

## **ВАЛИДНОСТЬ МОДЕЛЕЙ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ДИАБЕТА ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА<sup>1</sup>**

*М.И. Яшанова\**, *Т.Г. Щербатюк\**, *В.Ю. Николаев\*\**

\*Приволжский исследовательский медицинский университет  
(г. Нижний Новгород)

\*\*Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия  
(г. Нижний Новгород)

Окислительный стресс играет важную роль в патогенезе сахарного диабета и развитии его осложнений. Изучение сахарного диабета как свободнорадикальной патологии началось сравнительно недавно, поэтому единых методических подходов для оценки окислительного стресса в патогенезе сахарного диабета и анализа эффективности антиоксидантной терапии еще не выработано. В связи с этим актуален поиск моделей для оценки антиоксидантного действия новых препаратов. В настоящем исследовании проведен сравнительный анализ активности свободнорадикальных процессов у 49 белых аутбредных крыс-самцов при моделировании сахарного диабета путем внутрибрюшинного введения аллоксана (120 мг/кг) и стрептозотоцина (40 мг/кг) с предварительной высококалорийной диетой (СТЗ-20 СД). Установлено, что у животных с СТЗ-20 СД более интенсивно образуются продукты окислительной деструкции липидов и белков, чем у животных с моделируемым аллоксановым диабетом. Также животные с экспериментальным СТЗ-20 СД более длительное время сохраняют свою жизнеспособность, что позволяет использовать данную модель для оценки продолжительного воздействия различных препаратов. Для оценки валидности модели СТЗ-20 СД в изучении окислительного стресса группе животных с СТЗ-20 СД (10 белых аутбредных крыс-самцов) ежедневно внутривенно вводили саксаглиптин («Онглиз») в дозировке 3 мг/кг. Установлено, что после 14 дней воздействия препарат в организме подопытных животных снижал общую свободнорадикальную активность, концентрации малонового диальдегида, всех продуктов окислительной модификации белков при спонтанном окислении, что подтверждает пригодность модели СТЗ-20 СД в оценке антиоксидантного действия антидиабетических препаратов.

**Ключевые слова:** *экспериментальный диабет, аллоксан, стрептозотцин, окислительная модификация белков и липидов, кетон-динитрофенилгидразоны, альдегид-динитрофенилгидразоны, малоновый диальдегид, саксаглиптин.*

---

<sup>1</sup> Авторы выражают благодарность доктору медицинских наук, профессору Занозиной О.В. за помощь в проведении экспериментальной работы.

**Ответственный за переписку:** Яшанова Мария Игоревна, адрес: 603005, г. Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, д. 10/1; e-mail: yammi2006@rambler.ru

**Для цитирования:** Яшанова М.И., Щербатюк Т.Г., Николаев В.Ю. Валидность моделей экспериментального диабета для изучения окислительного стресса // Журн. мед.-биол. исследований. 2019. Т. 7, № 1. С. 66–78. DOI: 10.17238/issn2542-1298.2019.7.1.66

Актуальность проблемы исследования сахарного диабета (СД) обусловлена высокими темпами роста заболеваемости и смертности от его осложнений [1]. Лидирующую роль в развитии осложнений СД отводят окислительному стрессу, возникающему в результате нарушения метаболизма глюкозы, гиперпродукции свободных радикалов (СР) и снижения активности антиоксидантной системы защиты организма [2–4]. Интенсификацию свободнорадикального окисления макромолекул регистрируют уже в дебюте СД [5], поэтому актуален подбор препаратов, обладающих одновременно антигипергликемическими и антиоксидантными свойствами.

Исходя из анализа базы данных PubMed, наиболее распространенными для оценки эффективности антидиабетических препаратов в экспериментальных исследованиях являются негенетические модели аллоксанового (около 50 тысяч статей по запросу «alloxan diabetes») и стрептозотоцинового диабета (около 53 тысяч статей по запросу «streptozotocin diabetes»). Аллоксан и стрептозоточин – структурные аналоги глюкозы, они способны связываться с транспортером глюкозы GLUT2 и избирательно накапливаться в  $\beta$ -клетках поджелудочной железы [6, 7]. Механизм действия диабетогенов направлен на деструкцию  $\beta$ -клеток поджелудочной железы путем генерации СР или алкилирования ДНК [8]. Исследователи применяют данные диабетогены в различных концентрациях для моделирования СД 1-го типа [6–8].

Для подбора оптимальной модели СД 2-го типа животных содержат на высококалорийной диете; используют различные комбинации стрептозотоцина с диетой, содержащей большое количество жиров, углеводов, или предварительным введением никотинамида [8–10].

Стоит отметить, что изучение СД как свободнорадикальной патологии началось сравнительно недавно [2–5], единой модели для оценки роли окислительного стресса в патогенезе СД и анализа эффективности антиоксидантной терапии не существует. Именно поэтому необходимо провести сравнение моделей экспери-

ментального аллоксанового и стрептозотоцинового диабета для выбора валидной модели с целью дальнейшего использования в оценке антиоксидантного действия новых препаратов.

Цель работы – оценить валидность экспериментальных моделей аллоксанового диабета и стрептозотоцинового диабета с предварительной высококалорийной диетой для изучения окислительного стресса и способов его коррекции.

**Материалы и методы.** Эксперименты были проведены на 49 аутбредных крысах-самцах SD (Sprague Dawley) в возрасте  $79 \pm 7$  дней. Животным первой опытной группы моделировали аллоксановый диабет ( $n = 10$ ), животным второй группы моделировали стрептозотоциновый диабет с предварительной высококалорийной диетой (СТЗ-20 СД;  $n = 12$ ), животным третьей группы также моделировали СТЗ-20 СД, а затем в течение 14 дней вводили антидиабетический препарат – саксаглиптин ( $n = 10$ ), группу сравнения составили интактные (здоровые) животные ( $n = 17$ ).

За два дня до начала эксперимента у всех животных измеряли уровень глюкозы крови натощак, его значения не превышали 6 ммоль/л. Модель аллоксанового СД воспроизводили путем внутрибрюшинного введения аллоксана в дозировке 120 мг/кг [11]. Модель СТЗ-20 СД воспроизводили по методике M. Islam и H. Choi путем внутрибрюшинного введения стрептозотоцина в дозировке 40 мг/кг, с предварительной высококалорийной диетой в течение 3 недель, включавшей добавление в рацион животных 20 % свиного сала (от общего рациона) [9].

СД подтверждали по уровню глюкозы крови, взятой из хвостовой вены животных натощак ( $>15$  ммоль/л), а также по установленному состоянию полиурии и полидипсии [12]. Концентрацию глюкозы измеряли с помощью глюкометра Optium Xceed и тест-полосок FreeStyle Optium (Abbott).

Модели аллоксанового и СТЗ-20 диабета воспроизводили в разное время. В связи с тем, что свободнорадикальные процессы чувствительны к изменениям геофизических ха-

рактических характеристик состояния внешней среды [13] и сравнивать абсолютные числа полученных параметров про-антиоксидантной системы некорректно, для каждой серии экспериментов выделяли группу «интактные» (рис. 1).

окислительной модификации белков (ОМБ) – по уровню карбонильных производных в плазме крови: кетон-динитрофенилгидразонов и альдегид-динитрофенилгидразонов при спонтанном и металл-индуцированном окислении



Рис. 1. Схема эксперимента по моделированию аллоксанового и стрептозототицинового диабета у крыс

Для оценки применимости модели СТЗ-20 СД в изучении окислительного стресса еще одной группе животных с СТЗ-20 СД (10 крыс) внутрижелудочно вводили саксаглиптин в дозировке 3 мг/кг в течение 14 дней. Группу сравнения составили животные с СТЗ-20 СД без воздействия. После завершения воздействия саксаглиптина наркотизированные животные выводились из эксперимента.

Общую антиоксидантную (ОАА) и свободнорадикальную активность оценивали по уровню хемилюминесценции плазмы крови (параметры ОАА и  $I_{\max}$  – максимальная интенсивность хемилюминесценции) [14]; уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) – по содержанию в плазме крови молекулярных продуктов – диеновых (ДК) и триеновых конъюгатов (ТК), малонового диальдегида (МДА) [15]; степень

(КДФНГс/и, АДНФГс/и) [15]; работу «первого эшелона» ферментативной системы защиты – по активности ферментов: супероксиддисмутазы (СОД) [16] и каталазы [17].

Исследование было проведено в полном соответствии с этическими принципами, установленными Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и в других научных целях (принятой в Страсбурге 18.03.1986 г. и подтвержденной в Страсбурге 15.06.2006 г.), и одобрено этическим комитетом Приволжского исследовательского медицинского университета.

Статистическую обработку результатов исследования проводили при помощи программы Statistica 8.0, с применением методов непараметрической статистики ( $U$ -критерий Манна-Уитни). Выборки считали принадлежащими к

разным генеральным совокупностям при  $p \leq 0,05$ . Результаты представлены в виде медианных значений ( $Me$ ) и 25-75-х перцентилей.

### Результаты

*Модель аллоксанового диабета.* Через 2 дня после введения аллоксана у экспериментальных животных развивалось состояние полиурии и полидипсии. При этом уровень глюкозы в крови натощак превышал 15 ммоль/л.

На 8-й день после введения аллоксана статистически значимых отличий в максимальной

интенсивности хемилюминесценции у животных с СД по сравнению с интактными выявлено не было (табл. 1). Отсутствовали статистически значимые изменения и в концентрации продуктов ПОЛ (ДК, ТК и МДА).

Несмотря на то, что не было зарегистрировано изменений концентрации продуктов ПОЛ, при оценке степени ОМБ у крыс с экспериментальным аллоксановым СД было обнаружено статистически значимое повышение концентрации КДНФГ на 14 % при спонтанном окис-

Таблица 1

### СОСТОЯНИЕ ПРО-АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ОРГАНИЗМА КРЫС С АЛЛОКСАНОВЫМ ДИАБЕТОМ В СРАВНЕНИИ С ИНТАКТНЫМИ ЖИВОТНЫМИ (биохимический анализ крови), $Me$ [25%; 75%]

Показатель	Интактные животные ( $n = 9$ )	Животные с аллоксановым СД ( $n = 10$ )	$p$
ДК, ЕОП/г липидов	0,188063 [0,168497; 0,226066]	0,170800 [0,138680; 0,204400]	0,344988
ТК, ЕОП/г липидов	0,052509 [0,046482; 0,058072]	0,046721 [0,037172; 0,073658]	0,413586
МДА, ЕОП/г липидов	0,109815 [0,104585; 0,125125]	0,096332 [0,094534; 0,130742]	0,699134
Imax, мВ	2,332500 [1,960000; 3,000000]	2,547500 [1,785000; 2,900000]	1,000000
КДНФГс, ЕОП/г белка/мл	108,5820 [105,9200; 119,5731]	124,0831 [119,0185; 137,7615]	<b>0,026016</b>
АДНФГс, ЕОП/г белка/мл	77,7860 [57,4076; 83,3388]	77,2012 [76,1950; 80,4863]	0,931394
КДНФГи, ЕОП/г белка/мл	426,0246 [399,3016; 477,3181]	487,7503 [466,1499; 518,3242]	<b>0,012953</b>
АДНФГи, ЕОП/г белка/мл	389,7672 [362,9498; 472,8571]	469,1339 [419,1996; 478,9194]	<b>0,048404</b>
ОАА, усл. ед.	0,072630 [0,067431; 0,075019]	0,064858 [0,059701; 0,067385]	<b>0,025974</b>
СОД, ед. акт./мг Нв в мин	182,7144 [145,4994; 201,5257]	140,7040 [116,4896; 154,3170]	<b>0,047402</b>
Каталаза, ед. акт./мг Нв в мин	10,91335 [5,49805; 20,81547]	23,78015 [18,07086; 26,71623]	<b>0,044931</b>

*Примечание.* Полу жирным шрифтом выделены статистически значимые различия.

лении и повышение концентрации КДФГ и АДНФГ на 14 и 20 % соответственно при металл-индуцированном окислении.

При оценке активности антиоксидантной системы защиты было выявлено статистически значимое снижение ОАА на 12 %, активности СОД – на 30 % и повышение активности каталазы в 2,2 раза.

*Модель стрептозотоцинового диабета с предварительной высококалорийной диеты.* Через 2 недели после начала высококалорийной диеты у животных наблюдался статистически значимый прирост массы тела, превышающий прирост массы у интактных крыс, содержащихся на стандартном рационе вива-

рия, что подтверждает нарушение метаболических процессов, возникающее после подобной диеты у экспериментальных животных. Введение стрептозотоцина на фоне высококалорийной диеты привело к развитию стойкой гипергликемии, полидипсии и полиурии.

При оценке общей свободнорадикальной активности (I<sub>max</sub>) и концентрации МДА в плазме крови крыс с экспериментальным СТЗ-20 СД было выявлено статистически значимое повышение данных параметров на 7 и 17 % по сравнению с показателями интактных животных (табл. 2).

В крови экспериментальных животных также было зарегистрировано повышение концентрации продуктов окислительной деструкции

Таблица 2

**СОСТОЯНИЕ ПРО-АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ОРГАНИЗМА КРЫС  
СО СТРЕПТОЗОТОЦИНОВЫМ ДИАБЕТОМ В СРАВНЕНИИ С ИНТАКТНЫМИ ЖИВОТНЫМИ  
(биохимический анализ крови), Ме [25%; 75%]**

Показатель	Интактные животные (n = 8)	Животные с СТЗ-20 СД (n = 12)	p
I <sub>max</sub> , мВ	1,8990 [1,8785; 1,9385]	2,0350 [2,0100; 2,0400]	<b>0,015873</b>
ОАА, усл. ед.	0,0713 [0,0703; 0,0740]	0,067783 [0,0661; 0,0699]	<b>0,048485</b>
МДА, ЕОП/г липидов	0,0733 [0,0558; 0,0763]	0,0856 [0,0830; 0,0989]	<b>0,025974</b>
КДФГс, ЕОП/г белка/мл	136,163 [124,4110; 147,4384]	194,4310 [178,7755; 196,7655]	<b>0,044611</b>
АДНФГс, ЕОП/г белка/мл	104,2857 [76,6807; 120,7519]	130,7323 [122,9082; 152,0097]	<b>0,045501</b>
КДФГи, ЕОП/г белка/мл	525,1266 [517,7041; 567,4370]	621,0886 [569,5604; 658,8209]	<b>0,013986</b>
АДНФГи, ЕОП/г белка/мл	565,8055 [548,8722; 581,8045]	632,4803 [581,0204; 661,0654]	<b>0,022145</b>
СОД, ед. акт./мг Нв в мин	152,5327 [139,1236; 172,4888]	158,1089 [144,2482; 175,9888]	0,533800
Каталаза, ед. акт./мг Нв в мин	11,1439 [4,6848; 13,6200]	17,7712 [16,2428; 18,8678]	<b>0,024990</b>

*Примечание.* Полужирным шрифтом выделены статистически значимые различия.

белков – КДНФГ и АДНФГ на 43 и 25 % соответственно при спонтанном окислении, на 18 и 12 % при металл-индуцированном окислении.

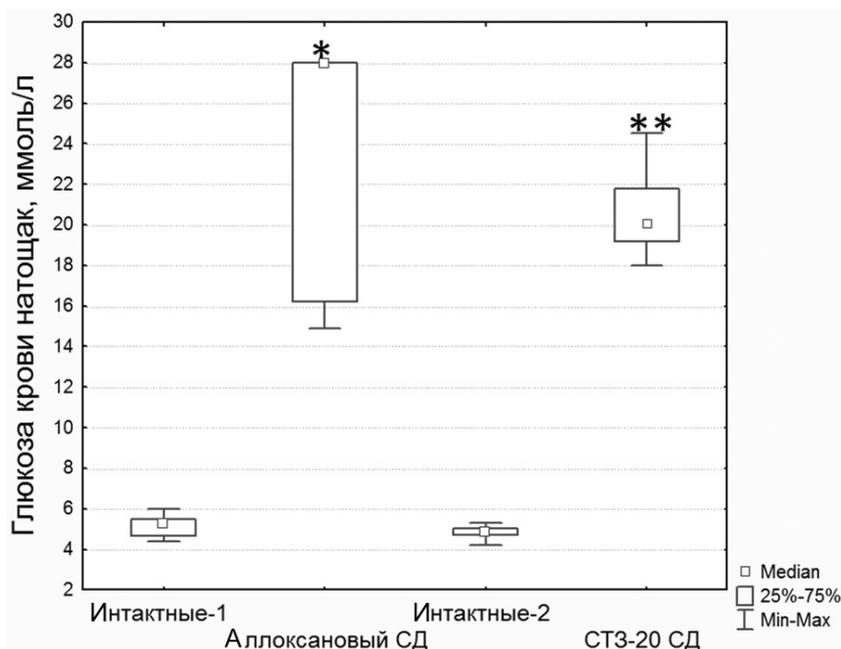
У животных с СТЗ-20 СД также наблюдалось нарушение активности антиоксидантной системы защиты: снижение ОАА на 5 %, повышение активности каталазы на 59 %, при этом изменение активности СОД не было статистически значимым.

*Сравнение моделей аллоксанового и СТЗ-20 диабета.* При сравнении концентрации глюкозы в крови натощак через несколько дней после введения диabetогенов нами было показано, что как аллоксан, так и стрептозотоцин вызывает стойкую гипергликемию (рис. 2), сопровождающуюся состояниями полиурии и полидипсии. При этом медиана глюкозы крови натощак после введения аллоксана превыша-

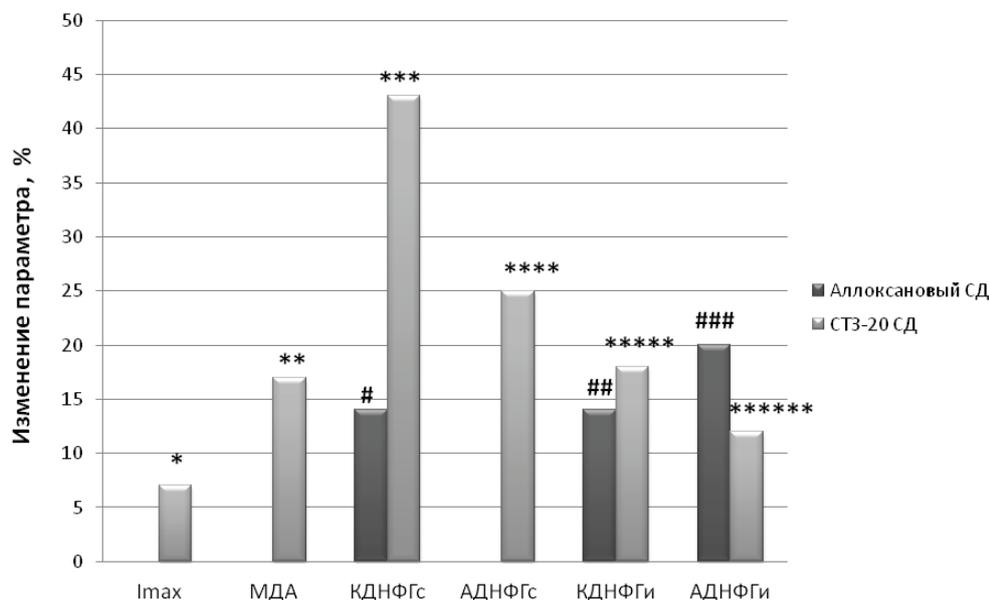
ла значение данного параметра в группе животных с СТЗ-20 СД, что характеризует более агрессивное действие аллоксана на  $\beta$ -клетки поджелудочной железы по сравнению со стрептозотоцином.

Для оценки адекватности моделей необходимо провести сравнение изменения биохимических маркеров окислительного стресса относительно значений данных параметров у интактных животных (рис. 3, 4, см. с. 72).

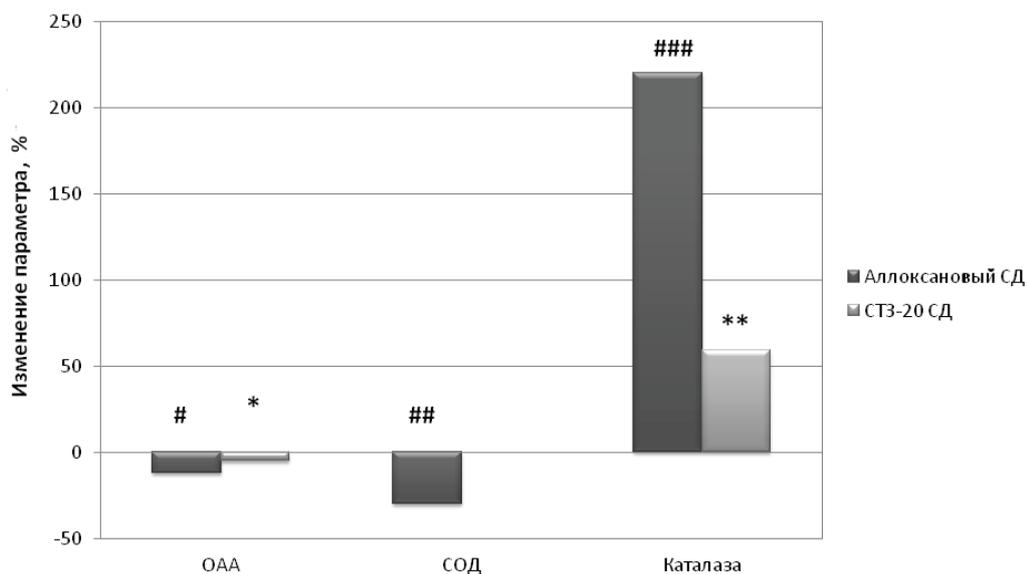
Полученные данные свидетельствуют о том, что в условиях моделирования СД стрептозотоцином на фоне высококалорийной диеты наблюдается более значительное усиление свободнорадикальных процессов и более интенсивное образование продуктов окислительной деструкции липидов и белков, чем при использовании модели аллокса-



**Рис. 2.** Уровень глюкозы крови натощак у крыс с аллоксановым и стрептозотоциновым (с предварительной высококалорийной диетой) диабетом по сравнению с данными интактных животных (интактные-1 – группа сравнения для экспериментального аллоксанового диабета, интактные-2 – группа сравнения для экспериментального СТЗ-20 СД; различия статистически значимы ( $p = 0,000666$ ): \* – по сравнению с группой «интактные-1»; \*\* – по сравнению с группой «интактные-2»)



**Рис. 3.** Изменение параметров прооксидантной системы в крови крыс с аллоксановым и стрептозотоциновым (с предварительной высококалорийной диетой) диабетом по сравнению со значениями интактных животных (\* –  $p = 0,015873$ , \*\* –  $p = 0,025974$ , \*\*\* –  $p = 0,044611$ , \*\*\*\* –  $p = 0,045501$ , \*\*\*\*\* –  $p = 0,013986$ , \*\*\*\*\* –  $p = 0,022145$ , # –  $p = 0,026016$ , ## –  $p = 0,012953$ , ### –  $p = 0,048404$ )



**Рис. 4.** Изменение параметров антиоксидантной системы защиты в крови крыс с аллоксановым и стрептозотоциновым (с предварительной высококалорийной диетой) диабетом по сравнению с данными интактных животных (\* –  $p = 0,048485$ , \*\* –  $p = 0,024990$ , # –  $p = 0,025974$ , ## –  $p = 0,047402$ , ### –  $p = 0,044931$ )

нового диабета. Важно, что крысы с СТЗ-20 СД более длительное время сохраняют жизнеспособность (рис. 5).

*Применимость модели СТЗ-20 СД в оценке действия антидиабетических препаратов.* На модели СТЗ-20 СД было оценено действие современного антидиабетического препарата из класса ингибиторов дипептидил-пептидазы-4 (саксаглиптина) на параметры окислительного стресса. Через 14 дней внутрижелудочного введения саксаглиптина уровень глюкозы крови натощак у крыс составил 17,8 [13,7; 18,3] ммоль/л, в то время как у крыс с СТЗ-20 СД без воздействия – 23,05 [19,5; 28] ммоль/л ( $p = 0,037$ ). При оценке параметров окислительного стресса в крови животных с СТЗ-20 СД после введения препарата было зарегистрировано снижение до нормы общей свободнорадикальной активности ( $p = 0,0399$ ), концентрации МДА ( $p = 0,0001$ ) и всех продуктов ОМБ

при спонтанном окислении ( $p = 0,0101$  для КДНФГс и  $p = 0,0081$  для АДНФГс).

**Обсуждение.** При моделировании аллоксанового диабета нами не было обнаружено статистически значимых отличий в процессах окислительной перекисидации липидов. Несмотря на то, что некоторые авторы отмечают интенсификацию процесса ПОЛ при аллоксановом диабете [18], отсутствие значимых изменений в концентрации продуктов перекисидации на 8-й день действия диабетогена в нашем исследовании можно объяснить динамическим изменением данных процессов. Так, максимальное повышение концентрации продуктов ПОЛ в крови крыс наблюдается на 3–6-е сутки после введения аллоксана, в дальнейшем происходит снижение уровня маркеров перекисидации липидов [19].

Введение аллоксана приводит к разрушению  $\beta$ -клеток поджелудочной железы, вызывая

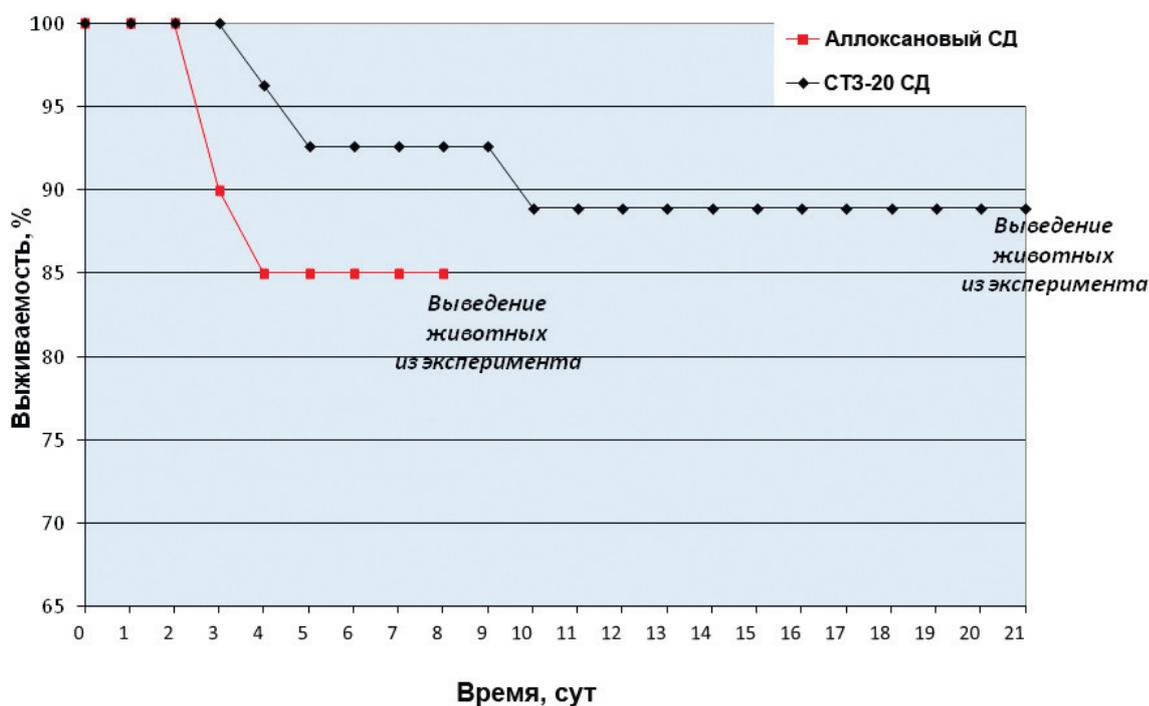


Рис. 5. Сравнение выживаемости крыс с аллоксановым и стрептозотоциновым (с предварительной высококалорийной диетой) диабетом

состояние, характеризующее инсулинзависимый диабет (СД 1-го типа). Стоит отметить, что в некоторых клинических исследованиях было показано как снижение концентрации МДА (а также оснований Шиффа – продуктов взаимодействия МДА с белками) у пациентов с СД 1-го типа по сравнению с данными здоровых доноров [20], так и сохранение нормального его уровня [21].

При введении аллоксана было обнаружено повышение концентрации продуктов ОМБ. Известно, что в результате окислительной модификации белков 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) считают маркерами окислительной фрагментации и агрегации белков, которые свидетельствуют о степени деструкции белковых молекул и характеризуют снижение резервно-адаптационных возможностей организма. Повышение концентрации продуктов ОМБ характеризует усиление деструкции белковой молекулы и активизацию окислительного потенциала организма, а также снижение протеазной активности у животных с экспериментальным аллоксановым диабетом. Снижению протеолиза может способствовать последовательная аккумуляция агрегатов белков, устойчивых к действию протеаз [22]. Значимое повышение концентрации продуктов ОМБ подтверждает, что при ряде патологий именно белки, а не липиды являются эффективными ловушками генерируемых активных форм кислорода, и их окислительная модификация рассматривается как один из ранних маркеров окислительного повреждения [22].

Также у крыс с аллоксановым диабетом наблюдалось снижение ОАА, активности СОД и повышение активности каталазы. Интересно, что подобные изменения были зарегистрированы и в клинических исследованиях у больных инсулинзависимым диабетом [20].

Повышение концентрации некоторых продуктов окислительной модификации белков на

фоне изменения активности антиоксидантной системы защиты свидетельствует о нарушении про-антиоксидантного баланса при данной модели диабета, однако не свидетельствует о развитии стойкого окислительного стресса.

При СТЗ-20 СД наблюдалось усиление свободнорадикальных процессов и более интенсивное образование продуктов окислительной деструкции липидов и белков на фоне нарушения активности антиоксидантной системы защиты: снижение ОАА и повышение активности каталазы. Нарушение антиоксидантной системы защиты при экспериментальном диабете согласуется с исследованиями других авторов, которые указывают на усиление активности каталазы в крови животных с экспериментальным диабетом [23] на фоне нормальной активности СОД [24]. При СД 2-го типа нарушение секреции инсулина является вторичным фактором. В начале патогенеза СД  $\beta$ -клетки поджелудочной железы функционируют в усиленном режиме, вырабатывая инсулин в больших количествах. Некоторые авторы выявили стимулирующее влияние инсулина на активность каталазы. Повышение активности каталазы может быть обусловлено увеличением концентрации субстрата –  $H_2O_2$  вследствие активации инсулин-чувствительной НАДН-дегидрогеназы, которая является одним из трансдукторов гормонального сигнала в эритроците. Однако высокая концентрация  $H_2O_2$  может подавлять активность СОД [24].

В нашем исследовании было показано, что животные с СТЗ-20 СД более длительное время сохраняют жизнеспособность. Отличия в жизнеспособности крыс при разных экспериментальных моделях обусловлены разным действием диабетогенов. Период полураспада аллоксана в организме очень короткий (в водной среде составляет несколько минут), он быстро накапливается в  $\beta$ -клетках поджелудочной железы и быстрее разрушает их, чем стрептозотоцин [6]. Известны данные о постепенном накоплении токсического эффекта стрептозотоцина на  $\beta$ -клетки поджелудочной железы, меньшей гепатотоксичности и отсутствии эффектов на почки экспериментальных животных, в отличие от

аллоксана [7]. Высокая летальность животных сразу после введения аллоксана не позволяет планировать продолжительные эксперименты, следовательно, снижает эффективность модели для изучения действия препаратов, направленных на коррекцию окислительного стресса. Таким образом, модель стрептозотоцинового диабета адекватна требуемым запросам: быстрое развитие СД, жизнеспособность животных и развитие окислительного стресса.

В последнем разделе нашего исследования была оценена применимость модели СТЗ-20 СД в оценке антиоксидантного действия антидиабетических препаратов на примере саксаглиптина. Принцип действия данного препарата основан на использовании эффекта инкретинов – глюкагоноподобного полипептида 1 и глюкозозависимого инсулинотропного полипептида, эффективность которых снижается при СД 2-го типа [25]. После введения саксаглиптина у животных с экспериментальным диабетом (СТЗ-20 СД)

было зарегистрировано снижение до нормы общей свободнорадикальной активности, концентрации МДА, всех продуктов ОМБ при спонтанном окислении. Возможность ограничения окислительного стресса саксаглиптином может быть обусловлена его лимитирующим действием на супероксидный анион-радикал, что согласуется с работой А. Solini et al. [26].

Таким образом, при СТЗ-20 СД наблюдается более значимое усиление свободнорадикальных процессов и более интенсивное образование продуктов окислительной деструкции липидов и белков, чем при модели аллоксанового диабета; животные с экспериментальным СТЗ-20 СД более длительное время сохраняют свою жизнеспособность, что позволяет использовать данную модель для оценки продолжительного воздействия различных препаратов. Также доказана применимость модели СТЗ-20 СД в оценке антиоксидантного действия антидиабетических препаратов.

## Список литературы

1. IDF DIABETES Atlas. 8th ed. 2017. URL: <http://www.diabetesatlas.org/resources/2017-atlas.html> (дата обращения: 21.12.2018).
2. Балаболкин М.И., Клебанова Е.М., Креминская В.М. Применение убихинона (коэнзима Q) в комплексной терапии сахарного диабета и его сосудистых осложнений // Сахар. диабет. 2007. № 4. С. 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 // Кардиол. вестн. 2008. Т. III(XV), № 1. С. 60–67.
4. Brownlee M. Biochemistry and Molecular Cell Biology of Diabetic Complications // Nature. 2001. Vol. 414, № 6865. P. 813–820.
5. Сорокина Ю.А., Ловцова Л.В., Богдарина А.В., Яшанова М.И., Щербатюк Т.Г. Синергизм при комбинированном использовании пероральных сахароснижающих препаратов // Современ. технологии в медицине. 2014. Т. 6, № 3. С. 85–90.
6. Lenzen S. The Mechanisms of Alloxan- and Streptozotocin-Induced Diabetes // Diabetologia. 2008. Vol. 51, № 2. P. 216–226.
7. Пальчикова Н.А., Кузнецова Н.В., Кузьминова О.И., Селятицкая В.Г. Гормонально-биохимические особенности аллоксановой и стрептозотоциновой моделей экспериментального диабета // Бюл. СО РАМН. 2013. Т. 33, № 6. С. 18–24.
8. Спасов А.А., Воронкова М.П., Снугур Г.Л., Чепляева Н.И., Чепурнова М.В. Экспериментальная модель сахарного диабета типа 2 // Биомедицина. 2011. № 3. С. 12–19.
9. Islam M.S., Choi H. Nongenetic Model of Type 2 Diabetes: A Comparative Study // Pharmacology. 2007. Vol. 79, № 4. P. 243–249.
10. Байрашева В.К., Бабенко А.Ю., Дмитриев Ю.В., Байрамов А.А., Чефу С.Г., Шаталов И.С., Пчелин И.Ю., Иванова А.Н., Гринева Е.Н. Новая модель сахарного диабета 2-го типа и диабетической нефропатии у крыс // Трансляц. медицина. 2016. Т. 3, № 4. С. 44–55.
11. Экспериментальный сахарный диабет. Роль в клинической диабетологии / В.Г. Баранов, И.М. Соколоворова, Э.Г. Гаспарян и др.; под ред. В.Г. Баранова. Л.: Наука, 1983. 238 с.

12. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / отв. ред. А.Н. Миронов. Ч. 1. М.: Гриф и К, 2012. 944 с.
13. Щербатюк Т.Г. Свободнорадикальные процессы и их коррекция у животных с экспериментальными опухолями: дис. ... д-ра биол. наук. Н. Новгород, 2003. 315 с.
14. Кузьмина Е.И., Нелюбин А.С., Щенникова М.К. Применение индуцированной хемилюминесценции для оценок свободнорадикальных реакций в биологических субстратах // Биохимия и биофизика микроорганизмов: межвуз. сб. Горький, 1983. С. 179–183.
15. Арутюнян А.В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма. СПб.: Фолиант, 2000. 104 с.
16. Nishikimi M., Appaji Rao N., Yagi K. The Occurrence of Superoxide Anion in the Reaction of Reduced Phenazine Methosulfate and Molecular Oxygen // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1972. Vol. 46, № 2. P. 849–854.
17. Aebi H. Catalase *in vitro* // Methods Enzymol. 1984. Vol. 105. P. 121–126.
18. Янькова В.И., Иванова И.Л., Федореев С.А., Кулеш Н.И. Антиоксидантное действие гепатопротектора максара при экспериментальном диабете // Эксперим. и клин. фармакология. 2002. Т. 65, № 4. С. 33–36.
19. Золотарева С.Н., Мубаракишина О.А. Окислительный стресс и антиоксидантный статус при экспериментальном аллоксановом диабете // Свободные радикалы, антиоксиданты и здоровье животных: материалы науч.-практ. конф., 21–23 сентября 2004 г., г. Воронеж. Воронеж, 2004. С. 47–52.
20. Савченко А.А., Титова Н.М., Субботина Т.Н., Герикорон Ф.А., Манчук В.Т., Альбрант Е.В. Роль свободнорадикальных и метаболических процессов в патогенезе сахарного диабета I типа. Красноярск: Сиб. федер. ун-т, 2012. 269 с.
21. Колесникова Л.И., Власов Б.Я., Колесников С.И., Даренская М.А., Гребенкина Л.А., Семенова Н.В., Вантеева О.А. Исследование интенсивности окислительного стресса у больных сахарным диабетом 1-го типа различных расовых групп // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2016. Т. 161, № 6. С. 719–722.
22. Дубинина Е.Е. Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток (жизнь и смерть, созидание и разрушение). СПб.: Мед. пресса, 2006. 397 с.
23. 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 // Вопр. мед. химии. 1999. Т. 45, вып. 4. С. 304–308.
24. Kakkar R., Kalra J., Mantha S.V., Prasad K. Lipid Peroxidation and Activity of Antioxidant Enzymes in Diabetic Rats // Mol. Cell. Biochem. 1995. Vol. 151, № 2. P. 113–119.
25. Мкртумян А.М. Саксаглиптин открывает новые возможности эффективного и безопасного контроля гликемии у больных сахарным диабетом типа 2 // Фарматека. 2010. № 16. С. 32–36.
26. 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 // Vascul. Pharmacol. 2016. Vol. 76. P. 62–71.

## References

1. *IDF DIABETES Atlas*. 8th ed. 2017. Available at: <http://www.diabetesatlas.org/resources/2017-atlas.html> (accessed: 21 December 2018).
2. Balabolkin M.I., Klebanova E.M., Kreminskaya V.M. Primenenie ubikhinona (koenzima Q) v kompleksnoy terapii sakharnogo diabeta i ego sosudistyx oslozhneniy [The Use of Ubiquinone (Coenzyme Q) in the Complex Therapy of Diabetes Mellitus and Its Vascular Complications]. *Sakharnyy diabet*, 2007, no. 4, pp. 37–42.
3. Lankin V.Z., Tikhaze A.K., Kumsikova E.M. Osobennosti modifikatsii lipoproteinov nizkoy plotnosti v razvitiy ateroskleroza i sakharnogo diabeta tipa 2 [Modification of Low-Density Lipoproteins in the Development of Atherosclerosis and Type 2 Diabetes Mellitus]. *Kardiologicheskij vestnik*, 2008, vol. 3, no. 1, pp. 60–67.
4. Brownlee M. Biochemistry and Molecular Cell Biology of Diabetic Complications. *Nature*, 2001, vol. 414, no. 6865, pp. 813–820.
5. Sorokina Yu.A., Lovtsova L.V., Bogdarina A.V., Yashanova M.I., Shcherbatyuk T.G. Sinergizm pri kombinirovannom ispol'zovanii peroral'nykh sakharnosnizhayushchikh preparatov [Synergism in Combined Use of Oral Antihyperglycemic Drugs]. *Sovremennye tekhnologii v meditsine*, 2014, vol. 6, no. 3, pp. 85–90.

6. Lenzen S. The Mechanisms of Alloxan- and Streptozotocin-Induced Diabetes. *Diabetologia*, 2008, vol. 51, no. 2, pp. 216–226.
7. Pal'chikova N.A., Kuznetsova N.V., Kuz'minova O.I., Selyatitskaya V.G. Gormonal'no-biokhimicheskie osobennosti alloksanovoy i streptozototsinovoy modeley eksperimental'nogo diabeta [Hormonal and Biochemical Features of Alloxan- and Streptozotocin-Induced Models of Experimental Diabetes]. *Byulleten' SO RAMN*, 2013, vol. 33, no. 6, pp. 18–24.
8. Spasov A.A., Voronkova M.P., Snigur G.L., Cheplyaeva N.I., Chepurnova M.V. Eksperimental'naya model' sakharnogo diabeta tipa 2 [Experimental Model of Type 2 Diabetes]. *Biomeditsina*, 2011, no. 3, pp. 12–19.
9. Islam M.S., Choi H. Nongenetic Model of Type 2 Diabetes: A Comparative Study. *Pharmacology*, 2007, vol. 79, no. 4, pp. 243–249.
10. Bayrasheva V.K., Babenko A.Yu., Dmitriev Yu.V., Bayramov A.A., Chefu S.G., Shatalov I.S., Pchelin I.Yu., Ivanova A.N., Grineva E.N. Novaya model' sakharnogo diabeta 2-go tipa i diabeticheskoy nefropatii u krysa [A Novel Model of Type 2 Diabetes and Diabetic Nephropathy in Rats]. *Translyatsionnaya meditsina*, 2016, vol. 3, no. 4, pp. 44–55.
11. Baranov V.G., Sokoloverova I.M., Gasparyan E.G., et al. *Eksperimental'nyy sakharnyy diabet. Rol' v klinicheskoy diabetologii* [Experimental Diabetes: Its Role in Clinical Diabetology]. Leningrad, 1983. 238 p.
12. Mironov A.N. (ed.). *Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv* [Guidelines for Conducting Preclinical Studies on Drugs]. Pt. 1. Moscow, 2012. 944 p.
13. Shcherbatyuk T.G. *Svobodnoradikal'nye protsessy i ikh korrektsiya u zhivotnykh s eksperimental'nymi opukholyami* [Free-Radical Processes and Their Correction in Animals with Experimental Tumours]. Nizhny Novgorod, 2003. 315 p.
14. Kuz'mina E.I., Nelyubin A.S., Shchennikova M.K. Primenenie indutsirovannoy khemilyuminestsentsii dlya otsenok svobodnoradikal'nykh reaktsiy v biologicheskikh substratakh [The Use of Induced Chemiluminescence for Evaluation of Free-Radical Reactions in Biological Substrates]. *Biokhimiya i biofizika mikroorganizmov* [Microbial Biochemistry and Biophysics]. Gorky, 1983, pp. 179–183.
15. Arutyunyan A.V., Dubinina E.E., Zybina N.N. *Metody otsenki svobodnoradikal'nogo okisleniya i antioksidantnoy sistemy organizma* [Methods for Evaluating Free-Radical Oxidation and the Body's Antioxidant System]. St. Petersburg, 2000. 104 p.
16. Nishikimi M., Appaji Rao N., Yagi K. The Occurrence of Superoxide Anion in the Reaction of Reduced Phenazine Methosulfate and Molecular Oxygen. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1972, vol. 46, no. 2, pp. 849–854.
17. Aebi H. Catalase *in vitro*. *Methods Enzymol.*, 1984, vol. 105, pp. 121–126.
18. Yan'kova V.I., Ivanova I.L., Fedoreev S.A., Kulesh N.I. Antioksidantnoe deystvie gepatoprotektora maksara pri eksperimental'nom diabete [Antioxidant Activity of the Hepatoprotector Maxar in Experimental Diabetes]. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*, 2002, vol. 65, no. 4, pp. 33–36.
19. Zolotareva S.N., Mubarakshina O.A. Okislitel'nyy stress i antioksidantnyy status pri eksperimental'nom alloksanovom diabete [Oxidative Stress and Antioxidant Status in Alloxan-Induced Experimental Diabetes]. *Svobodnye radikaly, antioksidanty i zdorov'e zhivotnykh* [Free Radicals, Antioxidants and Animal Health]. Voronezh, 2004, pp. 47–52.
20. Savchenko A.A., Titova N.M., Subbotina T.N., Gershkoron F.A., Manchuk V.T., Al'brant E.V. *Rol' svobodnoradikal'nykh i metabolicheskikh protsessov v patogeneze sakharnogo diabeta I tipa* [The Role of Free-Radical and Metabolic Processes in the Pathogenesis of Type 1 Diabetes]. Krasnoyarsk, 2012. 269 p.
21. Kolesnikova L.I., Vlasov B.Ya., Kolesnikov S.I., Darenskaya M.A., Grebenkina L.A., Semenova N.V., Vanteeva O.A. Intensity of Oxidative Stress in Mongoloid and Caucasian Patients with Type 1 Diabetes Mellitus. *Bull. Exp. Biol. Med.*, 2016, vol. 161, no. 6, pp. 767–769.
22. Dubinina E.E. *Produkty metabolizma kisloroda v funktsional'noy aktivnosti kletok (zhizn' i smert', sozidanie i razrushenie)* [Oxygen Metabolism Products in the Functional Activity of Cells (Life and Death, Creation and Destruction)]. St. Petersburg, 2006. 397 p.
23. Kosenko E.A., Kaminskiy A.Yu., Kaminskiy Yu.G. Aktivnost' antiokislitel'nykh fermentov v pecheni i mozge snizhaetsya v rannie sroki diabeta, i eto snizhenie zavisit ot funktsionirovaniya NMDA-retseptorov [The Activity of Antioxidant Enzymes in the Liver and the Brain Decreases at the Early Stages of Diabetes, and This Decrease Depends on the Functioning of NMDA Receptors]. *Voprosy meditsinskoj khimii*, 1999, vol. 45, no. 4, pp. 304–308.
24. Kakkar R., Kalra J., Mantha S.V., Prasad K. Lipid Peroxidation and Activity of Antioxidant Enzymes in Diabetic Rats. *Mol. Cell. Biochem.*, 1995, vol. 151, no. 2, pp. 113–119.

25. Mkrtumyan A.M. Saksagliptin otkryvaet novye vozmozhnosti effektivnogo i bezopasnogo kontrolya glikemii u bol'nykh sakharnym diabetom tipa 2 [Saxagliptin Opens New Opportunities for Effective and Safe Glycemic Control in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus]. *Farmateka*, 2010, no. 16, pp. 32–36.

26. 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. *Vascul. Pharmacol.*, 2016, vol. 76, pp. 62–71.

DOI: 10.17238/issn2542-1298.2019.7.1.66

**Mariya I. Yashanova\***, **Tat'yana G. Shcherbatyuk\***, **Vadim Yu. Nikolaev\*\***

\*Privolzhsky Research Medical University  
(Nizhny Novgorod, Russian Federation)

\*\*Nizhny Novgorod State Agricultural Academy  
(Nizhny Novgorod, Russian Federation)

### VALIDITY OF THE MODELS OF EXPERIMENTAL DIABETES FOR OXIDATIVE STRESS STUDIES

Oxidative stress plays an important role in the pathogenesis of diabetes mellitus (DM) and the development of its complications. It was not until fairly recently that DM began to be studied as a free-radical pathology. Thus, there are currently no unified methodological approaches to assessing the effect of oxidative stress on the pathogenesis of DM and to analysing the effectiveness of antioxidant therapy. For this reason, new models are required for assessing the antioxidant effect of new drugs. We performed a comparative analysis of the activity of free-radical processes in 49 white outbred male rats with diabetes induced by intraperitoneal injection of alloxan (120 mg/kg) and streptozotocin (40 mg/kg), the latter preceded by a high-calorie diet (STZ DM). The research found that the formation of lipid and protein oxidation products is more intensive in rats with STZ DM than in those with alloxan-induced DM. Moreover, animals with experimental STZ DM stay alive longer, which makes it possible to use this model in evaluating long-term effects of various drugs. In order to estimate the validity of the STZ DM model for oxidative stress studies, saxagliptin (Onglyza) at a dosage of 3 mg/kg was administered by intragastric gavage for 14 days to animals with STZ DM (10 rats). After 14 days of administration, the drug decreased the total free-radical activity, concentration of malondialdehyde and all products of oxidative modification of proteins during spontaneous oxidation, which proves that the STZ DM model can be used to evaluate the antioxidant effect of antidiabetic drugs.

**Keywords:** *experimental diabetes, alloxan, streptozotocin, oxidative modification of proteins and lipids, ketone-dinitrophenylhydrazones, aldehyde-dinitrophenylhydrazones, malondialdehyde, saxagliptin.*

Поступила 27.06.2018

Принята 06.12.2018

Received 27 June 2018

Accepted 6 December 2018

---

**Corresponding author:** Mariya Yashanova, address: pl. Minina i Pozharskogo 10/1, Nizhny Novgorod, 603005, Russian Federation; e-mail: yammi2006@rambler.ru

**For citation:** Yashanova M.I., Shcherbatyuk T.G., Nikolaev V.Yu. Validity of the Models of Experimental Diabetes for Oxidative Stress Studies. *Journal of Medical and Biological Research*, 2019, vol. 7, no. 1, pp. 66–78. DOI: 10.17238/issn2542-1298.2019.7.1.66