

УДК: 616.379 – 008.64:612.751.1:616 – 092.4

Е.Г. Бутолин, В.А. Вяткин, О.В. Данилова, В.Г. Иванов

ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ МИНЕРАЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ В КОСТНОЙ ТКАНИ У КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ДИАБЕТОМ

В ряду хронических осложнений сахарного диабета стоят патологические изменения в костной ткани. Целью нашей работы явилось исследование изменений в количестве кальция и фосфора – основных неорганических составляющих кости – в компактной костной ткани у аллоксан-индуцированных крыс на разных сроках диабета. Эксперимент проведён на 70 белых беспородных крысах-самцах массой от 180 до 220 г. Методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой определены содержание кальция и фосфора в образцах – навесках диафиза бедренной кости массой 5 мг. В гомогенатах образцов определена активность щелочной фосфатазы. Весь перечень измерений проведён на 7, 14, 21 и 28-е дни эксперимента. В ходе работы выявлены изменения в содержании кальция на 7, 14 и 28-е дни наблюдения и в содержании фосфора на протяжении всего эксперимента с максимумом изменений на 7-й день опыта: на 25 % ($p=0,00002$) и на 15 % ($p=0,002$) соответственно по сравнению с контрольными значениями (медианы: 1,9 мг – кальций, 0,73 мг – фосфор). Установлена сильная прямая корреляционная связь между содержанием кальция и фосфора ($r=0,086$; $p<0,01$). Также выявлено угнетение щелочной фосфатазы на 28-й день эксперимента.

Ключевые слова: концентрация кальция, концентрация фосфора, диабетическая остеопатия, компактная костная ткань, щелочная фосфатаза, аллоксановый диабет, атомно-эмиссионная спектроскопия.

К настоящему времени сахарный диабет приобрёл угрожающие масштабы: по данным Государственного регистра на январь 2011 г. число больных в России составило более 3,3 млн человек, 9,1 % из которых страдают сахарным диабетом 1-го типа. Есть опасения, что действительная распространённость заболевания в 3 раза выше, чем официальные данные [1]. Высокая смертность и ранняя инвалидизация больных в связи с развитием осложнений делают очевидной высокую социальную значимость заболевания [2]. К числу хронических осложнений сахарного диабета относят различные формы диабетической остеопатии [3].

Говоря о развитии патологических изменений в костной ткани у больных сахарным диабетом, нельзя не отметить, что многие аспекты данной проблемы остаются не ясными: частота поражений костно-суставного аппарата колеблется в весьма широких пределах [4], не до конца ясными остаются патогенетические механизмы развития остеопатических процессов [5]. Так, в рандомизированном контролируемом одномоментном исследовании, проведённом А.П. Шепелькевич, установлено снижение минеральной плотности костной ткани в области шейки бедра у 20 % обследованных пациентов с сахарным диабетом 1-го типа [6]. В другом одномоментном исследовании, проанализированном в обзоре L.C. Hofbauer с соавторами [5], остеопения в той же области выявлена у 44 % больных с инсулинзависимым диабетом.

В ряде экспериментальных работ с грызунами также наблюдались изменения в минеральном составе костной ткани. В опыте с аллоксан-индуцированными крысами линии Спрег-Дюули в бедренной кости общее содержание минеральных компонентов (взвешивание золы после выгорания органических компонентов кости) и количество кальция (измерения колориметрическим методом) к исходу пятой недели эксперимента снизилось соответственно на 14,82 % и 16,27 % по сравнению с контролем [7]. В другой работе у грызунов с аллоксановым диабетом на 30-й день наблюдения зафиксировано снижение количества кальция (измерения титриметрическим методом по де Ваарду) в бедренной кости на 21,4 % по сравнению с контролем [8].

Минеральная фаза компактной костной ткани представлена, в основном, фосфорнокальциевыми неорганическими солями, содержание которых составляет 45–49 % от массы кортикальной кости и придаёт ей механическую жёсткость и прочность [9; 10]. Потеря минеральных составляющих кости приводит к остеопении и снижению её прочностных характеристик, что подтверждено в работах с экспериментальным диабетом на крысах [7; 8; 11]. Однако планомерные исследования на предмет изменения содержания минеральных составляющих в костной ткани на разных этапах диабета отсутствуют. Поэтому целью данной работы явилось исследование содержания кальция и фосфора в компактной костной ткани в динамике экспериментального аллоксанового диабета.

Материалы и методы исследования

Эксперимент проведён на 70 белых беспородных крысах-самцах массой 180–220 г. с соблюдением принципов гуманного обращения с животными, изложенными в Хельсинской декларации (2000 г.). Животных содержали на стандартном рационе вивария со свободным доступом к корму и воде. Получена одобрительная форма локального этического комитета № 371 от 23 июня 2013 г.

Исследовали 2 группы животных. Контрольную группу составили 10 интактных крыс, которым однократно вводили 0,5 мл 0,9 % раствора хлорида натрия. Опытную группу составили 60 крыс с аллоксановым диабетом.

Аллоксановый диабет индуцировали путём однократного подкожного введения аллоксана тетрагидрата («Sigma-Aldrich», США) в дозе 170 мг/кг веса животного по методу Н.А. Пальчиковой [12]. Летальность в ходе эксперимента составила 40 %. Воспроизведение диабета контролировали по совокупности показателей: уровня глюкозы в плазме крови глюкозооксидазным методом («Ольвекс Диагностикум», Россия) и уровня гликозилированного гемоглобина в цельной крови (тест-система «Nycocard-HbA_{1c}» на рефлектометре «Nycocard Reader II», Великобритания). Животных выводили из эксперимента под кратковременным эфирным наркозом на 7, 14, 21, 28-е дни опыта.

Количество кальция (Ca) и фосфора (P) определяли методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой на спектрометре «Spectro flame modulas» (США). Погрешность в измерениях составляет $\pm 0,1$ мг. Объектами анализа являлись гидролизаты навесок диафиза бедренной кости массой 5 мг.

В гомогенатах бедренной кости определяли активность щелочной фосфатазы унифицированным методом по «конечной точке» («ЩЕЛОЧНАЯ ФОСФАТАЗА-ВИТАЛ-02», «Витал Диагностик», Россия).

Статистический анализ полученных данных проводили с помощью пакета программ Statistica 6.1 фирмы Stat Soft. В группах выборки определяли медиану (Me) и межквартильный интервал (25 %; 75 %). Достоверность различий между группами оценивали по U-критерию Манна-Уитни с критическим уровнем 0,05.

Результаты и их обсуждение

Введение аллоксана крысам вызвало развитие гипергликемии и увеличение уровня гликозилированного гемоглобина. Концентрация глюкозы в плазме крови опытных крыс превышала её уровень у контрольных животных (4,77 [4,35; 5,08] ммоль/л) на протяжении всего периода эксперимента, максимально отличаясь от контроля на 7-й день опыта – на 115 % ($p=0,0004$). Уровень гликозилированного гемоглобина увеличивался в динамике исследования на 16 % ($p=0,0002$), 28 % ($p=0,0006$), 35 % ($p=0,0002$), 39 % ($p=0,0003$) по сравнению с контролем (4,15 [4,0; 4,3] %) на 7, 14, 21, 28-е дни эксперимента. Характер изменений полученных показателей позволяет говорить о развитии диабета у экспериментальных животных, что согласуется с данными литературы [8; 12; 13].

Содержание кальция и фосфора у крыс с аллоксановым диабетом, Me [25 %; 75 %]

Показатели	Кальций, мг	Фосфор, мг	Активность щелочной фосфатазы, нмоль/л*с
Контроль (n=10)	1,9 [1,73; 1,96]	0,73 [0,71; 0,74]	208,15 [24; 316,8]
Аллоксановый диабет, 7 день (n=10)	1,42 [1,37; 1,6]***	0,62 [0,59; 0,68]**	876,55 [288; 1200]*
Аллоксановый диабет, 14 день (n=8)	1,49 [1,22; 1,59]***	0,64 [0,56; 0,67]**	37,8 [0; 96]
Аллоксановый диабет, 21 день (n=8)	1,79 [1,41; 1,88]	0,66 [0,58; 0,69]**	201,95 [24; 666]
Аллоксановый диабет, 28 день (n=10)	1,55 [1,32; 1,61]***	0,66 [0,56; 0,7]**	0 [0; 12]***

Примечание. p – достоверность различий с контролем (* – $p<0,05$; ** – $p<0,01$; *** – $p<0,001$)

Активность щелочной фосфатазы в гомогенатах диафиза бедренной кости возрастала на 321 % к 7 дню эксперимента ($p=0,01$), далее снижалась в динамике опыта до 0 нмоль/л*с к 28 дню опыта ($p=0,0007$).

Изменения в содержании кальция и фосфора в бедренной кости у аллоксан-индуцированных крыс носят однонаправленный характер. Количество кальция уменьшалось на 7, 14 и 28 дни эксперимента соответственно на 25 % ($p=0,00002$), 22 % ($p=0,00004$) и 18 % ($p=0,00001$) по сравнению с контролем, а содержание фосфора снижалось на 15 % ($p=0,002$), 12 % ($p=0,002$), 10 % ($p=0,006$) и 10 % ($p=0,003$) по сравнению с контролем на 7, 14, 21 и 28 дни опыта соответственно. При этом на протяжении всего эксперимента отмечалась сильная прямая корреляция между содержанием кальция и фосфора ($r=0,086$; $p<0,01$).

Наблюдаемые нами явления можно объяснить следующим. В ряду патогенетических факторов, индуцирующих развитие остеопении у больных сахарным диабетом, стоит образование и накопление конечных продуктов неферментативного гликозилирования белков (AGEs – advanced glycation end products) в костной ткани [14]. Действие AGEs на клеточный метаболизм может быть внутриклеточным и внеклеточным, опосредованным через рецепторы к AGEs (RAGE – receptors of AGEs) [15]. С одной стороны, гликирование костного коллагена приводит к снижению количества поперечных «сшивок» в его структуре, тем самым нарушая процесс минерализации и фиксации минеральных компонентов в матриксе костной ткани. В то же время взаимодействие AGE-RAGE вызывает активацию ядерного фактора каппа В (NF- κ B), таким образом стимулируя остеокластогенез и, следовательно, костную резорбцию [14]. Подтверждением того факта, что при осложнениях СД RAGE являются звеном в реализации патологических эффектов AGEs служит эксперимент, проведённый на мышах, лишённых RAGE, в котором показано снижение активности резорбции, увеличение костной массы и минеральной плотности костной ткани [16]. Другой вероятной причиной изменения минерального состава костной ткани при сахарном диабете 1-го типа может быть дефицит витамина Д, приводящий к потере кальция и фосфатов с мочой [17; 18]. Указанные обстоятельства могут объяснять уменьшение содержания кальция и фосфора в костной ткани при экспериментальном диабете.

Роль щелочной фосфатазы в процессах остеогенеза заключается в увеличении локальной концентрации фосфатов, необходимых для формирования центров кристаллизации, за счёт отщепления фосфатных остатков от фосфорорганических эфиров и фосфопротеинов [10]. Информация об изменении уровня данного показателя при инсулинзависимом сахарном диабете носит противоречивый характер. Показано достоверное увеличение активности щелочной фосфатазы у больных диабетом как за счёт высокого уровня печеночной и кишечной изоформ, так и в связи с высокой активностью костной изоформы данного фермента [13]. Между тем выявлено существенное снижение активности щелочной фосфатазы в бедренной кости при стрептозотоциновом диабете у грызунов [19].

Увеличение количества остеобластов, наблюдающегося при дефиците витамина Д [20], объясняет усиление синтеза щелочной фосфатазы, и, следовательно, рост её активности на 7-й день опыта.

Угнетение ферментативной деятельности щелочной фосфатазы в гомогенатах костной ткани на 28-й день эксперимента, с одной стороны, может быть обусловлено дефицитом инсулиноподобного фактора роста-I, опосредованного наблюдающейся при экспериментальном диабете инсулинопенией [8; 21], с другой – угнетением функции остеобластов в связи с накоплением AGEs [14].

Выводы

1. Впервые выявлено, что аллоксановый диабет у крыс сопровождается снижением содержания фосфора в компактной костной ткани с пиком изменения на 7-й день опыта.
2. Аллоксановый диабет у крыс приводит к снижению количества кальция в компактной кости с максимумом изменения на 7-й день эксперимента.
3. В динамике аллоксан-индуцированного диабета впервые выявлен фазный характер изменения активности щелочной фосфатазы в компактной костной ткани, характеризующийся увеличением активности фермента на 7-й день опыта и его угнетением – на 28-й день эксперимента.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Сахарный диабет в цифрах: действительность и прогнозы. URL: <http://диабет.рф/about-diabetes/risk-factors/diabetes-in-figures> (дата обращения: 25.12.2014).
2. Шишкова Ю.А., Суркова Е.В., Мотовилин О.Г., Майоров А.Ю. Качество жизни при сахарном диабете: определение понятия, современные подходы к оценке, инструменты для исследования // Сахарный диабет. 2011. Вып. 3. С. 70-75.
3. Шишкин А.Н., Мануленко В.Н. Диабетическая остеопатия // Вестн. Санкт-Петербургского ун-та. Сер. 11. 2008. Вып. 3. С. 70-79.
4. Сахарный диабет: острые и хронические осложнения / под ред. И.И. Дедова, М.В. Шестаковой. М.: ООО Изд-во «Медицинское информационное агентство», 2011. 480 с.
5. Hofbauer L.C., Rueck C.C., Singh S.K., Dobnig H. Osteoporosis in Patients With Diabetes Mellitus // J. Bone Miner. Res. 2007. Vol. 22(9). P. 1317-1328. DOI: <http://dx.doi.org/10.1359/JBMR.070510>.
6. Шепелькевич А.П. Состояние показателей костного метаболизма у пациентов с сахарным диабетом 1-го типа // Военная медицина. 2012 Т. 25, вып. 4. С. 42-50.
7. Qi W., Zhang Y., Yan Y.B., Lei W., Wu Z.X., Liu N., Lie S., Shi L., Fan Y. The protective effect of cordymin, a peptide purified from the medicinal mushroom *Cordyceps sinensis* on diabetic osteopenia in alloxan-induced rats // Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2013 Aug. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/985636>.
8. Савинова Н.В. Изменение показателей обмена коллагена костной ткани при аллоксановом диабете и стрессе: дис. ... канд. мед. наук. Казань. 2004. 140 с.
9. Щербак, И.Г. Биологическая химия: учеб. для медицинских вузов. СПб.: Изд-во СПбГМУ, 2005. 480 с.
10. Савинова Н.В., Переведенцева С.Е., Виленская М.П., Вольхина И.В., Бутолин Е.Г. Биохимия минерализованных тканей и соединительнотканного матрикса: учеб. пособие / ред. Е.Г. Бутолин. Ижевск, 2012. 110 с.
11. Sirasanagandla SR, Karkala SRP, Potu BK, Bhat KMR. Beneficial effect of *Cissus quadrangularis* Linn. on osteopenia associated with streptozotocin-induced diabetes mellitus in male Wistar rats // Adv Pharmacol Sci. 2014 Apr. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/483051>.
12. Пальчикова Н.А., Селятицкая В.Г., Шорин Ю.П. Количественная оценка чувствительности экспериментальных животных к диабетогенному действию аллоксана // Проблемы эндокринологии. 1987. № 4. С. 65-68.
13. Данилова О.В. Обмен коллагена костной ткани крыс при воздействии преднизолоном в условиях экспериментального диабета: дис. ... канд. мед. наук. Уфа, 2010. 144 с.
14. Vestergaard P. Diabetes and Bone // J Diabetes Metab. 2011. S. 1. DOI: <http://dx.doi.org/10.4172/2155-6156.S1-001>.
15. Goh S., Cooper M. E. The Role of Advanced Glycation End Products in Progression and Complications of Diabetes // J. Clin. Endocrinol. Metab. 2008. Vol. 93(4). P. 1143-1152. DOI: <http://dx.doi.org/10.1210/jc.2007-1817>.
16. Zhou Z., Immel D., Xi C., Bierhaus A., Feng X., Mei L., Nawroth P., Stern D.M., Xiong W. Regulation of osteoclast function and bone mass by RAGE // J. Exp. Med. 2006. Vol. 203(4). P. 1067-1080. DOI: <http://dx.doi.org/10.1084/jem.20051947>.
17. Порозовнюк В.В., Мазур И.П. Костная система и заболевания пародонта. Киев: Книга Плюс, 2004. 446 с.
18. Vestergaard P. Diabetes and bone fracture: risk factors for old and young // Diabetologia. 2014. Vol. 57(10). P. 2007-2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00125-014-3338-1>.
19. Hie M, Shimono M, Fujii K, Tsukamoto I. Increased cathepsin K and tartrate-resistant acid phosphatase expression in bone of streptozotocin-induced diabetic rats // Bone. 2007. Vol. 41(6). P. 1045-1050. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bone.2007.08.030>. PubMed PMID: 17916452.
20. Слуцкий Л.И. Биохимия нормальной и патологически изменённой соединительной ткани. Л.: Медицина, 1969. 376 с.
21. Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes // Diabetologia. 2008. Vol. 51(2). P. 216-226.

Поступила в редакцию 07.07.17

E.G. Butolin, V.A. Vyatkin, O.V. Danilova, V.G. Ivanov

CHANGE OF MINERAL SUBSTANCES CONTENT IN BONE TISSUE IN ALLOXAN-INDUCED RATS

Among the chronic complications of diabetes are the pathological changes in bone. The aim of our research was to study changes in the levels of calcium and phosphorus – basic inorganic components of bone - in compact bone tissue in alloxan-induced rats at different stages of diabetes. The experiment was conducted on 70 white mongrel male rats weighing 180 to 220 g. Calcium and phosphorus concentration in the samples (sample weights of the femoral shaft weighing 5 mg) was determined using the method of atomic emission spectroscopy with inductively-coupled plasma. In homogenates of samples, the activity of alkaline phosphatase was determined. The entire list of measurements was carried out at 7, 14, 21 and 28 days of experiment. The work revealed changes in calcium content on 7, 14 and 28 days of

observation, and phosphorus content throughout the experiment with maximum changes on day 7: 25 % ($p = 0,00002$) and 15% ($p = 0,002$), respectively, compared with control values (median: 1,9 mg – calcium, 0,73 mg – phosphorus). A strong direct correlation between the content of calcium and phosphorus was established ($r = 0,086$; $p < 0,01$). Inhibition of alkaline phosphatase on day 28 of the experiment was also revealed.

Keywords: Calcium concentration, phosphorus concentration, diabetic osteopathy, cortical bone, alkaline phosphatase, alloxan-induced diabetes, atomic emission spectroscopy.

REFERENCE

1. *Saharnyj diabet v cifrah: dejstvitel'nostj i prognozy* [Diabetes in numbers: the reality and the forecasts], URL: <http://diabet.rf/about-diabetes/risk-factors/diabetes-in-figures> (accessed: 25.12.2014) (in Russ.).
2. Shishkova Ju.A., Surkova E.V., Motovilin O.G. and Majorov A.Ju. [Quality of life in diabetes: the op-the definition of concepts of modern approaches to assessment, instruments for the study], in *Saharnyj diabet*, 2011, iss. 3, pp. 70-75 (in Russ.).
3. Shishkin A.N. and Manulenko V.N. [Diabetic osteopathy], in *Vestn. Sankt-Peterburgskogo un-ta. Ser.11*, 2008, iss. 3, pp. 70-79 (in Russ.).
4. *Saharnyj diabet: ostrye i hronicheskie oslozhenija* [Diabetes mellitus: acute and chronic complications] Dedov I. I. and Shestakova M. V. (ed.), M.: OOO Izd-vo "Medicinskoe informacionnoe agentstvo", 2011, 480 p. (in Russ.).
5. Hofbauer L.C., Brueck C.C, Singh S.K. and Dobnig H. Osteoporosis in Patients With Diabetes Mellitus, in *J. Bone Miner. Res.*, 2007, vol. 22(9), pp. 1317-1328, DOI: <http://dx.doi.org/10.1359/JBMR.070510>.
6. Shepel'kevich A. P. [State indicators of bone metabolism in patients with diabetes mellitus of the 1st type], in *Voennaja medicina*, 2012, vol. 25, iss. 4, pp. 42-50 (in Russ.).
7. Qi W., Zhang Y., Yan Y.B., Lei W., Wu Z.X., Liu N., Lie S., Shi L. and Fan Y. The protective effect of cordymin, a peptide purified from the medicinal mushroom *Cordyceps sinensis* on diabetic osteopenia in alloxan-induced rats, in *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013 Aug., DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/985636>.
8. Savinova N.V. [The changes in indices of collagen metabolism of the bone tissue in alloxan diabetes and stress], Cand. Med. sci. diss., Kazan, 2004, 140 p. (in Russ.).
9. Scherbak I.G. *Biologicheskaja himija. Uchebnik dlja medicinskih vuzov* [Biological chemistry. Textbook for medical schools], SPb.: Izd-vo SPbGMU, 2005, 480 p. (in Russ.).
10. Savinova N.V., Perevedenceva S.E., Vilenskaja M.P., Vol'hina I.V. and Butolin E.G. *Biohimija mineralizovannyh tkanej i soedinitel'notkannogo matriksa: uch. posobie* [Biochemistry of mineralized tissues and connective tissue matrix: textbook], E. G. Butolin (ed.), Izhevsk, 2012, 110 p. (in Russ.).
11. Sirasanagandla S.R., Karkala S.R.P., Potu B.K. and Bhat K.M.R. Beneficial effect of *Cissus quadrangularis* Linn. on osteopenia associated with streptozotocin-induced diabetes mellitus in male Wistar rats, in *Adv Pharmacol Sci.*, 2014, Apr. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/483051>.
12. Pal'chikova N.A., Seljaticckaja V.G. and Shorin Ju.P. [Quantitative assessment of sensitivity of experimental animals to diabetogenic action of alloxan], in *Problemy endokrinologii*, 1987, no 4, pp. 65-68 (in Russ.).
13. Danilova O.V. [Metabolism of collagen in bone tissue of rats under the influence of prednisolone in experimental diabetes], Cand. Med. sci. diss., Ufa, 2010, 144 p. (in Russ.).
14. Vestergaard P. Diabetes and Bone, in *J Diabetes Metab.*, 2011, pp. 1, DOI: <http://dx.doi.org/10.4172/2155-6156.S1-001>.
15. Goh S. and Cooper M. E. The Role of Advanced Glycation End Products in Progression and Complications of Diabetes, in *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2008, vol. 93(4), pp. 1143-1152, DOI: <http://dx.doi.org/10.1210/jc.2007-1817>.
16. Zhou Z., Immel D., Xi C., Bierhaus A., Feng X., Mei L., Nawroth P., Stern D.M. and Xiong W. Regulation of osteoclast function and bone mass by RAGE, in *J. Exp. Med.*, 2006, vol. 203(4), pp. 1067-1080, DOI: <http://dx.doi.org/10.1084/jem.20051947>.
17. Porovoznjuk V. V. and Mazur I. P. *Kostnaja sistema i zabojevanija parodonta* [Bone structure and periodontal disease], Kiev: Kniga Pljus, 2004, 446 p. (in Russ.).
18. Vestergaard P. Diabetes and bone fracture: risk factors for old and young, in *Diabetologia*, 2014, vol. 57(10), pp. 2007-2008, DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00125-014-3338-1>.
19. Hie M., Shimono M., Fujii K. and Tsukamoto I. Increased cathepsin K and tartrate-resistant acid phosphatase expression in bone of streptozotocin-induced diabetic rats, in *Bone*, 2007, vol. 41(6), pp. 1045-1050, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bone.2007.08.030>, PubMed PMID: 17916452.
20. Sluckij L.I. *Biohimija normal'noj i patologicheski izmenjonnoj soedinitel'noj tkani* [Biochemistry of normal and pathologically changed connective tissue], L.: Medicina, 1969, 376 p. (in Russ.).
21. Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes, in *Diabetologia*, 2008, vol. 51(2), pp. 216-226.

Бутолин Евгений Германович,
доктор медицинских наук, профессор,
заведующий кафедрой клинической биохимии
и лабораторной диагностики ФПК и ПП
E-mail: butoline@mail.ru

Вяткин Василий Алексеевич,
аспирант кафедры клинической биохимии
и лабораторной диагностики ФПК и ПП
E-mail: vyatkinva@yandex.ru

Данилова Ольга Владимировна,
кандидат медицинских наук,
доцент кафедры биохимии
E-mail: danilova-stlab@yandex.ru

Иванов Вадим Геннадьевич,
кандидат медицинских наук, доцент кафедры
клинической биохимии и лабораторной диагностики
ФПК и ПП
E-mail: vitahelp@mail.ru

ФГБОУ ВО «Ижевская государственная
медицинская академия» Минздрава РФ
426034, Россия, г. Ижевск, ул. Коммунаров, 281

Butolin E.G.,
Doctor of Medical Sciences, Professor,
Head of Department Clinical Biochemistry and Laboratory
Diagnostics of Faculty Post-graduate education
E-mail: butoline@mail.ru

Vyatkin V.A.,
postgraduate student
at Department of biochemistry
E-mail: vyatkinva@yandex.ru

Danilova O.V.
Candidate of Medical Sciences
Associate Professor of the Department of Biochemistry
E-mail: danilova-stlab@yandex.ru

Ivanov V.G.
Candidate of Medical Sciences, Associate Professor
At Department of the Clinical Biochemistry
and LaboratoryDiagnostics
E-mail: vitahelp@mail.ru

Izhevsk State Medical Academy
Kommunarov st., 281, Izhevsk, Russia, 426034