

На правах рукописи

БИДЖИЕВА Фатима Асхатовна

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

1.5.4. Биохимия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Краснодар – 2021

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования "Ставропольский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель: доктор биологических наук, доцент
Эльбекьян Карине Сергеевна.

Официальные оппоненты:

Мустафин Ильшат Ганиевич, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Казанский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра биохимии и клинической лабораторной диагностики, заведующий кафедрой;

Микашинович Зоя Ивановна, доктор биологических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Ростовский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра общей и клинической биохимии № 1, заведующий кафедрой.

Ведущая организация:

федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Самарский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится 21 сентября 2021 года в 10.00 час. на заседании диссертационного совета 21.2.014.02 на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "Кубанский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России) (350063, Краснодар, ул. Митрофана Седина, 4, тел. (861)2625018).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и официальном сайте (<http://www.ksma.ru>) ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России.

Автореферат разослан "___" _____ 2021 г.

Учёный секретарь

диссертационного совета 21.2.014.02

доктор медицинских наук,
профессор



Лапина Наталья Викторовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

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 меха-

низмов, 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 [С. Col et al., 2010; G. Gomez-Moreno et al., 2010; С. 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; С. 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. Akmal et al., 2010; I. Bahr et al., 2011; T. Gürpınar 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 плеiotропного 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 антиоксидантной 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 генерогенность 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 ис-

пользовали 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 – практиче-

ской 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 ним.

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.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ 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. Ереван (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. Были выполнены две серии экспериментов (рисунок 1).

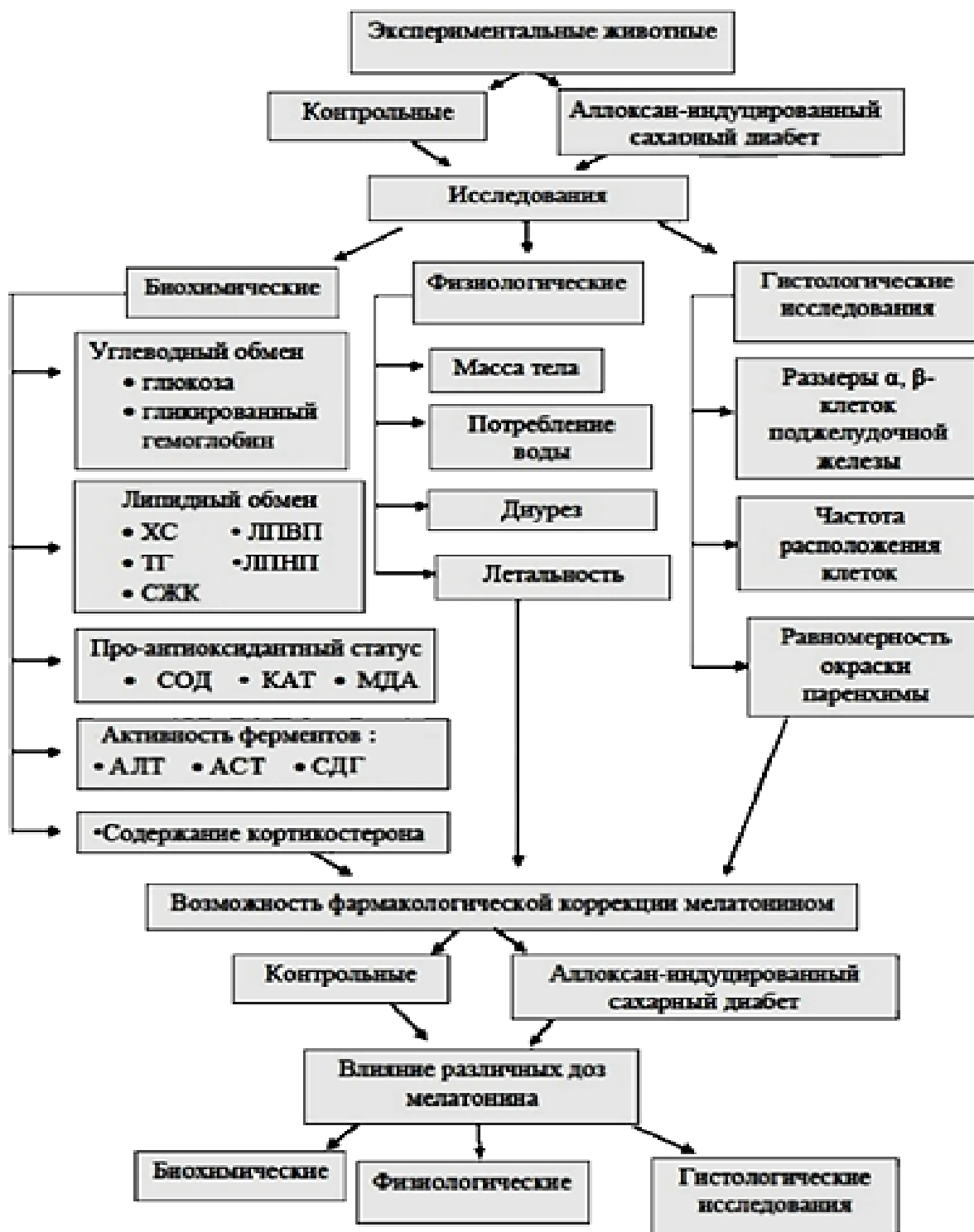


Рисунок 1 – Дизайн эксперимента

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 включены были 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 гликозурии 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 мг/кг 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 мг/кг и 1 мг/кг.

Вывод животных из эксперимента проводился на 25-ые 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 указывало 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 $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Биохимические особенности протекания аллоксан-индуцированного сахарного диабета у экспериментальных животных

Целью данного этапа являлось изучение эффектов аллоксана в отношении основных звеньев патогенеза. Развитие аллоксанового диабета в разные сроки у крыс привело к гибели около 14% животных. У оставшихся (n = 50) крыс была выявлена гетерогенность к аллоксану. Аллоксан у всех наблюдаемых животных вызвал гликозурию. Однако крысы с НУЧ на 15-е сутки эксперимента не демонстрировали содержания глюкозы в моче (0.09 ± 0.01 г/сут). У животных с

высокой уремической чувствительностью содержание глюкозы в моче не снижалось ($9,72 \pm 0,59$ г/сут) до конца эксперимента.

Биохимический анализ крови (на 25-й день эксперимента) показал увеличение содержания глюкозы в группе с низкой уремической чувствительностью после введения аллоксана на 46%, а у животных с ВУЧ на 54,1% в сравнении с показателями контрольной группы. Аналогичная тенденция наблюдается и для гликозилированного гемоглобина (рисунок 2).

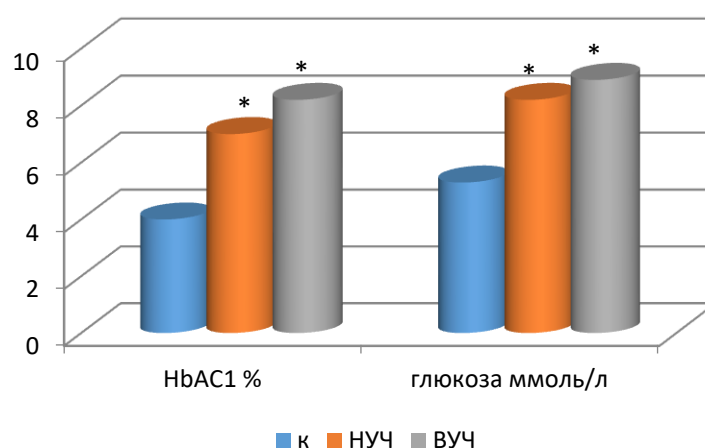


Рисунок 2 – Содержание глюкозы и гликозилированного гемоглобина в крови у животных с разной чувствительностью к аллоксану

Содержание в плазме крови общего холестерина у крыс с НУЧ увеличивалось на 9%, ВУЧ – на 25%, триглицеридов – на 58 и 41% соответственно. Концентрация ЛПНП повышалась в 2 и в 3 раза у крыс с НУЧ и ВУЧ соответственно, а ЛПВП – в 1,2 и 1,3 раза. Уровень суммарных НЭЖК увеличился вдвое у всех животных с развитым диабетом в сравнении с данными контрольной группы (рисунок 3).

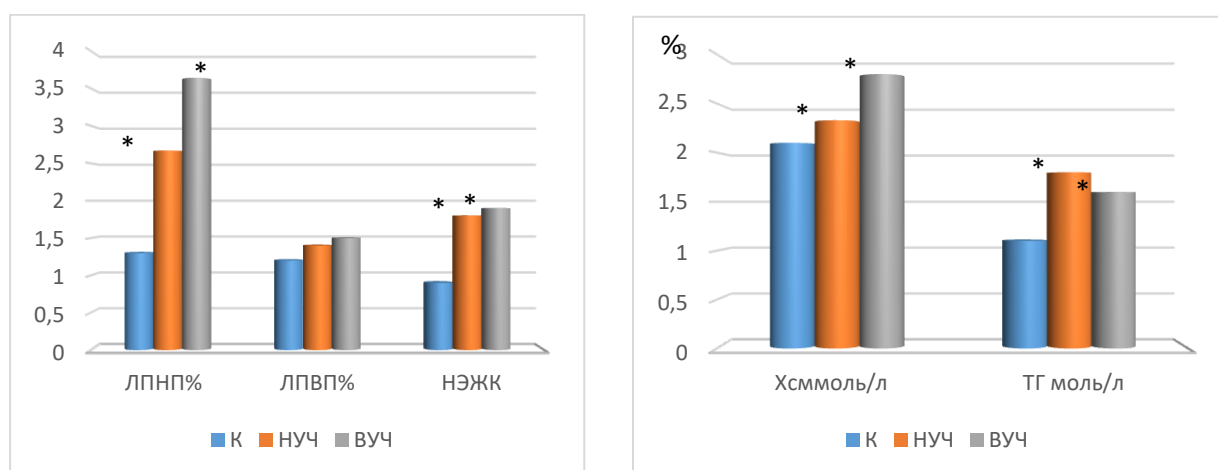


Рисунок 3 – Изменение показателей липидного обмена в сыворотке крыс с разной чувствительностью к аллоксану

На 25-день эксперимента содержание малонового диальдегида было значимо выше в обеих группах по сравнению с аналогичным показателем у интактных

крыс (рисунок 4). Образование большого количества продуктов перекисного окисления липидов свидетельствует об активации процессов разрушения клеточных мембран.

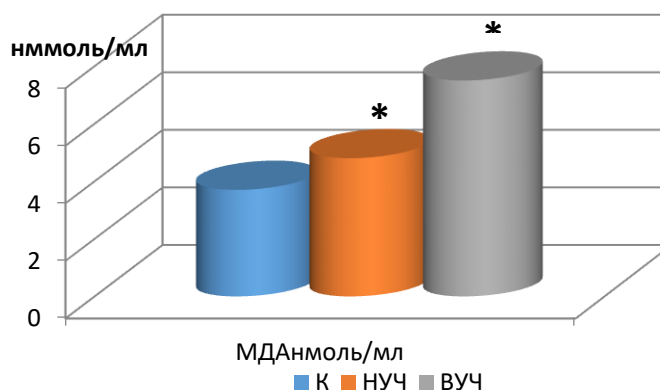


Рисунок 4 – Содержание малонового диальдегида в сыворотке крыс с разной чувствительностью к аллоксану

Принимая во внимание высокую активность ПОЛ, следующим шагом явилось изучение состояния антиоксидантной системы (АОС). Маркером активности АОС выбраны были ферменты – каталаза и супероксиддисмутаза (СОД). Активность каталазы увеличивалась (Кат) в 1,5 раза, а супероксиддисмутаза (СОД) в 1,4 раза по сравнению с данными контрольной группы животных. В наших исследованиях активность антиоксидантных ферментов значительно выше у животных с высокой уремической чувствительностью. Содержание АСТ в крови в 2,6 раза выше, чем у контрольных животных, а АЛТ – в 2,1 раза. 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 свидетельствует о нарушении целостности мембран гепатоцитов, их проницаемости, и гибели (таблица 1).

О преимущественном повреждении аллоксаном внешних мембран клеток печени у животных с НУЧ указывает повышение активности АЛТ, являющийся цитоплазматическим энзимом, в сравнении с АСТ, имеющего митохондриально-цитоплазматическую локализацию в 1,2 раза. У крыс с ВУЧ была выше активность АСТ, что указывает на более глубокие повреждения митохондрий.

Таблица 1 – Влияние аллоксана на показатели состояния антиоксидантной системы, содержание кортикостерона и активности трансаминаз в сыворотке крыс (Ме (Q1/Q3))

Показатели	Контрольные крысы	Крысы после введения аллоксана	
		НУЧ	ВУЧ
КАТ, мкат/л	2,25(1,60/4,10)	3,45*(2,10/5,20)	4,55*(3,80/5,40)
СОД, (ЕД/л)	2,55 (1,80/4,20)	3,65*(2,5/4,30)	5,25*(3,90/6,20)
АСТ, (ЕД/л)	58,10 (52,10/64,30)	60,25 (54,8/69,70)	150,0* (139,40/164,80)
АЛТ, (ЕД/л)	70,08 (63,40/81,70)	73,30 (65,50/82,40)	145,04*(132,80/158,40)
КС, нг/мл	50,30 (43,70/62,10)	55,12*(47,80/62,30)	85,54* (75,60/91,20)

П* – статистически значимые отличия ($p < 0.05$) от показателей контрольной группы

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) (рисунок 5).

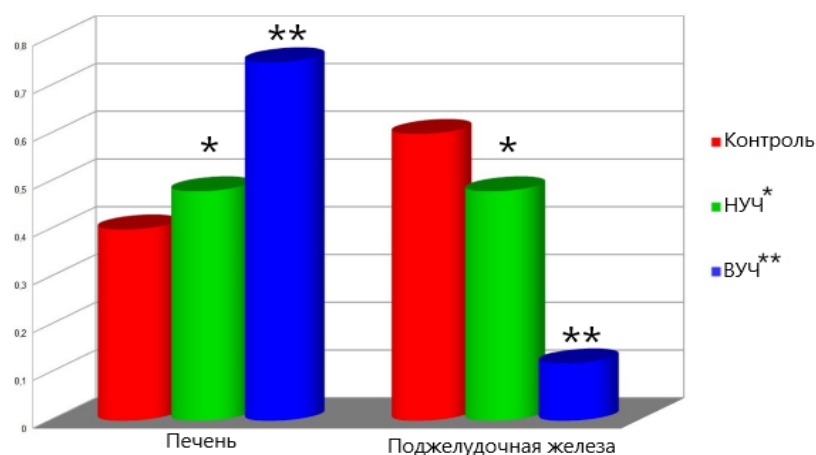


Рисунок 5 – Активность СДГ у животных с различной уремической чувствительностью к аллоксану

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. 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, и как следствие этого наблюдается нарушение процесса высвобождения инсулина и развитие диабета.

Индукцированный сахарный диабет привел к активации адренокортикальной системы, у 66,6% крыс. У 33,3% животных отмечалась существенно пониженная активация АКС, которая выявлялась в первые дни заболевания. При исследовании сыворотки крови с целью определения содержания кортикостерона было установлено его достоверное повышение в 1,7 раза только у крыс с ВУЧ к аллоксану в сравнении с интактными животными (таблица 1). Следовательно, течение аллоксанового диабета, возможно, связано с выраженностью активации АКС, что позволяет говорить о важной роли реактивности этой гормональной

системы в механизмах развивающейся декомпенсации сахарного диабета 1 типа после первоначального повреждения инсулин-продуцирующей функции островков Лангерганса поджелудочной железы.

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 животных линии Wistar проявилась выраженная вариабельность и гетерогенность в индивидуальной чувствительности к цитотоксичному действию аллоксан-тетрагидрата по величине диуреза и уровня глюкозурии. Появление разницы в чувствительности крыс к аллоксану возможно связано с определенным биохимическим механизмом адаптации к изменениям среды, которая обеспечивает большую выживаемость.

Биологические и фармакологические эффекты разных доз мелатонина

В данной серии экспериментов оценивали влияние разных доз гормона на основные обменные процессы, 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 4 подгруппы (по 15 крыс в каждой). Первую составили интактные животные, вторую – крысы которым вводили физиологический раствор (контрольные), 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. Введение мелатонина в дозе 0,1 мг/кг не оказывало существенного влияния на углеводный и липидный обмены. 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 2). Многократное введение мелатонина в дозе 0,1 мг/кг указало на способность гормона к подавлению стресс - индуцированного липолиза. В группе животных, где использовалась 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 ТГ оказалось ниже контрольных величин в 1,4 и 1,5 раз соответственно.

Таблица 2 – Влияние разных доз мелатонина на показатели углеводного и липидного обмена в крови крыс (Me (Q1/Q3))

Показатели	Интактные	Контрольные	МТ в дозе	
			0,1 мг/кг	1 мг/кг
ГЛ, 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)*
ХС, 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)*

* $p < 0,05$ – статистически значимое отличие от показателя контрольной группы

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.

Ежедневное введение мелатонина в дозе 1 мг/кг заметно увеличивало (в 1,9 раз) 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 антиоксидантным действием [А.Н. Климов и соавт., 1992]. Согласно полученным данным мелатонин оказывал влияние и на интенсивность перекисного окисления липидов, что выражалось в снижении содержания МДА на 14 % при дозе 0,1 мг/ кг и на 41 % при - 1 мг/кг (таблица 3).

Таблица 3 – Влияние разных доз мелатонина на интенсивность процессов в печени у крыс (Ме (Q1/Q3))

Показатели	Интактные	Контрольные	Группа, получавшая МТ	
			0,1 мг/кг	1 мг/кг
МДА, моль/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)
СОД, ед	3,28 (2,42/3,55)	3,55*(3,28/3,81)	2,89* (2,75/3,55)	2,45* (2,32/2,69)
КАТ, 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)
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)
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)

* – $p < 0,05$ статистически значимые отличия от показателя контрольной группы

Одновременно снижалась активность СОД на 17 и 25% соответственно. Активность каталазы не изменялась. Эти сдвиги можно объяснить антиоксидантными свойствами мелатонина, которые объясняются либо передачей электрона от молекулы мелатонина к активному радикалу с образованием мелатонин - радикала, либо прямым переносом атома водорода между свободным радикалом и мелатонином. При высоких дозах мелатонина в ходе последовательных реакций соответствующий радикал не успевает превратиться в стабильный метаболит, что заметно снижает общую антиоксидантную активность гормона.

После использования экзогенного мелатонина в дозе 1 мг/кг у крыс наблюдается заметное снижение активности ферментов АЛТ в сыворотке крови (на 9%) и АСТ (на 18,7%), что может свидетельствовать о сохранности гепатоцитов и снижении проницаемости цитоплазматической мембраны клеток. Активность

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

На фоне хронического введения различных доз мелатонина выявлено снижение уровня кортикостерона. Это проявилось в том, что после низкой дозы вещества снижение уровня данного гормона 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 и 1,0 мг/кг, приводил к снижению концентрации кортикостерона на 19,5 и 9,0% (соответственно) 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 6).

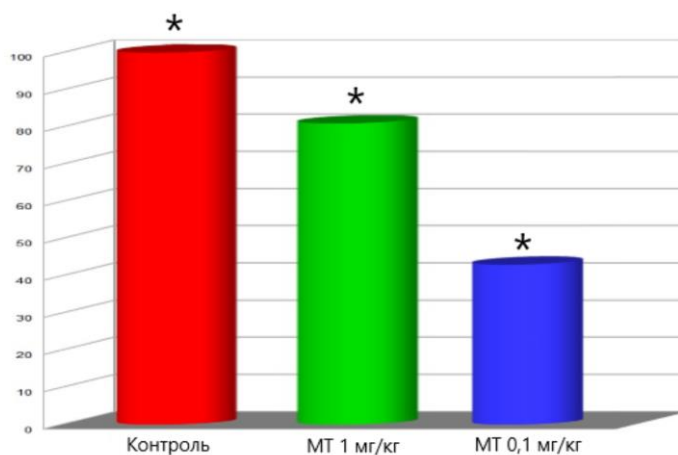


Рисунок 6 – Влияние различных доз мелатонина на уровень плазменного кортикостерона

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

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

В данной части исследования с использованием методов хемоинформатики и компьютерного анализа установлена возможность комплексообразования мелатонина, гормона шишковидной железы, с ферментом СДГ, являющийся одним из ключевых звеньев в процессе энергообеспечения клетки. Полученные нами результаты докинг - анализа свидетельствуют, что мелатонин связывается в каталитическом домене субъединицы СДГ (рисунок 7А). Кластерный анализ полученных мест связывания мелатонина с СДГ свидетельствует, что все конформеры образуют единый кластер, с отклонением $\leq 0,4 \text{ \AA}$ относительно друг друга. В результате докинг - анализа были получены пространственно - энергетические параметры комплексообразования. Рассчитанная свободная энергия

Гиббса для комплекса мелатонин - сукцинатдегидрогеназа равна – $7,5 \pm 0,37$ ккал/моль при среднеквадратическом отклонении $\leq 2\text{\AA}$.

На основе энергии была рассчитана константа связывания комплексообразования, которая равна $2,9 \cdot 10^5$. Наблюдается единичное гидрофобное взаимодействие с Lys 38. Необходимо отметить, что гормон шишковидной железы практически блокирует каталитический домен, о чем свидетельствует полученная карта энергетической оболочки мелатонина и сопряженных аминокислотных остатков, вовлеченных в комплексообразование (рисунок 7Б).

Таким образом, пространственное расположение и обнаруженные типы связей при комплексообразовании мелатонина с ФАД может быть конкурентоспособным относительно нативного лиганда, проявляя возможное ингибирующее действие.

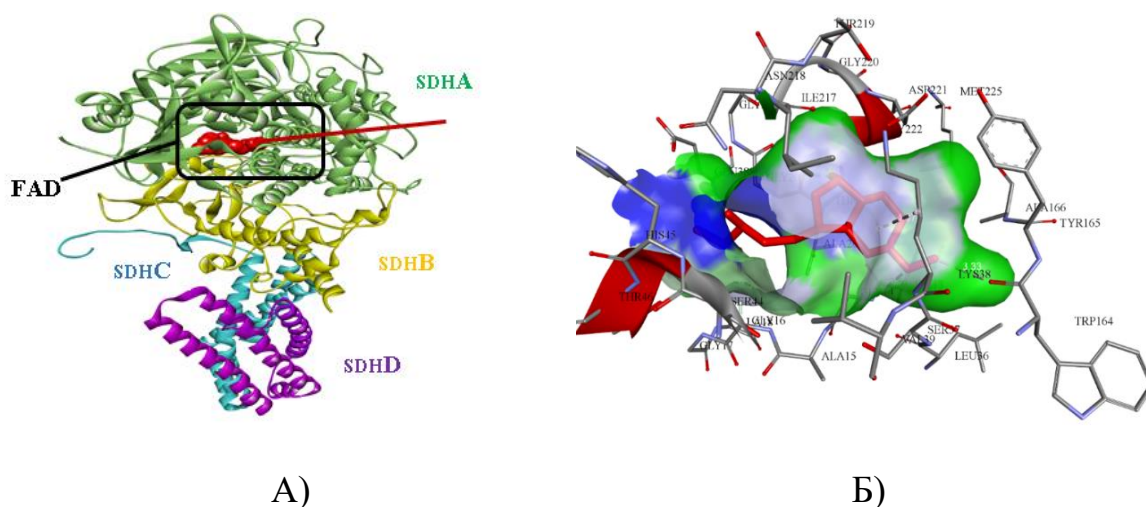


Рисунок 7 – А) Расположение молекулы мелатонина в FAD домене цепи SDHA;
Б) Визуализация энергетической оболочки мелатонина в FAD домене SDHA субъединицы
(мелатонин обозначен красным цветом)

Коррекция мелатонином выявленных метаболических сдвигов при экспериментальном аллоксан – индуцированном сахарном диабете

Мелатонин оказывает гипогликемическое действие, проявляющееся достоверным снижением уровня глюкозы в сыворотке крови в 1,9 раз только у крыс с ВУЧ. Для крыс с низкой чувствительностью к аллоксану значения глюкозы оставались в норме.

При изучении липидного обмена в группе с НУЧ введение мелатонина в дозе 0,1 мг/кг, сопровождалось снижением общего холестерина на 4 %, ЛПНП – 57%, ТГ – 25%, %, НЭЖК – 30%, ЛПВП – 11 % в сравнении с показателями группы аллоксан-индуцированных животных. Отношение ЛПНП/ЛПВП составило 1,12, как у контрольных крыс, в то время как у крыс с аллоксановым диабетом этот коэффициент равен 1,92.

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.

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 раз по сравнению с показателями соответствующего контроля. 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 4).

Таблица 4 – 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		3,72 (3,00/4,40)	2,25 (1,90/2,80)	2,55 (2,00/3,30)
АЛЛ	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)*
АЛЛ +МТ 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)
АЛЛ +МТ 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)

*р < 0,05 - достоверность различий при сравнении показателей экспериментальных групп с контрольными

Активность антиоксидантных ферментов в группах с НУЧ и ВУЧ снижалась на 5,8 и 8,7 % соответственно при введении мелатонина в дозе 0,1мг/кг. Более выраженные сдвиги наблюдались при использовании дозы 1мг/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.

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 5).

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 сукцинат-дегидрогеназы 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 аллоксановым 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.

Таблица 5 – Показатели активности аминотрансфераз в сыворотке крыс с различной чувствительностью к диабетогенному действию аллоксана при использовании разных доз мелатонина

Экспериментальные группы		Изучаемые показатели		
		АСТ Е/л	АЛТ Е/л	КС нг/мг
Контрольные		58,1 (57,8/60,3)	70,0 (67,3/74,6)	50,3 (47,8/54,0)
АЛЛ	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)*
АЛЛ +МТ 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) #
АЛЛ +МТ 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)

* $p < 0,05$ – достоверность различий при сравнении показателей экспериментальных групп с контрольными # $p < 0,05$ – достоверность различий при сравнении показателей с группой с аллоксановым диабетом

Активность фермента восстанавливалась у животных с 0,48 нмоль/мг до нормы (в контроле – 0,6 нмоль/мг белка), у крыс 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 при выборе препаратов, которые обладают не только выраженным сахароснижающим действием, но и влияют на ликвидацию дислипидемии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При анализе проведенных исследований нами получены достоверные сведения о возможном влиянии мелатонина на регуляцию деятельности поджелудочной железы, поддержание энергетического гомеостаза организма в целом, и, как следствие – на генез сахарного диабета. Антидиабетические свойства МТ изучены с помощью аллоксановой модели экспериментального диабета. Противодиабетическое действие гормона шишковидной железы может проявляться как на клеточном уровне (антиоксидантная активность), так и его способностью оказывать влияние на системном уровне. Прогрессирующие ограничения возможностей внутриклеточных структур приводят к нарушениям процессов продуцирования и аккумуляции энергии, необходимой для того, чтобы поддерживать энергетический баланс в системе "организм - среда".

Аллоксановая модель экспериментального диабета позволила изучить антидиабетические свойства мелатонина. Накопленные сведения о применении гормона эпифиза преимущественно получены в результате экспериментов на животных. Для того, чтобы экстраполировать их на больных сахарным диабетом, необходимо проводить масштабные исследования. Проведение таких исследований возможно на основании того, что мелатонин, имея естественное

происхождение и сравнительную безопасность, обладает универсальными адаптогенными свойствами, что неоднократно подтверждено при лечении различных заболеваний. Однако, более эффективное использование мелатонина в качестве лечебного средства возможно только в случае, если будут подобраны адекватные дозы.

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 со-

хранена. 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 РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Изменение различных органов и тканей после резекции центрального отдела поджелудочной железы в эксперименте / **Ф.А. Биджиева**, О.Б Сумкина, Л.Н. Перегудова [и др.] // Альманах современной науки и образования. – 2009. – №5(24). – С. 104-106.

2. **Биджиева, Ф.А.** Сравнительная оценка биохимических показателей крови при экспериментальном сахарном диабете у крыс / **Ф.А. Биджиева** // Физиологические проблемы адаптации. Сборник научных статей Международной конференции, посвященной 85-летию СКФУ, 45-летию кафедры анатомии и физиологии, единению научного сообщества физиологов России и Республики Беларусь.– Минск, 2015. – С. 29-30.

3. **Биджиева, Ф.А.** Морфологические изменения поджелудочной железы крыс при экспериментальном сахарном диабете / **Ф.А. Биджиева** // Материалы конференций форума "50 лет дополнительному профессиональному медицинскому образованию на Северном Кавказе". – Ставрополь, 2015. – С. 90-92.

4. **Биджиева, Ф.А.** Характер структурных изменений в поджелудочной железе при аллоксановом сахарном диабете / **Ф.А. Биджиева** // Современные проблемы клинической медицины. Материалы 12-й научно-практической конференции врачей Карачаево -Черкесской республики с международным участием. – 2016. – С. 34-37.

5. **Биджиева, Ф.А.** Динамика биохимических показателей крови крыс при аллоксановом диабете / **Ф.А. Биджиева** // Современные проблемы клинической медицины. Материалы 12-й научно-практической конференции врачей Карачаево-Черкесской республики с международным участием. – 2016. – С. 37-39.

6. **Биджиева, Ф.А.** Нарушение липидного обмена при аллоксан-индуцированном сахарном диабете / **Ф.А. Биджиева**, К.С. Эльбекьян, Е.В. Маркарова // Физико-химическая биология: материалы IV Международной научной интернет-конференции. – 2016. – С. 158-160.

7. **Биджиева, Ф.А.** Особенности аллоксановой модели экспериментального диабета / **Ф.А. Биджиева**, К.С. Эльбекьян // Физико-химическая биология: материалы V Международной научной интернет-конференции. – 2018. – С. 115-118.

8. **Биджиева, Ф.А.** Морфология аллоксан-индуцированного экспериментального сахарного диабета / **Ф.А. Биджиева** // Вестник научных конференций. – 2018. – № 7(2). – С. 26-28.

***9. Биджиева, Ф.А.** Морфофункциональное состояние поджелудочной железы при аллоксан-индуцированном сахарном диабете / К.С. Эльбекьян, **Ф.А. Биджиева**, О.Б. Сумкина // Медицинский алфавит. – 2018. – Т.2, № 31(368). – С. 32-34.

***10. Биджиева, Ф.А.** Биохимические особенности аллоксан – индуцированного сахарного диабета / **Ф.А. Биджиева** // Медицинский алфавит. – 2018. – Т. 2, №31(638). – С. 12-14.

***11. Особенности протекания аллоксан-индуцированного сахарного диабета у экспериментальных крыс / Ф.А. Биджиева, К.С. Эльбекьян, А.Б. Ходжаян, М.Г. Гевандова // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2019. – Т.14, № 1-2. – С. 264-267.**

12. Влияние разных доз мелатонина на метаболические процессы у аллоксан – индуцированных экспериментальных животных / **Ф.А. Биджиева**, К.С. Эльбекьян, Г.М. Кремнева, В.В. Оверченко // "Здоровье человека в XXI веке" XI Российская научно-практическая конференция с международным участием. Сборник научных статей. Казанский государственный медицинский университет Министерство здравоохранения республики Татарстан. – Казань, 2019. – С. 254-258.

13. **Биджиева, Ф.А.** Нарушение процессов энергообеспечения тканей при сахарном диабете и их коррекция мелатонином / **Ф.А. Биджиева**, К.С. Эльбекьян, Л.С. Унанян // Высшая школа: научные исследования. Межвузовский научный конгресс. – 2020. – Т.1. – С. 87-92.

14. **Bidzhieva, F.A.** Influence of melatonin on the processes of tissue energy supply in diabetes mellitus / **F.A. Bidzhieva**, K.S. Elbekyan, L.S. Hunanyan // International Conference Process Manacement and Scientific Developments. Birmingham, United Kingdom (Novotel Birmingham Centr). – 2020. – P. 120-125.

15. Evaluation of the therapeutic effectiveness of melatonin in experimental diabetes mellitus / **F.A. Bidzhieva**, K.S. Elbekyan, Y.I. Ivolga, M.G. Gevandova // Annali d'Italia. Scientific Journal of itali. Via Carlo Pisacane, 10, Florence, Itali. – 2020. – Vol.2, №10. – P. 8-9.

16. Influence of Melatonin on the Processes of Tissue Energy Supply in Diabetes Mellitus / **F. Bidzhieva**, K. Elbekyan., E. Diskaeva., S. Hunanyan // V International Conference of Biotechnology and Health. Yerevan, Armenia, October 29-31. – 2020. – P. 53-54.

* – работа опубликована в журналах включенных в Перечень рецензируемых научных изданий или входящих в международные реферативные базы данных в

системе цитирования, рекомендуемых 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 ним.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АТФ	– аденозинтрифосфат
АФК	– активные формы кислорода
АСТ	– аспартатаминотрансфераза
АЛТ	– аланинаминотрансфераза
АЛЛ	– аллоксан
АКТГ	– адренокортикотропный гормон
АКС	– антикристаллизирующая 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
MT1	– рецепторы
MT2	– 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