

Окислительный и карбонильный стресс как фактор модификации белков и деструкции ДНК при сахарном диабете

В.З. ЛАНКИН¹, А.К. ТИХАЗЕ¹, Г.Г. КОНОВАЛОВА¹, О.А. ОДИНОКОВА², Н.А. ДОРОШУК¹, И.Е. ЧАЗОВА¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Минздрава России, Москва, Россия;

²ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Резюме

Цель исследования. Комплексное изучение окислительных повреждений молекул биополимеров крови (белков и нуклеиновых кислот) при сахарном диабете 2-го типа (СД2).

Материалы и методы. В крови 50 больных СД2 и 25 пациентов без нарушений углеводного обмена определяли: уровень окисленных липопротеидов низкой плотности (окЛПНП) иммунохимическим методом, содержание SH-групп в белках плазмы крови, активность Cu,Zn-супероксиддисмутазы (СОД) в эритроцитах, длину теломерных повторов в дезоксирибонуклеиновой кислоте (ДНК) лейкоцитов, уровень конечного продукта деструкции ДНК 8-гидрокси-2'-дезоксигуанидина (8-охо-dG) в плазме и моче.

Результаты и обсуждение. Показано, что при СД2 происходит повышение уровня окЛПНП и снижение содержания SH-групп в белках и пептидах плазмы крови, что свидетельствует о развитии окислительного стресса. Кроме того, у больных СД2 выявлена карбонил-зависимая модификация эритроцитарной СОД, а также окислительная деструкция ДНК (уменьшение длины теломеров в лейкоцитах и увеличение уровня 8-охо-dG в плазме крови и моче).

Заключение. Впервые на основании определения комплекса корректных показателей выявлена множественная окислительная модификация биополимеров крови (белков и ДНК) при СД2.

Ключевые слова: окислительный/карбонильный стресс, окисленные липопротеиды низкой плотности, Cu,Zn-супероксиддисмутазы, окислительная деструкция ДНК, сахарный диабет 2-го типа.

Oxidative and carbonyl stress as a factors of the modification of proteins and DNA destruction in diabetes

V.Z. LANKIN¹, A.K. TIKHAZE¹, G.G. KONOVALOVA¹, O.A. ODINOKOVA², N.A. DOROSHCHUK¹, I.E. CHAZOVA¹

¹National Medical Research Center for Cardiology, Moscow, Russia;

²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia (Sechenov University), Moscow, Russia

Aim. To study the oxidative damage of biopolymers (proteins and nucleic acids) in blood of patients with type 2 diabetes mellitus (DM).

Materials and methods. In the blood of 50 patients with DM and 25 patients without disorders of carbohydrate metabolism were estimated: the level of oxidized low-density lipoprotein (oxLDL) by immunochemical method, the content of SH-groups in plasma proteins, the activity of Cu, Zn-superoxide dismutase (SOD) in erythrocytes, the length of telomere in leukocyte DNA, the level of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-охо-dG) in plasma and urine.

Results and discussion. It is shown that in DM patients the level of oxLDL increases and the content of SH-groups in proteins and peptides of the blood plasma decreases, which indicates the development of oxidative stress. In addition, a carbonyl-dependent modification of erythrocyte SOD was detected in DM patients, as well as oxidative DNA destruction (decrease in telomere length in leukocytes and an increase in the level of 8-охо-dG in blood plasma and urine).

Conclusion. On the basis of the definition of a complex of correct indicators, a multiple oxidative modification of biopolymers of blood (proteins and DNA) was detected in patients with DM.

Keywords: oxidative/carbonyl stress, oxidized low-density lipoprotein, Cu, Zn-superoxide dismutase, oxidative DNA destruction, type 2 diabetes mellitus.

АФК – активные формы кислорода

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ЛПНП – липопротеиды низкой плотности

МДА – малоновый диальдегид

окЛПНП – окисленные липопротеиды низкой плотности

ПЦР – полимеразная цепная реакция

СД2 – сахарный диабет 2-го типа

СОД – супероксиддисмутазы

ТБК – 2-тиобарбитуровая кислота

8-охо-dG – 8-гидрокси-2'-дезоксигуанозин

HbA1c – гликированный гемоглобин

RCS – активные формы карбониллов (reactive carbonyl species)

TBARS – вещества, реагирующие с 2-тиобарбитуровой кислотой (thiobarbituric acid-reactive substances)

Окислительный стресс (усиленное образование продуктов свободнорадикального окисления и/или снижение их утилизации) индуцирует возникновение и развитие таких патологий, как атеросклероз и сахарный диабет (СД) [1–4]. Ранее нами показано, что у больных СД 2-го типа (СД2) с выраженными нарушениями углеводного обмена окисленность липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) плазмы крови достигает экстремальных значений по сравнению с аналогичным показателем у больных атеросклерозом с гиперлипидемией [2, 3]. Одной из основных причин этого может быть бо-

лее интенсивное образование и накопление реакционно-способных форм карбониллов (reactive carbonyl species – RCS) при диабетической гипергликемии вследствие соокисления ненасыщенных липидов и шестиатомных сахаров, а также автоокисления и других окислительных превращений глюкозы [2, 5]. Таким образом, интенсификация свободнорадикального окисления при СД2 неизбежно должна приводить к неконтролируемому накоплению RCS, т. е. к переходу окислительного стресса в карбонильный стресс. Природные низкомолекулярные дикарбонилы (такие как малоновый

диальдегид – МДА, глиоксаль и метилглиоксаль), образующиеся в качестве вторичных продуктов свободнорадикального окисления полиеновых липидов и углеводов [5, 6], способны легко реагировать с аминокислотами биополимерами, включая белки и нуклеиновые кислоты, что приводит к их модификации и нарушению нормального метаболизма [3, 4]. Как мы предположили ранее, накопление RCS может провоцировать модификацию ключевого антиоксидантного фермента – Cu,Zn-супероксиддисмутазы (СОД), что должно приводить к уменьшению его активности [7]. В условиях повышенного образования активных форм кислорода (АФК) и органических гидропероксидов в условиях снижения их утилизации при СД 2-го типа свободнорадикальные реакции могут развиваться по автокаталитическому механизму, что создает уникальную возможность для исследования экстремальных проявлений окислительного/карбонильного стресса при такой «свободнорадикальной патологии», как СД [3–5]. Окислительный катаболизм молекул дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), запускаемый при накоплении АФК и RCS, сопровождается уменьшением длины теломерных повторов в делящихся клетках [8, 9] и образованием конечного продукта деструкции нуклеиновых кислот 8-гидрокси-2'-дезоксигуанозина (8-охо-dG) [9, 10], обнаруживаемого в плазме крови и экскретируемого с мочой. Исходя из этого, нам представлялось важным в рамках комплексного исследования группы больных СД2 с нарушениями углеводного обмена провести одновременное изучение параметров, определяющих выраженность окислительного/карбонильного стресса, равно как и показателей, характеризующих влияние свободнорадикальных процессов на окислительную модификацию белков и окислительный катаболизм молекул ДНК, также отражающих проявление окислительного/карбонильного стресса.

Материалы и методы

В исследовании использовали образцы клинического материала, полученные от наблюдавшихся в ФГБУ «НМИЦ кардиологии» Минздрава России пациентов ($n=25$; 16 мужчин и 9 женщин; средний возраст – $62,4 \pm 1,89$ года) с гипертонической болезнью (с медикаментозно компенсированным в пределах целевых значений уровнем артериального давления) и с ишемической болезнью сердца при отсутствии ишемии миокарда на момент включения в исследование (группа сравнения, контроль). Опытную группу составили больные СД2 с выраженными нарушениями углеводного обмена ($n=50$; 26 мужчин и 24 женщины; средний возраст – $61,2 \pm 1,85$ года), выявленные при обследовании в эндокринологическом отделении ГКБ №67 г. Москвы. Обе группы сопоставимы по возрасту ($p < 0,05$) и соотношению мужчин

и женщин. Образцы крови отбирали натощак, используя в качестве антикоагулянта и антиоксиданта ЭДТА (1 мг/мл), после чего получали плазму крови в рефрижераторной центрифуге Sigma 3-16KL (4000 об/20 мин); кроме того, отбирали пробы утренней мочи. Уровень гликированного гемоглобина (HbA1c) определяли *ex tempore* методом капиллярного электрофореза на приборе Capillarys 2 фирмы Sebia (Франция). В качестве информативного показателя, характеризующего выраженность окислительного стресса [3, 5], использовали уровень окисленных ЛПНП (окЛПНП) в плазме крови, который определяли иммунохимическим методом при помощи тест-наборов фирмы Mercodia (Швеция), содержащих моноклональные антитела mAb-4Е6 к МДА-модифицированным ЛПНП [3]. Об окислительной модификации белков судили по изменению уровня восстановленных тиолов, который определяли с помощью реактива Ellman [11], а также по изменению активности эритроцитарной СОД [7], измеряя ее с помощью тест-наборов SOD Activity Kit фирмы Cayman Chemical Company (США), в которых используется наиболее адекватный метод определения (генерирование субстрата реакции – супероксидного радикала – осуществляется ферментативно в системе ксантин–ксантиноксидаза) [7]. Содержание маркера окислительного стресса – продукта окислительной деструкции молекул ДНК 8-охо-dG – в плазме крови и моче определяли иммунохимическим методом с помощью тест-наборов фирмы Trevigen (США). Все измерения проводили на планшетном спектрофотометре BioTek EL808 (США). ДНК из моноцитов крови выделяли с использованием набора «ДНК-Экстран1» (ЗАО «Синтол», Россия). Длину теломерных повторов хромосом моноцитов определяли модифицированным методом количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени. Амплификацию в реальном времени проводили на анализаторе нуклеиновых кислот «АНК-32» (Россия) [12]. Исследование всех образцов повторяли трижды. Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы SPSS 21.0 (SPSS Inc., США).

Результаты

Основные результаты исследования приведены в **таблице**. Из представленных в ней данных можно видеть, что у обследованных больных СД2 выявлены выраженные нарушения углеводного обмена. Уровень гликированного гемоглобина у этих больных в 2,3 раза превышал таковой в контрольной группе. Как и следовало ожидать, у этих больных также наблюдалось существенное увеличение (почти в 1,5 раза) уровня окЛПНП в плазме крови, что свидетельствует не только о наличии у них окислительного стресса, но и об окислительной модификации апопротеина В-100 частиц ЛПНП [2, 3] (**см. таблицу**). Окисление восстановленных тиолов служит характерным проявлением окислительного стресса *in vivo*. В соответствии с этим, в белках и пептидах плазмы крови больных СД2 выявлено снижение уровня восстановленных тиолов на 20% (**см. таблицу**). Нами отмечено, что активность эритроцитарной СОД у больных СД2 снижается [7], причем этот факт подтвержден в настоящем исследовании (**см. таблицу**) и, вероятно, связан с модификацией молекул фермента при взаимодействии с RCS.

Сведения об авторах:

Ланкин Вадим Зиновьевич – д.б.н., проф., гл.н.с., и.о. руководителя отд. биохимии свободнорадикальных процессов Института клинической кардиологии им. А.Л. Мясникова НМИЦ кардиологии

Тихазе Алла Карловна – д.м.н., проф., гл.н.с. отд. биохимии свободнорадикальных процессов Института клинической кардиологии им. А.Л. Мясникова НМИЦ кардиологии

Одиноква Ольга Александровна – аспирант каф. эндокринологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

Дорожук Наталья Александровна – врач-лаборант лаб. медицинской генетики Института клинической кардиологии им. А.Л. Мясникова НМИЦ кардиологии

Чазова Ирина Евгеньевна – акад. РАН, д.м.н., проф., директор Института клинической кардиологии им. А.Л. Мясникова НМИЦ кардиологии

Контактная информация:

Коновалова Галина Георгиевна – к.б.н., с.н.с. отд. биохимии свободнорадикальных процессов Института клинической кардиологии им. А.Л. Мясникова НМИЦ кардиологии; тел.: +7(495)414-65-17, +7(985)863-10-78; e-mail: gavakon5050@mail.ru; ORCID: 0000-0002-0172-9472

Показатели окислительного и карбонильного стресса у больных СД2 с выраженными нарушениями углеводного обмена

Параметр	Группы исследованных пациентов	
	контроль (без нарушений углеводного обмена)	СД2
Гликированный гемоглобин (HbA1c), %	4,6±0,05	10,7±0,29 ($p<0,0001$)
окЛПНП, ед/л	51,6±3,68	73,2±3,42 ($p<0,0001$)
Содержание восстановленных тиолов, мкмоль/мл	0,515±0,015	0,413±0,002 ($p<0,0001$)
Активность СОД в эритроцитах, ед/г Нб	1564±25,8	1297±22,3 ($p<0,001$)
Относительная длина теломеров в моноцитах, %	110,4±1,33	75,9±1,29 ($p<0,0001$)
Содержание 8-оксигуанина в плазме крови, нмоль/л	24,9±0,26	27,2±0,23 ($p<0,001$)
Содержание 8-оксигуанина в моче, нмоль/л	60,4±1,50	65,1±0,15 ($p<0,001$)

Примечание. p – достоверность отличий от контроля.

Доказательством этого являются результаты наших экспериментов, в которых инкубация эритроцитов человека в присутствии глиоксаля и метилглиоксаля приводит к ингибированию внутриклеточной Cu,Zn-СОД (рис. 1). Из этого следует, что низкомолекулярные RCS легко проникают через клеточную мембрану и могут вызывать окислительную модификацию ферментов, сопровождающуюся ингибированием их активности. Полученные данные также свидетельствуют о том, что активность СОД в эритроцитах больных СД2 находится в обратной корреляции ($r=-0,652$; $p<0,0001$; $n=44$) с уровнем гликированного гемоглобина (рис. 2), т. е. снижение активности фермента у больных СД2 в значительной степени определяется развитием карбонильного стресса. Нами проведено комплексное исследование окислительного катаболизма ДНК, в котором выявлено весьма существенное (в 1,5 раза) уменьшение длины теломерных повторов ДНК в лейкоцитах крови больных СД2 (см. таблицу). Это можно объяснить тем, что теломерные участки молекул ДНК подвержены деструкции под действием окислительного стресса в большей степени, чем несущие генетическую информацию последовательности ДНК в хромосомах [9]. Одновременно мы наблюдали достоверное увеличение уровня продукта катаболизма ДНК – 8-охо-dG – как в плазме крови, так и в моче обследованных больных СД2 (см. таблицу).

Обсуждение

Ранее нами показано, что экспериментальный диабет у животных может быть вызван провоцируемым АФК повреждением β -клеток при одновременном снижении активности антиоксидантных ферментов в поджелудочной железе [13–15]. Одновременно установлено, что фенольный антиоксидант пробукол может обладать выраженным протективным действием [13, 15]. Наличие окислительного стресса при СД2 постулировано в раннем обзоре [16] и в ряде последующих публикаций [17–20] на основании косвенных показателей, преимущественно вследствие регистрации повы-

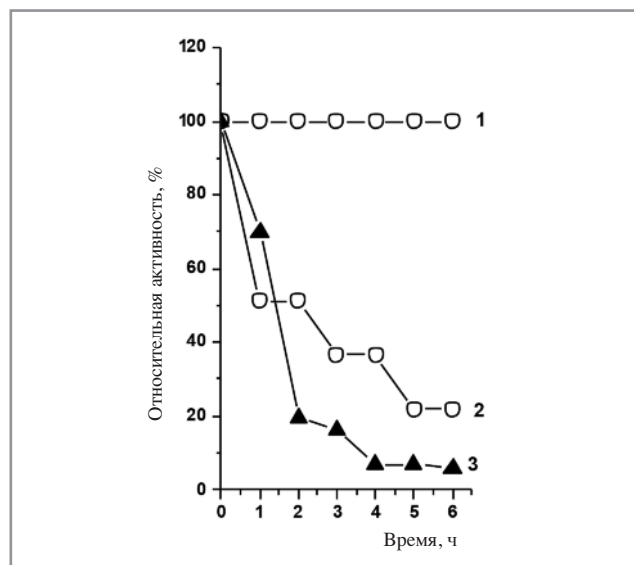


Рис. 1. Влияние природных низкомолекулярных дикарбониллов на активность Cu,Zn-СОД в эритроцитах человека *in vitro*.

1 – активность нативной Cu,Zn-СОД в эритроцитах человека (для получения эритроцитов использовали кровь практически здоровых доноров) в процессе инкубации в течение 6 ч в изотоническом K,Na-фосфатном буфере pH 7,4 (без добавок); 2 – изменение активности Cu,Zn-СОД в эритроцитах человека в процессе инкубации в присутствии 10 мМ метилглиоксаль* в течение 6 ч в изотоническом K,Na-фосфатном буфере pH 7,4; 3 – изменение активности Cu,Zn-СОД в эритроцитах человека в процессе инкубации в присутствии 10 мМ глиоксаль* в течение 6 ч в изотоническом K,Na-фосфатном буфере pH 7,4.

* – клетки инкубировали в присутствии 10 мМ дикарбониллов в течение 1–6 ч, после чего трижды отмывали изотоническим буфером, лизировали в 5 мМ K,Na-фосфатном буфере pH 7,4 и активность Cu,Zn-СОД определяли, как описано выше.

шенного уровня МДА в плазме крови больных. Тем не менее реакция с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК), использованная в этих работах для анализа содержания МДА, обладает низкой специфичностью, поскольку с ТБК в условиях определения могут реагировать различные вещества плазмы крови, отличные от МДА [21]. В связи с этим в литературе при такого рода анализах предлагается говорить не об определении МДА, а об анализе веществ, реагирующих с ТБК (thio-barbituric acid-reactive substances – TBARS). Таким образом, повышенный уровень TBARS не может рассматриваться в качестве надежного критерия интенсификации свободнорадикальных реакций, т. е., строго говоря, наличие окислительного/карбонильного стресса при СД2 на основании только этого показателя не может считаться окончательно установленным. К сожалению, анализ содержания первичных продуктов свободнорадикального окисления – липогидропероксидов, повышенный уровень которых однозначно может свидетельствовать о развитии окислительного стресса, – крайне немногочисленны ввиду трудностей проведения подобных измерений. О повышении уровня липогидропероксидов в плазме крови больных СД2 сообщено в работе [22], причем экстремально высокий уровень этих первичных продуктов свободнорадикального окисления выявлен также и нами в ЛПНП плазмы крови больных СД2 с выраженными нарушениями углеводного обмена [23]. В соответствии с нашими наблюдениями, весьма информативным маркером

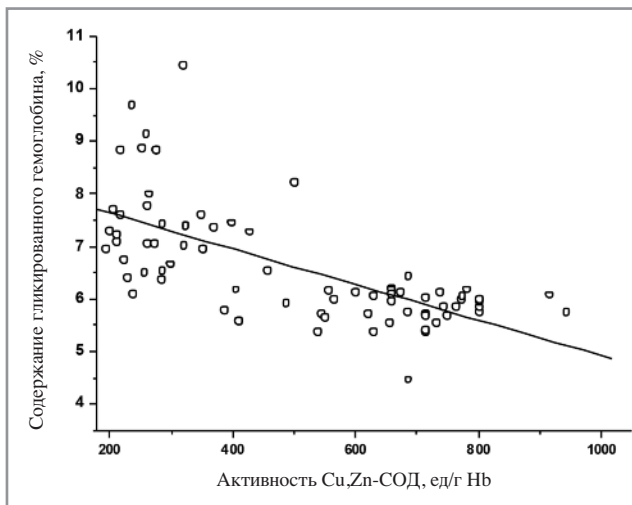


Рис. 2. Взаимосвязь между уровнем гликированного гемоглобина и активностью Cu,Zn-СОД в эритроцитах больных СД2 (исследование проведено с использованием образцов крови, полученных от 44 больных СД2 до проведения сахароснижающей терапии и через 2–3 мес после ее окончания).

окислительного стресса может быть уровень окЛПНП (МДА-модифицированных ЛПНП) [3, 4]. Действительно, в настоящей работе у больных СД2 нами выявлен значительно повышенный уровень окЛПНП (см. таблицу). Окислительный стресс сопровождается снижением уровня восстановленных тиолов в белках и пептидах крови [4]. Данные таблицы свидетельствуют о достоверном снижении уровня SH-групп в плазме крови в нашем исследовании, что находится в соответствии с данными других авторов по определению этих продуктов в эритроцитах больных СД2 [18, 19]. Сведения об отсутствии снижения SH-групп в плазме крови больных СД2 в литературе также имеются [24]. Данные об активности эритроцитарной СОД у больных СД2 достаточно противоречивы: в отдельных работах отмечено как увеличение [25], так и снижение [7, 26] активности этого фермента у больных СД2. Если увеличение активности СОД у больных СД2 представляется труднообъяснимым, то снижение активности этого фермента при диабете может быть связано с активным карбонилированием белков [24, 27], в котором могут участвовать накапливающиеся при СД2 в плазме крови низкомолекулярные дикарбонилы, подобные глиоксалу и метилглиоксалу [7, 28]. Данные настоящего исследования свидетельствуют о том, что инкубация нативных эритроцитов здоровых доноров с глиоксалем и метилглиоксалем сопровождается прогрессирующим падением активности СОД в красных кровяных клетках (см. рис. 1). Эти результаты показывают, что низкомолекулярные дикарбонилы легко диффундируют через эритроцитарную мембрану и вызывают альдегид-зависимую модификацию молекулы фермента, сопровождающуюся ингибированием его ак-

тивности. Можно полагать, что снижение активности СОД под действием дикарбониллов служит характерным проявлением карбонильного стресса, сопутствующего развитию СД2. Действительно, нами выявлена значимая обратная корреляция между уровнем гликированного гемоглобина и активностью эритроцитарной СОД у обследованных больных СД2 (см. рис. 2). Таким образом, представленные нами данные (окислительная модификация апопротеина В-100 и СОД, а также окисление сульфгидрильных групп белков и пептидов) убедительно доказывают наличие окислительного/карбонильного стресса как фактора развития СД2. Следует отметить, что окислительная модификация биополимеров при СД2 затрагивает не только полипептиды, но и нуклеиновые кислоты. В частности, нами обнаружено значительное уменьшение длины теломерных повторов в ДНК лейкоцитов плазмы крови у больных СД2 (см. таблицу), что соответствует данным литературы [29]. Окислительное повреждение молекул ДНК при СД2 подтверждает обнаруженное нами увеличение уровня конечного продукта деструкции ДНК – 8-охо-dG – в плазме крови и моче пациентов с СД2 (см. таблицу). Аналогичные данные ранее получены и другими исследователями [30, 31]. Несмотря на то что наличие отдельных факторов, свидетельствующих о развитии окислительного/карбонильного стресса при СД2, отмечено в работах ряда авторов (см. выше), комплексного исследования ключевых параметров окислительных модификаций полипептидов и нуклеиновых кислот при СД2 в рамках одного исследования ранее не проводилось.

Заключение

Таким образом, проведенное нами комплексное исследование группы больных СД2 с выраженными нарушениями углеводного обмена впервые выявило множественные нарушения, которые могут быть объяснены исключительно развитием окислительного и карбонильного стрессов при этом заболевании. Отмеченные нами определенная противоречивость и методическая несостоятельность некоторых ранее выполненных исследований до сих пор не позволяли представить последовательность и значимость окислительных повреждений биополимеров у больных СД2 на молекулярном уровне. Выявленная в нашей работе корреляционная зависимость между активностью эритроцитарной СОД и уровнем гликированного гемоглобина у пациентов с СД2, вероятно, может служить основой создания теста для определения дополнительного биохимического маркера СД2. Можно согласиться с авторами обзора литературы [32] в том, что врачи должны искать подходы для медикаментозного уменьшения окислительного стресса в процессе развития СД2, для чего необходимы сведения о молекулярных механизмах окислительных модификаций биополимеров при этом заболевании.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 14-15-00245.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Lankin VZ, Tikhaze A.K. Free radical lipoperoxidation during atherosclerosis and antioxidative therapy of this disease. In: Tomasi A, Ozben T, Skulachev V, eds. Free Radicals, Nitric Oxide and Inflammation: Molecular, Biochemical and Clinical Aspects. NATO Science Series, Amsterdam, etc.: IOS Press; 2003;344:218-231.
2. Ланкин В.З., Тихазе А.К., Капелько В.И., Шепелькова Г.С., Шумаев К.Б., Панасенко О.М., Коновалова Г.Г., Беленков Ю.Н. Меха-

низмы окислительной модификации липопротеинов низкой плотности при окислительном и карбонильном стрессе. *Биохимия*. 2007;72(10):1081-1090 [Lankin VZ, Tikhaze AK, Kapel'ko VI, Shepel'kova GS, Shumaev KB, Panasenکو OM, Konovalova GG, Belenkov YuN. Mechanisms of oxidative modification of low density lipoproteins under conditions of oxidative and carbonyl stress. *Biohimiya = Biochemistry (Mosc)*. 2007;72(10):1081-1090 (In Russ.)].

3. Lankin VZ, Konovalova GG, Tikhaze AK, Kumskova EM, Shumaev KB. Aldehyde-Dependent Modification of Low Density Lipoproteins. In: Rathbond JE, ed. Handbook of Lipoprotein Research. N.Y.: NOVA Sci. Publ.; 2010. P. 85-107.
4. Lankin VZ, Tikhaze AK. Role of Oxidative Stress in the Genesis of Atherosclerosis and Diabetes Mellitus: A Personal Look Back on 50 Years of Research. *Curr Aging Sci.* 2017;10(1):18-25. doi: 10.2174/1874609809666160926142640
5. Lankin VZ, Konovalova GG, Tikhaze AK, Shumaev KB, Kumskova EM, Viigimaa M. The Initiation of the Free Radical Peroxidation of Low-Density Lipoproteins by Glucose and Its Metabolite Methylglyoxal: a Common Molecular Mechanism of Vascular Wall Injury in Atherosclerosis and Diabetes. *Mol Cell Biochem.* 2014;395(1/2):241-252. doi: 10.1007/s11010-014-2131-2
6. Spittler G. Peroxyl radicals are essential reagents in the oxidation steps of the Maillard reaction leading to generation of advanced glycation products. *Ann NY Acad Sci.* 2008;1126(9):128-133. doi: 10.1196/annals.1433.031
7. Lankin VZ, Konovalova GG, Tikhaze AK, Shumaev KB, Belova-Kumskova EM, Grechnikova MA, Viigimaa M. Aldehyde inhibition of antioxidant enzymes in the blood of diabetic patients. *J Diabetes.* 2016;8(3):398-404. doi: 10.1111/1753-0407.12309
8. Houben JM, Moonen HJ, van Schooten FJ, Hageman GJ. Telomere length assessment: biomarker of chronic oxidative stress? *Free Radic Biol Med.* 2008;44(3):235-46. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2007.10.001
9. Evans MD, Cooke MS. Factors contributing to the outcome of oxidative damage to nucleic acids. *Bioessays.* 2004;26(5):533-542. doi: 10.1002/bies.20027
10. Olinski R, Siomek A, Rozalski R, Gackowski D, Foksinski M, Guz J, Dziaman T, Szpila A, Tudek B. Oxidative damage to DNA and antioxidant status in aging and age-related diseases. *Acta Biochim Pol.* 2007;54(1):11-26.
11. Hu ML. Measurements of protein thiol groups and glutathione in plasma. *Methods Enzymology.* 1994;233:381-385.
12. Cawthon RM. Telomere length measurement by a novel monochrome multiplex quantitative PCR method. *Nucleic Acids Res.* 2009;37(3):e21. doi: 10.1093/nar/gkn1027
13. Корчин В.И., Ланкин В.З., Яркова Р.Д., Коновалова Г.Г., Смирнов Л.Д., Кухарчук В.В. Антиоксидант пробукол предотвращает развитие аллоксанового диабета и уменьшает активность антиоксидантных ферментов в тканях крыс. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 1992;114(9):279-282 [Korchin VI, Lankin VZ, Iarkova RD, Konovalova GG, Smirnov LD, Kukharchuk VV. Antioxidant probucol prevents development of alloxan diabetes and decrease of antioxidant enzyme activity in rat tissues. *Byulleten' Eksperimental' noy Biologii i Meditsini.* 1992;114(9):279-282 (In Russ.)].
14. Lankin VZ, Korchin VI, Konovalova GG, Jarkova RD. Alloxan-induced diabetes as a model of free radical pathology. *Free Radic Biol Med.* 1994;16(1):15.
15. Ланкин В.З., Корчин В.И., Коновалова Г.Г., Лисина М.О., Тихазе А.К., Акмаев И.Г. Роль антиоксидантных ферментов и антиоксиданта пробукола в антирадикальной защите β -клеток поджелудочной железы при аллоксановом диабете. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2004;137(1):27-30 [Lankin VZ, Korchin VI, Konovalova GG, Lisina MO, Tikhaze AK, Akmaev IG. Role of antioxidant enzymes and antioxidant compound probucol in antiradical protection of pancreatic beta cells during alloxan-induced diabetes. *Byulleten' Eksperimental' noy Biologii i Meditsini.* 2004;137(1):20-30 (In Russ.)].
16. Oberley LW. Free radicals and diabetes. *Free Radic Biol Med.* 1988;5(2):113-124.
17. Aydin A, Orhan H, Sayal A, Ozata M, Sahin G, İşimer A. Oxidative stress and nitric oxide related parameters in type II diabetes mellitus: effects of glycemic control. *Clin Biochem.* 2001;34(1):65-70.
18. Pasaoglu H, Sancak B, Bukan N. Lipid peroxidation and resistance to oxidation in patients with type 2 diabetes mellitus. *Tohoku J Exp Med.* 2004;203(3):211-218.
19. De Bona KS, Bellé LP, Bittencourt PE, Bonfanti G, Cargnelluti LO, Pimentel VC, Ruviano AR, Schetinger MR, Emanuelli T, Moretto MB. Erythrocytic enzymes and antioxidant status in people with type 2 diabetes: beneficial effect of *Syzygium cumini* leaf extract in vitro. *Diabetes Res Clin Pract.* 2011;94(1):84-90. doi: 10.1016/j.diabres.2011.06.008
20. Piconi L, Quagliario L, Ceriello A. Oxidative stress in diabetes. *Clin Chem Lab Med.* 2003;41(9):1144-1149.
21. Ланкин В.З., Гуревич С.М., Бурлакова Е.Б. Изучение аскорбат-зависимого переокисления липидов тканей при помощи теста с 2-тиобарбитуровой кислотой. В кн.: Иванов И.И., редактор. Биоантиокислители. Москва: Наука; 1975. С. 73-78 [Lankin VZ, Gurevich SM, Burlakova EB. Study of ascorbate-dependent reoxidation of tissue lipids by a test with 2-thiobarbituric acid. In: Ivanov II, editor. *Bioantikisliteli* [Bioantioxidants]. Moscow: Science; 1975. P. 73-78 (In Russ.)].
22. Nourooz-Zadeh J, Rahimi A, Tajaddini-Sarmadi J, Tritschler H, Rosen P, Halliwell B, Betteridge DJ. Relationships between plasma measures of oxidative stress and metabolic control in NIDDM. *Diabetologia.* 1997;40(6):647-653. doi: 10.1007/s001250050729
23. Ланкин В.З., Лисина М.О., Арзамасцева Н.Е., Коновалова Г.Г., Недосугова Л.В., Каминный А.И., Тихазе А.К., Агеев Ф.Т., Кухарчук В.В., Беленков Ю.Н. Окислительный стресс при атеросклерозе и диабете. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2005;140(7):48-51 [Lankin VZ, Lisina MO, Arzamastseva NE, Konovalova GG, Nedosugova LV, Kaminniy AI, Tikhaze AK, Ageev FT, Kukharchuk VV, Belenkov YuN. Oxidative stress in atherosclerosis and diabetes. *Byulleten' Eksperimental' noy Biologii i Meditsini.* 2005;140(7):48-51 (In Russ.)].
24. Cakatay U. Protein oxidation parameters in type 2 diabetic patients with good and poor glycaemic control. *Diabetes Metab.* 2005;31(6):551-557.
25. Cooper GJ, Chan YK, Dissanayake AM, Leahy FE, Keogh GF, Frampton CM, Gamble GD, Brunton DH, Baker JR, Poppitt SD. Demonstration of a hyperglycemia-driven pathogenic abnormality of copper homeostasis in diabetes and its reversibility by selective chelation: quantitative comparisons between the biology of copper and eight other nutritionally essential elements in normal and diabetic individuals. *Diabetes.* 2005;54(5):1468-1476.
26. Awadallah SM, Ramadan AR, Nusier MK. Haptoglobin polymorphism in relation to antioxidative enzymes activity in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Metab Syndr.* 2013;7(1):26-31. doi: 10.1016/j.dsx.2013.02.024
27. Martín-Gallán P, Carrascosa A, Gussinyé M, Domínguez C. Biomarkers of diabetes-associated oxidative stress and antioxidant status in young diabetic patients with or without subclinical complications. *Free Radic Biol Med.* 2003;34(12):1563-1574. doi: 10.1016/S0891-5849(03)00185-0
28. Khan MA, Anwar S, Aljarbou AN, Al-Orainy M, Aldebasi YH, Islam S, Younus Hint. Protective effect of thymoquinone on glucose or methylglyoxal-induced glycation of superoxide dismutase. *Int J Biol Macromol.* 2014;65:16-20. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2014.01.001
29. Sampson MJ, Winterbone MS, Hughes JC, Dozio N, Hughes DA. Monocyte telomere shortening and oxidative DNA damage in type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2006;29(2):283-289.
30. Waris S, Winkhofer-Roob BM, Roob JM, Fuchs S, Sourij H, Rabhani N, Thornalley PJ. Increased DNA dicarbonyl glycation and oxidation markers in patients with type 2 diabetes and link to diabetic nephropathy. *J Diabetes Res.* 2015;2015, Article ID 915486, 10 p. doi: 10.1155/2015/915486
31. Leinonen J, Lehtimäki T, Toyokuni S, Okada K, Tanaka T, Hiai H, Ochi H, Laippala P, Rantalaiho V, Wirta O, Pasternack A, Alho H. New biomarker evidence of oxidative DNA damage in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *FEBS Lett.* 1997;417(1):150-152.
32. Unger J. Reducing oxidative stress in patients with type 2 diabetes mellitus: A primary care call to action. *Insulin.* 2008;3(3):176-184. doi: 10.1016/S1557-0843(08)80037-1

Поступила 26.01.2018