

УДК:616-092.9

## Влияние метформина и саксаглиптина на уровень окислительной модификации белков и липидов на модели экспериментального сахарного диабета

Яшанова М.И., Высоцкая А.Г., Щербатюк Т.Г.

ГБОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия» Минздрава РФ, Нижний Новгород, 603005, пл. Минина и Пожарского, 10/1

Окислительный стресс играет ведущую роль в развитии сахарного диабета (СД) 2 типа. Поэтому поиск препаратов, обладающих одновременно сахароснижающими и антиоксидантными свойствами, остается актуальным. В данном исследовании проведен сравнительный анализ влияния препарата нового поколения из класса ингибиторов дипептидилпептидазы — 4-саксаглиптина и классического препарата — метформина на параметры окислительного стресса у крыс с стрептозотоциновым диабетом в комбинации с предварительной высококалорийной диетой. У животных с СД в крови наблюдалось увеличение по отношению к контролю концентрации малонового диальдегида (МДА) — на 17% ( $p = 0,025$ ), спонтанных кетон-динитрофенилгидразонов (КДНФГ) — на 43% ( $p = 0,04$ ), альдегид-динитрофенилгидразонов (АДНФГ) — на 25% ( $p = 0,045$ ), металл-индуцированных КДНФГ и АДНФГ — соответственно на 18% ( $p = 0,013$ ) и 12% ( $p = 0,022$ ). Активность каталазы увеличивалась на 59% ( $p = 0,025$ ). Как метформин, так и саксаглиптин ограничивали активность свободнорадикального окисления липидов и белков. При этом саксаглиптин в большей степени, чем метформин, уменьшал концентрацию МДА и всех продуктов спонтанной окислительной модификации белков, что свидетельствует о его плейотропном эффекте и указывает на возможность его применения для ограничения окислительного стресса при СД.

**Ключевые слова:** сахарный диабет, стрептозоточин, окислительная модификация белков и липидов, кетон-динитрофенилгидразоны, альдегид-динитрофенилгидразоны, малоновый диальдегид, саксаглиптин, метформин

**Для корреспонденции:** Яшанова Мария Игоревна, [yammi2006@rambler.ru](mailto:yammi2006@rambler.ru)

**Финансирование исследования и конфликт интересов.** Исследование не финансировалось какими-либо источниками, и конфликты интересов, связанные с данным исследованием, отсутствуют.

**Благодарности.** Авторы выражают благодарность д.м.н., профессору Занозиной О.В. за помощь в проведении экспериментальной работы.

Поступила 06.03.2016

## Effect of metformin and saxagliptin on the oxidative modification levels of proteins and lipids in the experimental diabetes model

Yashanova M.I., Vysotskaya A.G., Shcherbatyuk T.G.

Nizhny Novgorod State Medical Academy, 10/1 Minin and Pozharsky Square, Nizhny Novgorod, 603005, Russian Federation, [yammi2006@rambler.ru](mailto:yammi2006@rambler.ru)

Oxidative stress is the leading cause of complications of type 2 diabetes. Therefore, it is crucial to select medicines that have both antidiabetic and antioxidant properties. In this study was conducted a comparative analysis of two antidiabetic medicines and their impact on oxidative stress parameters. The compared medicines are saxagliptin, the new generation medicine from the class of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors, and metformin, the standard medicine. Rats with experimental streptozotocin diabetes (they had high-fat diet in advance) were used for the research. In the blood of animals with experimental diabetes, we registered an increase in the concentration of malondialdehyde by 17% ( $p = 0.026$ ), spontaneous keton-dinitrophenylhydrazones (KDNPH) by 43% ( $p = 0.045$ ), aldehyde-dinitrophenylhydrazones (ADNPH) by 25% ( $p = 0.045$ ), metal-induced KDNPH by 18% ( $p = 0.014$ ), and ADNPH by 12% ( $p = 0,022$ ), and increase in catalase activity by 59% ( $p = 0.025$ ) as compared with the intact animals. It was established that either saxagliptin or metformin therapy led to the reduction of free radical oxidation of lipids and proteins. Moreover, saxagliptin reduces the concentration of malondialdehyde and the concentration of all products of spontaneous oxidative protein modification more significantly, as compared to metformin. That emphasizes pleiotropic effects of saxagliptin and demonstrates its ability to limit oxidative stress in diabetes.

**Key words:** streptozotocin diabetes, oxidative modification of proteins and lipids, keton-dinitrophenylhydrazones, aldehyde-dinitrophenylhydrazones, malondialdehyde, saxagliptin, metformin

Received 06.03.2016

## Введение

По данным Всемирной Диабетической Федерации на 2015 год, общее число больных сахарным диабетом (СД) в мире достигло рекордных 415 млн чел. При этом более 90% всех случаев приходится на СД 2 типа (СД 2). Несмотря на широкий спектр антидиабетических препаратов, у большинства пациентов не удается предотвратить развитие осложнений, приводящих к инвалидизации и гибели больного. Только за 2015 год от осложнений СД в мире погибло порядка 5 млн чел. [1]. Ведущую роль в развитии сосудистых осложнений СД 2 отводят окислительному стрессу, который возникает вследствие нарушения процесса гликолиза и утилизации глюкозы по шести альтернативным путям, каждый из которых приводит к усиленной выработке свободных радикалов или угнетению активности системы антиоксидантной защиты [2–5]. Отсутствие должной коррекции окислительного стресса не позволяет снизить смертность больных СД 2 от сосудистых осложнений. Поэтому поиск препаратов, обладающих одновременно антигипергликемическими и антиоксидантными свойствами остается актуальной проблемой.

Новое направление в терапии СД 2 — создание препаратов, препятствующих ингибированию инкретинов — ГПП-1 (глюкагоноподобный полипептид-1) и ГИП (глюкозозависимый инсулиногенный полипептид), эффективность которых снижается при СД 2 [6]. ГПП-1 играет основную роль, так как он обладает инсулиногенным эффектом, регулирует синтез инсулина и экспрессию гена проинсулина, а также ингибирует секрецию глюкагона. Действие ГПП-1 направлено на регуляцию размера островков и индукцию регенерации  $\beta$ -клеток. При этом увеличение массы  $\beta$ -клеток поджелудочной железы происходит посредством регулирования экспрессии генов и транскрипционных факторов [7]. Однако период полужизни инкретинов составляет всего несколько минут, что связано с инактивацией их ферментом дипептидилпептидазой-4 (ДПП-4). Это обстоятельство затрудняет их использование в клинической практике. Поэтому новым подходом к этой проблеме является создание препаратов, ингибирующих ДПП-4 и тем самым препятствовать разрушению естественных инкретинов организма [8].

Саксаглиптин является одним из препаратов класса ингибиторов ДПП-4. Помимо антигипергликемической функции ингибиторы ДПП-4 улучшают липидный состав крови, нормализуют артериальное давление, оказывают кардиопротекторный эффект, плейотропное действие и не вызывают увеличения массы тела [9]. Показано, на крысах с ожирением, что саксаглиптин стимулирует высвобождение эндотелиальной NO-синтазы, уменьшает уровень пероксинитритов и, улучшая вазодилатацию, снижает риск возникновения осложнений [10]. Однако вопрос о влиянии данного препарата на параметры окислительного стресса остается открытым.

Клинические исследования не позволяют получить всю информацию о сложных механизмах развития патологических процессов. Кроме того, данные клинических наблюдений по изменению активности антиоксидантной системы у больных СД 2 весьма неоднозначны, что может быть обусловлено неоднородными условиями исследований: разная продолжительность заболеваний, отличия в терапевтическом воздействии (разные препараты, их

комбинация, дозировка, длительность терапии), наличием разнообразных осложнений в анамнезе [11]. Стоит учитывать, что возраст больных и их образ жизни также влияет на параметры окислительного стресса. Моделирование экспериментального СД позволяет более широко изучить патогенез данного заболевания, а также оценить возможность ограничения окислительного стресса различными препаратами при максимально однородных условиях эксперимента.

*Цель исследования* — оценить действие препарата нового поколения из класса ингибиторов ДПП-4 — саксаглиптин (Онглиз) на параметры окислительного стресса у крыс с СД, по сравнению с эффектами метформина (Глюкофаж, из класса Бигуанидов), применяемого при стандартной терапии СД.

## Методика

Эксперимент был проведен на 40 белых нелинейных крысах-самцах, возраст которых — 80–87 дней. До введения в эксперимент у животных определяли концентрацию глюкозы крови натощак, ее значения не превышали 6 ммоль/л.

Модель экспериментального СД воспроизводили по методике Islam S. и Choi H. [12] следующим образом: животных содержали на высококалорийной диете (20% сала от общего рациона) в течение 3 недель, через 2 недели после начала диеты им внутривентриально вводили стрептозотозин (Sigma, США) в дозировке 40 мг/кг.

Сахарный диабет устанавливали через 6 дней после введения стрептозотозина, во-первых, по уровню глюкозы крови, взятой из хвостовой вены животных, натощак; во-вторых, по наличию полиурии и полидипсии [13]. В эксперимент включали животных с уровнем глюкозы >15 ммоль/л. Концентрацию глюкозы в крови определяли с помощью глюкометра Optium Xceed и тест-полосок FreeStyle Optium.

После внутривентриального введения стрептозотозина и развития СД, все животные были разделены на 3 группы: в 1-ю группу включали крыс с СД (обозначенные как контроль), им вводили в течение 14 дней внутривентриально (в/ж) воду, 2-й и 3-й группам вводили в течение 14 дней в/ж соответственно метформин (200 мг/кг) и саксаглиптин ( мг/кг); в 4-ю группу включены интактные крысы также с в/ж введением воды. После завершения введения препаратов животных подвергали декапитации под эфирным наркозом. Для получения плазмы гепаринизированную кровь центрифугировали в течение 10 мин при 3000 об./мин. Осажденные эритроциты отмывали изотоническим (0,9%) раствором натрия хлорида в соотношении 1:3. В гемолизате эритроцитов, полученных разведением отмытой эритроцитарной взвеси трис-буфером (рН = 7,8) в соотношении 1:19, определяли активность антиоксидантных ферментов.

Уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали по содержанию в плазме крови молекулярного продукта — малонового диальдегида (МДА) [14]. Степень окислительной модификации белков (ОМБ) оценивали по уровню карбонильных производных в плазме крови: кетон-динитрофенилгидразонов (КДНФГ) и альдегид-динитрофенилгидразонов (АДНФГ) при спонтанном и металл-индуцированном окислении [14]. Кроме того в работе использовали методы определения активности

антиоксидантных ферментов — супероксидсмутазы (СОД) [15] и каталазы [16].

Работа была проведена в полном соответствии с этическими принципами, установленными Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (принятой в Страсбурге 18.03.1986 г. и подтвержденной в Страсбурге 15.06.2006 г.) и одобрена Этическим комитетом Ниж. ГМА.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием программы Statistica 8.0, с применением методов непараметрической статистики.

### Результаты и обсуждение

Через 6 дней после введения стрептозотоцина, у крыс наблюдалась стойкая гипергликемия (увеличение уровня глюкозы крови натощак в 4 раза), что свидетельствовало о развитии СД. У животных с СД (контрольная группа) в крови было зарегистрировано повышение concentra-

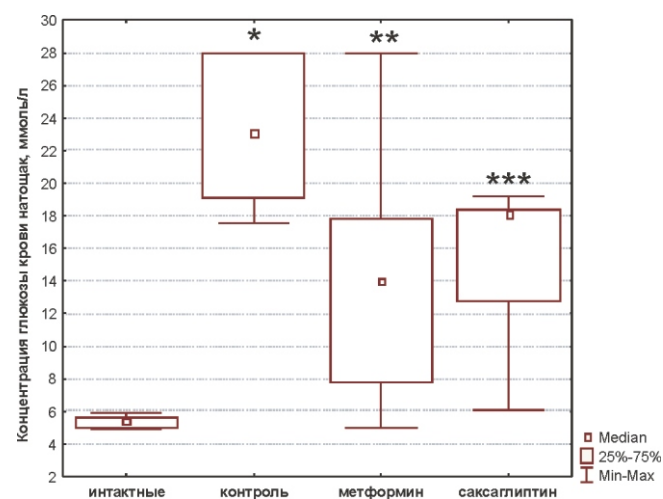


Рис. 1. Влияние метформина и саксаглиптина на содержание глюкозы в крови у крыс с СД. По оси ординат — концентрация глюкозы в ммоль/л; \*  $p = 0,0007$  по сравнению с интактной группой; \*\*  $p = 0,008$ ; \*\*\*  $p = 0,037$  по сравнению с контролем.

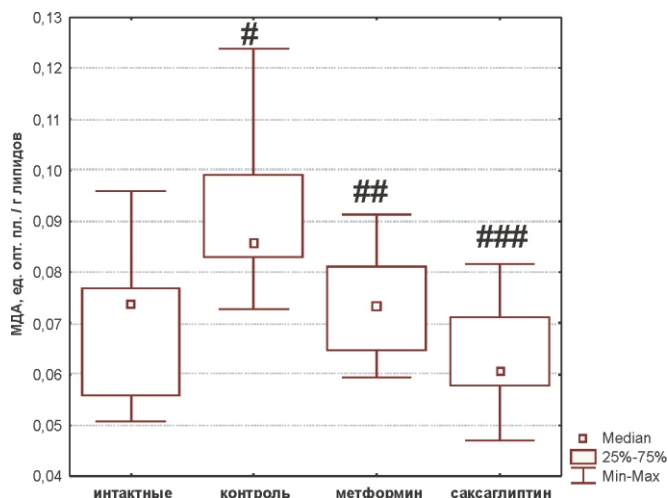


Рис. 2. Влияние метформина и саксаглиптина на содержание МДА в крови у крыс с СД. По оси ординат — концентрация МДА в ед. опт. пл./г липидов; #  $p = 0,026$  по сравнению с интактной группой; ##  $p = 0,002$ ; ###  $p = 0,0001$  по сравнению с контролем.

ции МДА — на 17% ( $p = 0,025$ ) по сравнению с показателями у интактных крыс.

Более выраженным у крыс с СД являлось повышение в крови концентрации продуктов окислительной деструкции белков: спонтанных КДНФГ и АДНФГ, соответственно на 43% ( $p = 0,04$ ) и 25% ( $p = 0,045$ ), а металл-индуцированных (реактивом Фентона) КДНФГ и АДНФГ соответственно — на 18% ( $p = 0,014$ ) и 12% ( $p = 0,022$ ) по сравнению с интактными животными. В результате ОМБ образуются альдегидные и кетонные группировки аминокислотных остатков, которые вступают в реакцию с 2,4-динитрофенилгидразином с образованием 2,4-динитрофенилгидразонов (2,4-ДНФГ). Данные карбонильные производные (КДНФГ и АДНФГ), регистрируемые при длине волны 363 нм и 274 нм, считают маркерами окислительной фрагментации и агрегации белков, которые свидетельствуют о степени деструкции белковых молекул и характеризуют снижение резервно-адаптационных возможностей организма [17]. При этом увеличение концентрации металл-индуцированных карбонильных производных белков может быть результатом снижения активности клеточных протеазных систем. Торможению протеолиза может способствовать последовательная аккумуляция агрегатов белков, устойчивых к действию протеаз [18].

Развитие диабета у животных приводило не только к интенсификации свободнорадикального окисления биомолекул, но и к нарушению активности антиоксидантной системы. Так, у крыс с СД активность каталазы была повышена на 59% ( $p = 0,025$ ), при этом изменение активности СОД было недостоверным. Полученные данные по изменению активности антиоксидантной системы при СД согласуются с работами других авторов. Так, в работах Kakkar R., Kalra J. с соавт. показано увеличение активности каталазы в крови животных с диабетом примерно в 2 раза, при этом активность СОД практически не изменялась по сравнению со значениями у интактных животных [19]. Дзугкоева Ф.С. с соавторами также отмечают повышение активности каталазы в крови животных с СД на фоне снижения активности СОД [20]. Косенко Е.А. с соавторами также обнаружили увеличение активности каталазы в эритроцитах у крыс с СД [21]. При СД 2 типа инсулин первое время вырабатывается  $\beta$ -клетками в больших количествах. При этом есть данные о влиянии инсулина на активность каталазы. Так, в экспериментах *in vitro* установлено, что инкубация эритроцитов с инсулином (80 мкЕД/мл, в течение 2 часов, при 37°C приводит к увеличению активности каталазы в 1,5 раза [22]. Предполагают, что повышение активности каталазы может быть связано с увеличением концентрации своего субстрата —  $H_2O_2$  вследствие активации инсулин-чувствительной НАДН-дегидрогеназы, которая является одним из трансдукторов гормонального сигнала в эритроците. При этом пероксид водорода в высокой концентрации может подавлять активность СОД [19, 23].

Введение метформина и саксаглиптина не привело к нормогликемии, но оба препарата уменьшали уровень глюкозы, по сравнению с контролем (рис. 1).

На фоне введения как метформина, так и саксаглиптина в крови у животных было зарегистрировано уменьшение содержания МДА по сравнению с контролем. Причем саксаглиптин в большей степени, чем метформин уменьшал уровень МДА (рис. 2).

Двухнедельное введение метформина животным с СД привело к достоверному снижению только концентрации АДНФГ при спонтанном окислении (рис. 3), а также наблюдалась тенденция к уменьшению концентрации КДНФГ спонтанных и металл-индуцированных продуктов ОМБ в крови животных, что может указывать на необходимость более длительного воздействия данного препарата для статистически значимого изменения этих параметров.

При этом достоверное уменьшение содержания АДНФГ (наиболее ранних маркеров окислительного повреждения белков) можно связать с уменьшением уровня гипергликемии, которое обусловлено повышением чувствительности инсулиновых рецепторов к инсулину и торможением печеночного глюконеогенеза. На рис. 4 представлена схема взаимосвязи между окислительным стрессом и образованием продуктов ОМБ при СД. В результате утилизации глюкозы по альтернативным путям происходит активация NADPH-оксидазы, приводящая к усиленной выработке супероксид анион радикалов, которые вместе с гидроксильными радикалами вызывают фрагментацию белковой молекулы, ранним маркером которой и является

АДНФГ. Таким образом, уменьшение уровня гипергликемии, вызванное введением метформина, ограничивает ОМБ, обусловленное по всей вероятности, уменьшением интенсивности ПОЛ, маркером которого является уровень МДА. Кроме того, антиоксидантное действие метформина может быть связано с подавлением индукции каспазы-3 и ядерного фактора транскрипции NF-κB, что обуславливает его антиатерогенное действие, а также с активацией эндотелиальной NO-синтазы (через АМФ-зависимую протеинкиназу и белок теплового шока 90) и последующим увеличением концентрации NO [24–26].

После 14-дневного введения саксаглиптина в крови животных с СД было зарегистрировано уменьшение концентрации продуктов спонтанного окисления белков (КДНФГ и АДНФГ) (рис. 3), что может быть обусловлено уменьшением агрегации и фрагментации белковых молекул. При этом была выявлена только тенденция к снижению уровня продуктов металл-индуцированной модификации белков у крыс с СД, которую можно объяснить нормализацией протеазной активности после введения препарата. Возможность ограничения окислительного

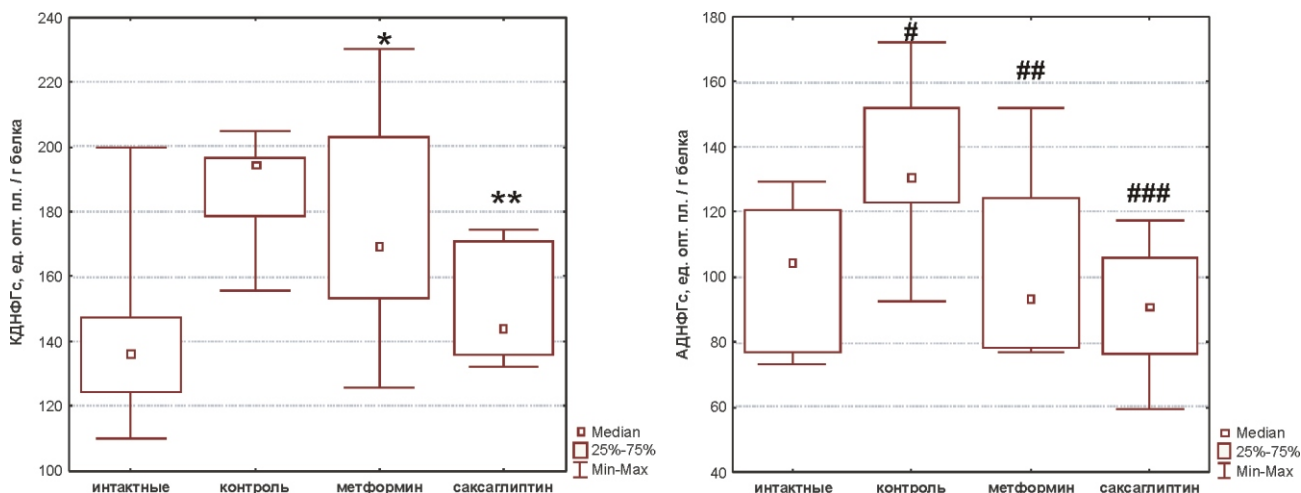


Рис. 3. Влияние метформина и саксаглиптина на содержание продуктов спонтанной окислительной модификации белков (КДНФГс и АДНФГс) в крови у крыс с СД. По оси ординат – концентрации КДНФГс и АДНФГс в ед.опт.пл./г белка; \*  $p = 0,0007$  по сравнению с интактной группой; \*\*  $p = 0,008$ ; \*\*\*  $p = 0,037$  по сравнению с контролем.

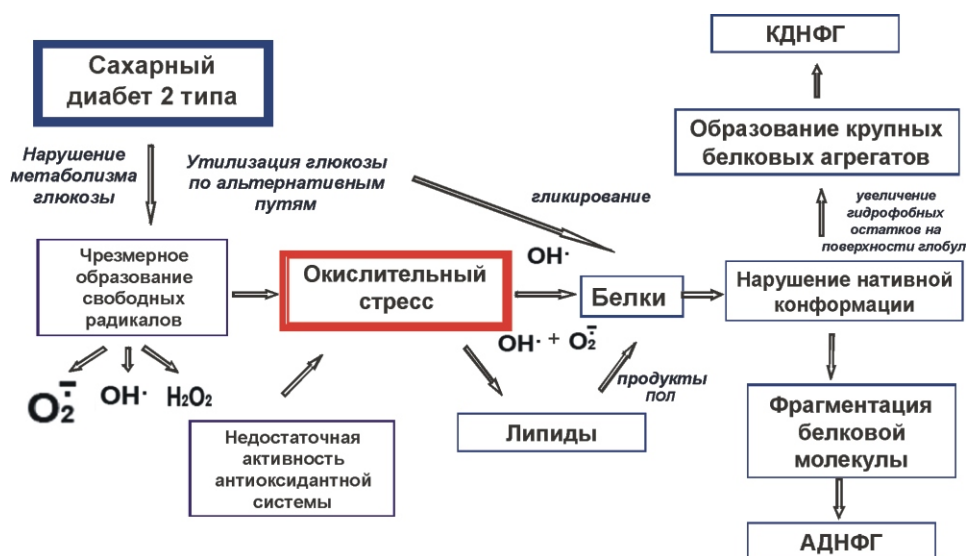


Рис. 4. Взаимосвязь развития окислительного стресса при сахарном диабете с образованием карбонильных продуктов окислительной модификации белков. Пояснения в тексте.

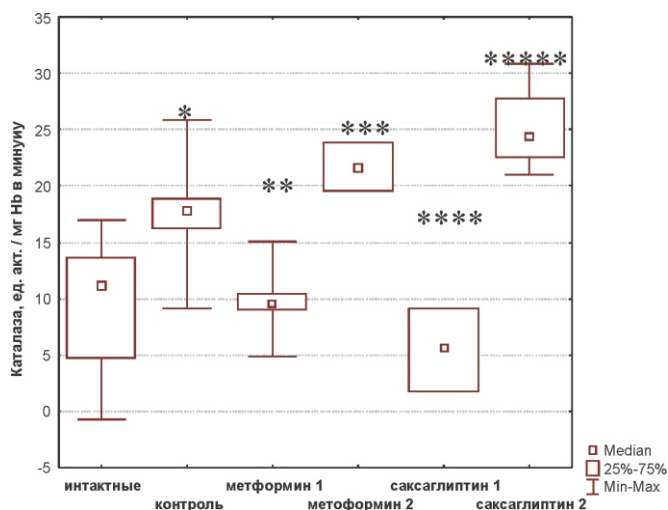


Рис. 5. Влияние метформина и саксаглиптина на активность каталазы у крыс с СД. В группы «метформин 1» и «саксаглиптин 1» выделены животные, у которых препараты вызвали уменьшение активности каталазы, а в группах «метформин 2» и «саксаглиптин 2» — повышение. По оси ординат — активность каталазы в ед. акт./мг Нб в минути; \*  $p = 0,025$  по сравнению с интактной группой; \*\*  $p = 0,02$ ; \*\*\*  $p = 0,049$ ; \*\*\*\*  $p = 0,007$ ; \*\*\*\*\*  $p = 0,046$  по сравнению с контролем.

стресса саксаглиптином может быть обусловлена его ингибирующим действием на супероксидный анион-радикал, что согласуется с работой Mason R.P. с соавторами [10] и с последними исследованиями Solini A., Rossi C. [27]. Ингибирование прооксидантного пути саксаглиптином обусловлено уменьшением степени гипергликемии, по-видимому, за счет повышения инкретиновой активности, приводящей к увеличению массы  $\beta$ -клеток, усилению синтеза инсулина и торможения секреции глюкагона. Кроме того, тормозится гликирование белков, в результате которого также формируются карбонильные производные, в том числе и кетоамин, являющийся одним из продуктов неферментативного гликирования по остатку лизина или аргинина. А в недавнем исследовании Лотош Н.Ю. с соавт. была показана прямая зависимость гликирования белков с окислительным стрессом на примере альбумина (альбумин гликируется в большей степени, если SH-группы частично окислены) [28].

Изменение активности каталазы крови было неоднородным у всех животных после лечения (рис. 5): у части животных в группе метформина («метформин 1») активность данного фермента снижалась на 62,5% и на 43% в группе саксаглиптина («саксаглиптин 1»), у остальных животных после введения препаратов активность каталазы была повышена относительно контрольной группы (группы «метформин 2» и «саксаглиптин 2»).

Сходные эффекты метформина и саксаглиптина на параметры окислительного стресса можно объяснить однонаправленным гипогликемическим действием препаратов. А именно, как уже отмечалось, гипергликемия и альтернативная утилизация глюкозы являются главной причиной развития окислительного стресса при СД. Кроме того, основной механизм действия ДПП-4 — это повышение уровня инкретиновых гормонов ГПП-1 и ГИП, что приводит к усилению синтеза инсулина  $\beta$ -клетками поджелудочной железы. Как свидетельствуют некоторые исследования, метформин также может повышать уровень ГПП-1 в крови, приводя к увеличению concentra-

ции инсулина. Установлено, что инсулин, помимо регуляции уровня глюкозы в крови, участвует в регуляции ряда других биологических процессов, в том числе активирует синтез основного вазодилатора — оксида азота, а также обладает антиоксидантным действием, проявляющимся в инактивации активных форм кислорода [26]. Вполне вероятно, что антидиабетическое действие саксаглиптина также обусловлено стимуляцией синтеза инсулина.

## Заключение

Стандартный антидиабетический препарат метформин и препарат нового поколения из класса ингибиторов дипептидилпептидазы-4, саксаглиптин, вызывали нормализацию свободнорадикальных процессов и уменьшение уровня молекулярных продуктов окисления липидов и белков у животных с экспериментальным стрептозотоциновым диабетом (предварительно содержащихся на высококалорийной диете). При этом саксаглиптин был более эффективен в отношении указанных процессов, чем метформин.

Полученные данные свидетельствуют о плеiotропном действии саксаглиптина и о возможности его применения для ограничения окислительного стресса при СД.

## Список литературы

1. IDF DIABETES Atlas, 7<sup>th</sup>ed. 2015. <http://www.diabetesatlas.org/resources/2015-atlas.html>
2. Балаболкин М.И., Клебанова Е.М., Кремницкая В.М. Применение убихинона (коэнзима Q) в комплексной терапии сахарного диабета и его сосудистых осложнений. *Сахарный диабет*. 2007; 4: 37-42.
3. Ланкин В.З., Тихазе А.К., Кумскова Е.М. Особенности модификации липопротеинов низкой плотности в развитии атеросклероза и сахарного диабета типа 2. *Кардиологический вестник*. 2008; 3 (1): 60-7.
4. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*. 2001; 414: 813-20.
5. Ceriello A, Motz E. Is oxidative stress the pathogenic mechanism underlying insulin resistance, diabetes, and cardiovascular disease? The common soil hypothesis revisited. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2004; 24: 816-23.
6. Мкртумян А.М. Саксаглиптин открывает новые возможности эффективного и безопасного контроля гликемии у больных сахарным диабетом типа 2. *Фарматека*. 2010; 16: 32-6
7. Egan J.M., Bulotta A., Hui H., Perfetti R. GLP-1 receptor agonists are growth and differentiation factors for pancreatic islet beta cells. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*. 2003; 19: 115-23.
8. Gautier J.F, Felita S., Sobngwi E. Biological actions of the incretins GIP and GLP-1 and therapeutic perspectives in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Metabolism*. 2005; 31: 233-42.
9. Аметов А.С., Камынина Л.Л. Негликемические эффекты ингибиторов дипептидилпептидазы-4. *Терапевтический архив*. 2013; 1: 98-102.
10. Mason, R.P., Jacob, R.F., Kubant B, Walter M.F., Bellamine A., Jacoby A., Mizuno Y., Malinski T. Effect of enhanced glycemic control with saxagliptin on endothelial nitric oxide release and CD40 levels in obese rats. *Journal Atherosclerosis and Thrombosis*. 2011; 18(9): 774-83.
11. Меньшикова Е.Б., Зенков Н.К., Ланкин В.З. и др. *Окислительный стресс: патологические состояния и заболевания*. Новосибирск: АРТА. 2008; 284 с.
12. Islam M.S, Choi H. Nongenetic model of type 2 diabetes: a comparative study. *Pharmacology*. 2007; 79 (4): 243-9.
13. Миронов А.Н. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая*. М.: Гриф и К. 2012; 944 с.
14. Арутюнян А.В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н. *Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма*. СПб.: Фолиант. 2000; 104 с.
15. Nishicimi M., Roo A., Xagi K. The occurrence of superoxide anion in reactions of reduced phenaxinemetasulfate and molecular oxygen. *Bi-chemical and Biophysical Research Communications*. 1972; 146(2): 849-54.

16. Aebi H. Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*. 1984; 105: 121-6.
17. Губский Ю.И., Беленичев И.Ф., Павлов С.В. и др. Токсикологические последствия окислительной модификации белков при различных патологических состояниях (обзор литературы). *Современные проблемы токсикологии*. 2005; 3: 20-6.
18. Дубинина Е.Е. *Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток: (жизнь и смерть, созидание и разрушение)*. СПб: Медицинская пресса. 2006; 397 с.
19. Kakkar R., Kalra J., Mantha S.V., Prasad K. Lipid peroxidation and activity of antioxidant enzymes in diabetic rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 1995; 151: 113-9.
20. Дзугкоева Ф.С., Дзугкоев С.Г., Можаяева И.В. Влияние коэнзима Q-композиума на показатели оксидативного стресса при экспериментальном сахарном диабете. *Фундаментальные исследования*. 2009; 9: 39-40.
21. Косенко Е.А., Каминский А.Ю., Каминский Ю.Г. Активность антиокислительных ферментов в печени и мозге снижается в ранние сроки диабета, и это снижение зависит от функционирования nmda-рецепторов. *Вопросы медицинской химии*. 1999; 45(4): 304-8.
22. Савченко А.А., Титова Н.М., Субботина Т.Н., Гершковрон Ф.А., Манчук В.Т., Альбрант Е.В. *Роль свободнорадикальных и метаболических процессов в патогенезе сахарного диабета 1 типа*. Красноярск: Сибирский федеральный университет. 2012; 269 с.
23. Salo D.C., Pacifici R.E., Lin S.W., Giulivi C., Davies K.J.A. Superoxide dismutase undergoes proteolysis and fragmentation following oxidative modification and inactivation. *Journal of Biological Chemistry*. 1990; 265(20): 11919-27.
24. Davis B.J., Xie Z., Viollet B., Zou M.H. Activation of the AMP-activated kinase by antidiabetes drug metformin stimulates nitric oxide synthesis in vivo by promoting the association of heat shock protein 90 and endothelial nitric oxide synthase. *Diabetes*. 2006; 55: 496-505.
25. Мкртумян А.М., Бирюкова Е.В., Маркина Н.В., Гарбузова М.А. Уникальные эффекты метформина в лечении метаболического синдрома. *Русский медицинский журнал*. 2009; 17(10): 692-7.
26. Нелаева А.А., Геннадик А.Г., Хасанова Ю.В. Особенности действия и терапевтическая эффективность новой пролонгированной формы метформина. *Эффективная фармакотерапия*. 2011; 1: 54-9.
27. Solini A., Rossi C., Duranti E., Taddei S., Natali A., Virdis A. Saxagliptin prevents vascular remodeling and oxidative stress in db/db mice. Role of endothelial nitric oxide synthase uncoupling and cyclooxygenase. *Vascular Pharmacology*. 2016; 76: 62-71.
28. Лотош Н.Ю., Савельев С.В., Селищева А.А. Гликирование альбумина in vitro при нормальной и повышенной концентрации глюкозы. *Патогенез*. 2015; 13(2): 42-6.
7. Egan J.M., Bulotta A., Hui H., Perfetti R. GLP-1 receptor agonists are growth and differentiation factors for pancreatic islet beta cells. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*. 2003; 19: 115-23.
8. Gautier J.F., Felita S., Sobngwi E. Biological actions of the incretins GIP and GLP-1 and therapeutic perspectives in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Metabolism*. 2005; 31: 233-42.
9. Ametov A.S., Kamynina L.L. Nonglycemic effects of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors. *Terapevticheskij arhiv*. 2013; 1: 98-102. (in Russian)
10. Mason R.P., Jacob R.F., Kubant P., Walter M.F., Bellamine A., Jacoby A., Mizuno Y., Malinski T. Effect of enhanced glycemic control with saxagliptin on endothelial nitric oxide release and CD40 levels in obese rats. *Journal Atherosclerosis and Thrombosis*. 2011; 18(9): 774-83.
11. Men'shchikova E.B., Zenkov N.K., Lankin V.Z. et al. *Oxidative stress: pathological conditions and diseases*. Novosibirsk: ARTA. 2008; 284 p. (in Russian)
12. Islam M.S., Choi H. Nongenetic model of type 2 diabetes: a comparative study. *Pharmacology*. 2007; 79(4): 243-9.
13. Mironov A.N. *Guidelines for conducting pre-clinical trials of medicinal products. Part one*. Moscow: Grif K. 2012; 944 p. (in Russian)
14. Arutyunyan A.V., Dubinina E.E., Zubina N.N. *Methods of evaluating of free-radical oxidation and antioxidant system of organism*. SPb.: Foliant. 2000; 104 p. (in Russian)
15. Nishicimi M., Roo A., Xagi K. The occurrence of superoxide anion in reactions of reduced phenaxinemetasulfate and molecular oxygen. *Biophysical and Biophysical Research Communications*. 1972; 146(92): 849-54.
16. Aebi H. Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*. 1984; 105: 121-6.
17. Gubsky J.I., Belenichev I.F., Pavlov S.V. et al. The toxicological effects of oxidative modification of proteins in various pathological conditions (review). *Sovremennye problemy toksikologii*. 2005; 3: 20-6. (in Russian)
18. Dubinina E.E. *Products of oxygen metabolism in the functional activity of cells (life and death, creation and destruction)*. SPb: Medicinskaja pressa. 2006; 397 p. (in Russian)
19. Kakkar R., Kalra J., Mantha S. V., Prasad K. Lipid peroxidation and activity of antioxidant enzymes in diabetic rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 1995; 151: 113-9.
20. Dzugkoeva F.S., Dzugkoev S.G., Mozhaeva I.V. Effect of coenzyme Q-kompozitum on indicators of oxidative stress in experimental diabetes. *Fundamental'nye issledovaniya*. 2009; 9: 39-40. (in Russian)
21. Kosenko E.A., Kaminsky A.Y., Kaminsky Y.G. Antioxidant enzyme activities in liver and brain decrease in early diabetes stages and this decrease is related with the nmda receptor function. *Voprosy medicinskoj himii*. 1999; 45(4): 304-8. (in Russian)
22. Sавченко А.А., Титова Н.М., Субботина Т.Н., Гершковрон Ф.А., Манчук В.Т. *The role of free radical metabolic processes and the pathogenesis of type 1 diabetes*. Krasnoyarsk: Sibirskij federal'nyj universitet. 2012; 269 p. (in Russian)
23. Salo D.C., Pacifici R.E., Lin S.W., Giulivi C., Davies K.J.A. Superoxide dismutase undergoes proteolysis and fragmentation following oxidative modification and inactivation. *Journal of Biological Chemistry*. 1990; 265(20): 11919-27.
24. Davis B.J., Xie Z., Viollet B., Zou M.H. Activation of the AMP-activated kinase by antidiabetes drug metformin stimulates nitric oxide synthesis in vivo by promoting the association of heat shock protein 90 and endothelial nitric oxide synthase. *Diabetes*. 2006; 55: 496-505.
25. Mkrtumyan A.M., Biryukova E.V., Markina N.V., Garbuzova M.A. Unique effects of metformin in the treatment of metabolic syndrome. *Russkij meditsinskij zhurnal*. 2009; 17(10): 692-7. (in Russian)
26. Nelaeva A.A., Gennadinik A.G., Khasanova Y.V. Features of action and therapeutic efficacy of a new extended-release formulation of metformin. *Effektivnaja farmakoterapija*. 2011; 1: 54-9. (in Russian)
27. Solini A., Rossi C., Duranti E., Taddei S., Natali A., Virdis A. Saxagliptin prevents vascular remodeling and oxidative stress in db/db mice. Role of endothelial nitric oxide synthase uncoupling and cyclooxygenase. *Vascular Pharmacology*. 2016; 76: 62-71.
28. Lotosh N.Y., Savelyev S.V., Selishcheva A.A. Glycation of albumin in vitro at normal and elevated blood glucose. *Pathogenesis*. 2015; 13(2): 42-6. (in Russian)

## References

- IDF DIABETES Atlas, 7<sup>th</sup>ed. 2015. <http://www.diabetesatlas.org/resources/2015-atlas.html>
- Balabolkin M. I., E. M. Klebanova, Kremnickaya V.M. The use of ubiquinone (coenzyme Q) in the treatment of diabetes and its vascular complications. *Sakharnyj diabet*. 2007; 4: 37-42. (in Russian)
- Lankin V.Z., Tikhaze A.K., Kumskova Y.M. Modification of low-density lipoproteins in the development of atherosclerosis and type 2 diabetes mellitus. *Kardiologicheskij Vestnik*. 2008; 3(1): 60-7. (in Russian)
- Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*. 2001; 414: 813-20.
- Ceriello A, Motz E. Is oxidative stress the pathogenic mechanism underlying insulin resistance, diabetes, and cardiovascular disease? The common soil hypothesis revisited // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2004; 24: 816-23.
- Mkrtumyan A.M. Saxagliptin opens new opportunities for effective and safe glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus. *Farmateka*. 2010; 1: 32-36. (in Russian)

## Сведения об авторах:

Яшанова М.И. — зав. группой биомаркеров гетерогенных патологий лаборатории молекулярной биологии, ГБОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия» Минздрава РФ, Нижний Новгород  
 Высоцкая А.Г. — аспирант кафедры биологии  
 Щербатюк Т.Г. — д.б.н., профессор, зав. кафедрой биологии. профессор, зав. кафедрой биологии