, M. Shichi, H. Abe [et al.]// Fre Radik Res.- 2015.- Vol. 49.- Is.- 2.- P.- 133-8.- doi: 10.3109/10715762.2014.985218.

223 Mustafa, SB Antihyperglycemic Activity of Hydroalcoholic Extracts of Selective Medicinal Plants Curcuma longa, Lavandula stoechas, Aegle marmelos, and Glycyrrhiza glabra and Their Polyherbal Preparation in Alloxan-Induced Diabetic Mice/ SB Mustafa, M Akram, H. Muhammad Asif, I. Qayyum// Dose Response.- 2019.- Vol. 17.- Is. 2.- doi: 10.1177/1559325819852503.

224 Naito, Y. Antidiabetic effect of the α-lipoic acid γ-cyclodextrin complex/ Y. Naito, N. Ikuta, D. Nakata// J Clin Biochem Nutr.- 2014.- Vol. 55.- Is. 2.- P. 97-102.

225 Nagorny, C. Tied of diabetes genetics? Circadian rhythms and diabetes: the MTNR1B stiry/ C. Nagorny, V. Lyssenko// Curr Diab Rep.- 2012.- Vol. 12.- Is. 6.- P. 667-672.

226 Nduhirabandi, F. Melatonin and the metabolic syndrome: A tool for effective therapy in obesity-associated abnormalities?/ F. Nduhirabandi, EF du Toit, A. Lochner// Acta Physiol.- 2012.- Vol. 205.- Is. 2.- P. 209-223.

227 Noguchi, M. Effects of α-tocopherol on bone marrow mesenchymal cells derived from type II diabetes mellitusrats/ M. Noguchi, I. Yamawaki, S. Takahashi, Y. Taguchi [et al.]// J Oral Sci.- 2018.- Vol. 60.- Is. 4.- P. 579-587.

228 Ogurtsova, K. IDF Diabetes Atlas: Global estimates for the prevalences of diabetes for 2015 and 2040/ K. Ogurtsova, JD da Rocha Fernandes, Y. Huang U. Linnenkamp [et al.]// Diabetes Res Clin Pract.- 2017.- Vol. 128.- P. 40-50.

229 Oh, YS Mechanistic insights into pancreatic beta-cell mass regulation by glucose and free fatty acids/ Oh YS// Anat Cell Biol.- 2015.- Vo. 48.- Is. 1.- P. 16-24.

230 Oishi, A. Melatonin receptor MT_1 and MT_2 In: Encyclopedia of Signaling Molecules/ A. Oishi, R. Jockers.- Ed Springer: New York, 2016.- pp. 1–6.

231 Oliveiram, T. Genetic polymorphisms associated with circadian rhythm dysregulation provide new perspectives on bipolar disorder/ T. Oliveiram, V. Marinho, V. Carvalho, F. Magalhaes [et al.]// Bipolar Disord.- 2018.- Vol. 20.- Is. 6.- P. 515-522.

232 Owino, S. Melatonin signaling controls the daily rhythm in blood glucose levels independent of peripheral clocks/ S. Owino, S. Contrers-Alcantara, K. Baba, G. Tosini// PLoS.- 2016.- Vol. 11.- Is. 1.- doi: 10.1371/journal.pone.0148214.

233 Park, S. Physiological effect and therapeutic application of alpha lipoic acid/ S. Park, U. Karunakaran, NH Jeoung, JH Jeon [et al.]// Curr Med Chem.- 2014.- Vol. 21.- Is. 32.- P. 3636-3645.

234 Patel, DK An overview on antidiabetic medicinal plants having insulin mimetic property/ DK Patel, SK Prasad, R. Kumar, S. Hemalatha// Asian Pac J Trop Biomed.- 2012.- Vol. 2.- Is. 4.- P. 320-330.

235 Peschke, E. New evidence for a role of melatonin in glucose regulation/ E. Peschke, E. Muhlbauer// Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.-2010.- Vol. 24.- Is. 5.- P. 829-841.

236 Picinato, MC Activation of insulin and IGF - 1 signaling pathways by melatonin through MT1 receptor in isolated rat pancreatic islets/ MC Picinato, AE Hirata, J. Cipolla-Neto, R. Curi [et al.]// J Pineal Res.- 2008.- Vol. 44.- Is. 1.- P. 88-94.

237 Pieralice, S. Latent autoimmune diabetes in adults: a review on clinical implications and management/ S. Pieralice, P. Pozzilli/ Diabetes & Metabolism Journal.- 2018.- Vol. 42.- P. 451-464/

238 Quera-Salva, MA Melatonin: Physiological and pharmacological aspects related to sleep: The interest of a prolonged-release formulation (Circadin®) in insomnia/MA Quera-Salva, B. Claustrat// Encephale.- 2018.- Vol. 44.- is. 6.- P. 548-557.

239 Quera-Salva, MA Moods disorders, circadian rhythms, melatonin and melatonin agonists/ MA Quera-Salva, S. Hartley// J Cent Nerv Syst Dis.- 2012.- Is. 4.- P. 15-26.

240 Ranilla, LG Effect of thermal treatment on phenolic compounds and functionality linked to type 2 diabetes and hypertension management of peruvian and Brazilian bean cultivars (Phaseolus vulgaris L.). Usingin Vitro-methods/ LG Ranilla, Y-I Kwon, MI Genovese, FM Lajolo [et al.]// J Food Biochem.- 2010.- Vol. 34.- Is. 2.- P. 329-355.

241 Rehman, K. Mechanism of Generation of Oxidative Stress and Pathophysiology of Type 2 Diabetes Mellitus: How Are They Interlinked?/ K. Rehman, MSH Akash// J Cell Biochem.- 2017.- Vol. 118.- Is. 11.- P. 3577-3585.

242 Reiter, R J Beneficial effects of melatonin in cardiovascular diseases/ RJ Reiter, DX Tan, SD Parades// Ann Med.- 2010.- Vol.42.- Is. 1.- P.276-285.

243 Reiter, RJ Medical implications of melatonin: receptor-mediated and receptor-independent actions/ RJ Reiter, DX Tan, LC Manchester, M. Terron [et al.]// Adv Med Sci.- 2007.- Is. 52.- P. 11-28.

244 Reiter, RJ Melatonin as a mitochondria-targeted antioxidant: one of evolution's best ideas/ RJ Reiter, S. Rosales-Corral, DX Tan, MJ Jou [et al.]// Cell Mil Life Sci.- 2017.- Vol. 74.- Is. 21.- P. 3863-3881.

245 Reiter, RJ Melatonin as an antioxidant: under promises but over delivers/ RJ Reiter, JC Mayo, DX Tan, RM Sainz [et al.]// J Pineal Res.- 2016.- Vol. 61.- Is.3.- P. 253-278.

246 Reiter, RJ Melatonin reduces lipid peroxidation and membrane viscosity/ RJ Reiter, DX Tan, A. Galano// Front Physiol.- 2014.- Vol. 5.- P. 377-387.

247 Rochette, L. Alpha-lipoic acid: molecular mechanisms and therapeutic potential in diabetes/ L. Rochette, S. Ghibu, A. Muresan, C. Vergely// Can J Physiol Phaemacol.- 2015.- Vol. 93.- Is. 12.- P. 1021-1027.

248 Rochette, L. Direct and indirect antioxidant properties of α-lipoic acid and therapeutic potential/ L. Rochette, S. Chibu, C. Richard, M. Zeller [et al.]// Mol Nutr Food Res.- 2013.- Vol. 57.- Is. 1.- P. 114-125.

249 Ruyck, R. Molecular docking as a popular tool in drug design, an in silico travel/ R. Ruyck, G. Brysbaert, R. Blossey, M. Lensink// Advances and Applications in Bioinformatics and Chemistry.- 2016.- Vol. 9.- Is. 1.- P. 1-11.- doi: 10.2147/AABC.S105289.

250 Saio, V. Effect of Potentilla fulgens on lipid peroxidation and antioxidant status in alloxan-induced diabetic mice/ V. Saio, D. Syiem, R. Sharma// J Basic and Clin Pharm.- 2012.- Vol. 3.- Is. 2.- P. 249-264.

251 Sebai, H. Lavender (Lavandula stoechas L.) essential oils attenuate hyperglycemia and protect against oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats/ H. Sebai, S. Selmi, K. Rtibi, A. Souli A [et al.]// Lipids Health Dis.- 2013.- Vol. 12.- Is. 2.- P. 189-193.

252 Seithikurippu, R. Melatonin Antioxidative Defense: Therapeutical Implications for Aging and Neurodegenerative Processes/ R. Seithikurippu, AS BaHammam, GM Brown, DW Spence [et al.]// Neurotoxic Res.- 2013.- Vol. 23.- P. 267-300.

253 Seuring, T. The economic costs of type 2 diabetes: a global systematic review/ T. Seuring, O. Archangelidi, M. Suhrcke// Pharmacoeconomics.- 2015.-Vol. 33.- Is. 8.- P. 811-831.

254 Sharma, S. The role of melatonin in diabetes: therapeutic implications/ S. Sharma, H. Singh, N. Ahmad, P. Mishra [et al.]// Arch Endocrinol Metab.-2015.- Vol. 59.- Is. 5.- P. 391-399.

255 Sies, H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine/ H. Sies// Redox Biol.- 2015.- Vol. 4.- P. 180-183.

256 Sinha, N. Oxidative stress and antioxidants in hypertension-a current review/ N. Sinha, PK Dabla// Curr Hypertens Rev.- 2015.- Vol. 11.- Is. 2.- P. 132-142.

257 Slomimski, RM Melatonin membrane receptors inperipheral tissues: distribution and functions/ RM Slomimski, RJ Reiter, N. Schlabritz-Loutsevitch, RS Ostrom [et al.]// Mol Cell Endocrinol.- 2012.- Vol. 351.- Is. 2.- P. 152-166.

258 Shoichet, BK Lead discovery using molecular docking/ BK Shoichet, SL McGovern, B. Wei, JJ Irwin// Current Opinion in Chemical Biology.- 2002.- Vol. 6.- Is. 4.- P. 439–446.- doi:10.1016/s1367-5931.

259 Speckmann, B. Peroxynitrite: From interception to signaling/ B. Speckmann, H. Steinbrenner, T. Grune, LO Klotz// Arch Biochem Biophys.- 2016.- Vol. 59.- Is. 5.- P. 153-160.

260 Spiegel, K. Effects of poor and short sleep on glucose metabolism and obesity risk/ K. Spiegel, E. Tasali, R. Leproult, E. Cauter// Nat Rev Endocrinol.- 2009.- Vol. 5.- Is 5.- P. 253-261.

261 Srinivasan, V. Melatonin in mitochondrial dysfunction and relates disorders/ V. Srinivasan, DW Spence, SR Pandi-Perumal, GM Brown// Int J Alzheimer Dis.- 2011.- Vol. 21.- Is. 3.- P. 234-245.

262 Sudheesh, NP Palladium-α-lipoic acid complex attenuates alloxan - induced hyperglycemia and enhances the declined blood antioxidant status in diabetic rats/ NP Sudheesh, TA Ajith, KK Janardhanan, CV Krishnan// J Diabetes.- 2011.- Vol. 3.- Is. 4.- P. 293-300.

263 Takikawa, M. Dietary anthocyanin-rich bilberry extract ameliorates hyperglycemia and insulin sensitivity via activation of AMP-activated protein kinase in diabetic mice/ M. Takikawa, S. Inoue, F. Horio, T.Tsuda// J Nutr.- 2010.- Vol. 140.- Is. 3.- P. 527-533.

264 Takitani, K. α-Tocopherol status and altered expression of α-tocopherol-related proteins in streptozotocin-induced type 1 diabetes in rat models/ K. Takitani, K.

Inoe, M. Koh, H. Miyazaki [et al.]// J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo).- 2014.- Vol. 60.- Is. 6.- P. 380-386.

265 Tarahovsky, YS Rafts making and rafts braking: how plant flavonoids may control membrane heterogeneity/ YS Tarahovsky, EN Muzafarov, YA Kim// Mol CellBiochem.- 2008.- Vol. 314.- Is. 1-2.- P. 65-71.

266 Tengattini, S. Cardiovascular diseases: protective effects of melatonin/ S. Tengattini, RJ Reiter, DX Tan// J Pineal Res.- 2008.- Vol. 44.- Is. 11.- P. 16-36.

267 Tousoulis, D. Oxidative stress and endothelial function: therapeutic interventions/ D. Tousoulis, A. Briasoulis, N. Papageorgiou, C. Tsiamis [et al.]// Recent Pat Cardiovascular Drug Discov.- 2011.- Vol. 6.- Is. 2.- P. 103-114.

268 Tripathi, P. Peroxynitrite modified DNA presents better epitopes for anti-DNA autoantibodies in diabetestype 1 patients / P. Tripathi, A. Moinuddin, K. Dixit, AR Mir [et al.]// Cell Immunol.- 2014.- Vol. 290.- Is. 1.- P. 30-38.

269 Trott, O. AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading/ O. Trott, AJ Olson// Journal of Computational Chemistry.- 2009.- doi: 10.1002/ jcc.21334

270 Tunon, MJ Melatonin attenuates apoptopic liver damage in fulminant hepatic failure, induced by the rabbit hemorrhage disease virus/ MJ Tunon, B. San Miguel, J. Crespo, F. Jorquera// J Pineal Res.- 2011.- Vol. 50.- Is. 1.- P. 38-45.

271 Valdecantos, MP Impact of dietary lipoic acid supplementation on liver mitochondrial bioenergetics and oxidative status on normally fed Wistar rats/ MP Valdecantos, P. Perez-Matutr, P. Prieto-Hontoria, MJ Moreno-Aliaga [et al.]// Int J Food Sci Nutr.- 2019.- Vol. 70.- Is. 7.- P. 834-844.

272 Vendrame, F. In Type 1 Diabetes Immunocompetent cells are defective in IL-16 secretion/ F. Vendrame, D. Cataldo, L. Ciarlo, O. Umland [et al.]// Scand J Immunol.- 2012.- Vol. 75.- Is. 1.- P. 127-128.

273 Volpe, SL Hypomagnesemia and Oxidative Stress/ SL Volpe, VR Lemon. - Gastrointestinal Tissue.- 2017 : Academic Press.- P. 311-316.

274 Vried, J. Melatonin feedback on clock genes: a theory involving the proteasome/J. Vried, RJ Reiter// J Pineal Res.- 2015.- Vol. 58.- Is. 1.- P. 1-11.

275 Wu, Z. α-Tocopherol, especially α-tocopherol phosphate, exerts antiapoptotic and angiogenic effects on rat bone marrow-derived endothelial progenitor cells under high-glucose and hypoxia conditions/ Z. Wu, X. Zhrng, L. Meng, X. Fang [et l.]// J Vasc Surg.- 2018.- Vol. 67.-Is. 4.- P. 1263-1273.

276 Xiao, Z. SDHB downregulation facilitates the proliferation and invasion of colorectal cancer through AMPK functions excluding those involved in the modulation of aerobic glycolysis/ Z. Xiao, S. Liu, F. Ai, X.Chen // Experimental and therapeutic medicine.- 2018- Vol. 15.- P. 864-872.

277 Xu, X. Predicting protein–ligand binding modes for CELPP and GC3: workflows and insight JCAMD/ X. Xu, Z. Ma, R Duan, X. Zou//2019.- Vol. 33- Is. 1.- doi: 10.1007/s10822-019-00185-0.

278 Yamashita, H. A glucose – responsive transcription factor that reguiates carbohydrate metabolism in the liver/ H. Yamashita, M. Takenoshita, M. Sahura, RK Bruick [et al.]// Proc Natl Acad Sci.- 2001.- Vol.- 98.- P.- 9116-9121.

279 Yankovskaya, V.Architecture of succinate dehydrogenase and reactive oxygen species generation/ V. Yankovskaya, R. Horsefield, S. Tornroth, C. Luna-Chavez [et al.] // Science.- 2003.- Vol. 299 (5607).- P. 700-704.

280 Yoshida, Y. Chemistri of lipid peroxidation products and their use as biomarkers in early detection of diseases/ Y. Yoshida, A. Umeno, Y. Akazama, M.Shichiri, K. Murotomi [et al.]//J Oleo Sci.- 2015.- Vol. 64.- Is. 4. – P. 347-56.- doi: 10.5650/jos.ess14281.

281 Zhang, M. Melatonin protects against diabetic cardiomyopathy through Zheng, J. Therapeutic effects of quercetin on early inflammation in hypertriglyceridemia-related acute pancreatitis and its mechanism/ J. Zheng, J. Wu, J. Chen, J. Liu [et al.]// Pancreatology.- 2016.- Vol. 16.- Is. 2.- P. 200-210.

282 Zhang, M. Melatonin protects against diabetic cardiomyopathy through Mst1/Sirt3 signaling/ M. Zhang, J. Lin, S. Wang, Z. Cheng [et al.]// J Pineal Res.- 2017.- Vol. 63.- Is. 2.- P. 153-158.

283 Zhang, Z. EpigaHocatechin-3-gallate protects pro-inflammatory cytokine induced injuries in insulin-producing cells through the mitochondrial pathway/ Z. Zhang, Y. Ding, X. Dai, J. Wang [et al.]// Eur J Pharmacol.- 2011.- Vol. 670.- Is. 1.- P. 311-316.

ПРИЛОЖЕНИЯ

УТВЕРЖДАЮ
И.О. проректора по учебной деятельности
ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России
д.м.н., профессор
А.Б. Ходжаян
« » 20 г.

АКТ

об использовании предложения в учебном процессе

1. Наименование предложения: «Особенности патофизиологического изменения в организме крыс при сахарном диабете и эффективность методов при его коррекции».
2. Наименование научно-исследовательской работы, в рамках которой, разработано предложение: кандидатская диссертация «Особенности течения экспериментального аллоксан - индуцированного сахарного диабета и методы его коррекции».
3. Исполнитель: соискатель кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России Биджиева Фатима Асхатовна.
4. Научный руководитель: заведующий кафедрой общей и биологической химии СтГМУ, доктор биологических наук, доцент К.С. Эльбекьян.
5. Дата использования предложения: с февраля 2020 г.
6. Эффективность внедрения:
материалы диссертационного исследования используются для чтения лекций и проведения семинарских занятий для студентов 3 курса лечебного и педиатрического факультетов в рамках дисциплины «Патологическая физиология»

Зав. кафедрой патологической
физиологии ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава
России, д.м.н., профессор Е.В. Щетинин

Автор предложения Ф.А. Биджиева

УТВЕРЖДАЮ
И.о. проректора по учебной деятельности
ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России
д.м.н., профессор
_____________ А.Б. Ходжаян
«___» _________ 20__ г.

АКТ

об использовании предложения в учебном процессе

1. Наименование предложения: «Мелатонин и методы коррекции аллоксан индуцированного сахарного диабета»
2. Наименование научно- исследовательской работы, в рамках которой, разработано предложение: кандидатская диссертация «Особенности течения экспериментального аллоксан – индуцированного сахарного диабета и методы его коррекции».
3. Исполнитель: соискатель кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России Биджиева Фатима Асхатовна.
4. Научный руководитель: заведующий кафедрой общей и биологической химии СтГМУ, доктор биологических наук, доцент К.С. Эльбекьян.
5. Дата использования предложения: с февраля 2020 г.
6. Эффективность внедрения:
материалы данного исследования используются для чтения лекций и проведения семинарских занятий для студентов 5 курса лечебного и педиатрического факультетов в рамках дисциплины «Клинической биохимии».

Зав. кафедрой клинической биохимии
ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России,
д.м.н., профессор Т. П. Бондарь

Автор предложения Ф.А. Биджиева

УТВЕРЖДАЮ
И.О. проректора по учебной деятельности
ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России
д.м.н., профессор
_________А.Б. Ходжаян
«__»__________20__г.

АКТ

об использовании предложения в учебном процессе

1. Наименование предложения: ингибирование мелатонином домена сукцинатдегидрогеназы как сайт воздействия новых противодиабетических лекарственных препаратов.
2. Наименование научно- исследовательской работы, в рамках которой, разработано предложение: кандидатская диссертация «Особенности течения экспериментального аллоксан – индуцированного сахарного диабета и методы его коррекции».
3. Исполнитель: соискатель кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России Биджиева Фатима Асхатовна.
4. Научный руководитель: заведующий кафедрой общей и биологической химии СтГМУ, доктор биологических наук, доцент К.С. Эльбекъян.
5. Дата использования предложения: с сентября 2019г.
6. Эффективность внедрения:
материалы диссертационного исследования используются для чтения лекций и проведения семинарских занятий для студентов 2 курса лечебного и педиатрического факультетов в рамках дисциплины «Общей и биологической химии».

Зав. кафедрой общей и биологической химии ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России, д.б.н., доцент — К.С. Эльбекьян

Автор предложения — Ф.А. Биджиева

УТВЕРЖДАЮ
И.О. проректора по учебной деятельности
ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России
д.м.н., профессор
__________ А.Б. Ходжаян
«__» ____________ 20__ г.

АКТ

об использовании предложения в учебном процессе

1. Наименование предложения: морфологические изменения в печени, поджелудочной железе, при аллоксан - индуцированном сахарном диабете.
2. Наименование научно-исследовательской работы, в рамках которой, разработано предложение: кандидатская диссертация «Особенности течения экспериментального аллоксан - индуцированного сахарного диабета и методы его коррекции».
3. Исполнитель: соискатель кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России Биджиева Фатима Асхатовна.
4. Научный руководитель: заведующий кафедрой общей и биологической химии СтГМУ, доктор биологических наук, доцент К.С. Эльбекьян.
5. Дата использования предложения: с февраля 2020 г.
6. Эффективность внедрения:
материалы диссертационного исследования используются для чтения лекций и проведения семинарских занятий для студентов второго курса лечебного, педиатрического факультетов в рамках дисциплины «Патологическая анатомия».

Зав. кафедрой патологической анатомии
ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава
России, к.м.н., профессор С.З. Чуков

Автор предложения Ф.А. Биджиева

УТВЕРЖДАЮ
Зав. эндокринологическим отделением
ГБУЗ СК «Краевой клинической
больницы»
________М.В. Карслиева
«__»__________20__

КАРСЛИЕВА МАРИНА ВАСИЛЬЕВНА ВРАЧ

АКТ

об использовании предложения в лечебно – диагностическом процессе

1. Наименование предложения: некоторые положения были представлены в кабинете «Школа диабета».

В условиях моделирования сахарного диабета изучено влияние гормона мелатонина в коррекции метаболических сдвигов при сахарном диабете.

2. Наименование научно - исследовательской работы, в рамках которой, разработано предложение: кандидатская диссертация «Особенности течения экспериментального аллоксан – индуцированного сахарного диабета и методы его коррекции».

3. Исполнитель: соискатель кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России Биджиева Фатима Асхатовна.

4. Научный руководитель: заведующий кафедрой общей и биологической химии СтГМУ, доктор биологических наук, доцент К.С. Эльбекъян.

5. Дата использования предложения: с февраля 2019 г.

6. Эффективность внедрения:
Данные исследования можно использовать как сайт воздействия новых противодиабетических лекарственных препаратов, а также данные исследования могут быть использованы в научных целях, и для оценки стойких изменений как клинических, так и морфологических проявлений в результате лечения сахарного диабета.

Зав. отделением М.В. Карслиева

Автор предложения Ф.А. Биджиева