

УДК 615.252.349.7:616.379-008.64-092.4



ГИПОГЛИКЕМИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ КОМБИНАЦИИ СИТАГЛИПТИНА С АМИНОГУАНИДИНОМ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

Д.В. Куркин, Д.А. Бакулин, Е.И. Морковин, Ю.В. Горбунова, А.В. Стрыгин,
Т.М. Андриашвили, А.А. Соколова, Н.С. Болохов, В.Э. Пустынников, Е.А. Фомичев

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
400131, Россия, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, д. 1

E-mail: strannik986@mail.ru

Получена 16.09.2022

После рецензирования 15.11.2022

Принята к печати 11.12.2022

Цель. Определить эффективность противодиабетического действия комбинации ситаглиптина с аминугуанидином у крыс с экспериментальным сахарным диабетом.

Материалы и методы. Исследование проведено на крысах-самцах линии Wistar и мышах линии C57BL/KsJ-db/db. Согласно используемым моделям, оно было разделено на 4 серии, в которых формировали аллоксановый, стероид-индуцированный (дексаметазоновый) и стрептозотоцин-никотинамид-индуцированный сахарный диабет (СД) у крыс. В 4 серии использовали склонных к ожирению мышей линии C57BL/KsJ-db/db. В 1 и 2 сериях лечение начинали профилактически – через 3 ч после введения аллоксана и одновременно с введением дексаметазона; в 3 и 4 сериях лечение проводили после сформировавшейся патологии – через 7 сут после введения стрептозотоцина с никотинамидом и у мышей с ожирением сразу после их распределения по группам. В качестве лечения вводили ситаглиптин (10 мг/кг), аминугуанидин (25 мг/кг) или их комбинацию. Лечение проводили до конца эксперимента, который завершали пероральным тестом на толерантность к глюкозе (ПТТГ) после 4 ч голодания. Полученные данные подвергались статистической обработке.

Результаты. В ходе проведенных экспериментов было установлено, что профилактическое введение комбинации ситаглиптина с аминугуанидином, в отличие от каждого из компонентов, предотвращало развитие аллоксанового СД, а также более эффективно, чем введение только ситаглиптина снижало выраженность стероид-индуцированного СД, что выражалось в значительно более низком уровне гликемии натощак (через 4 ч голодания) и постпрандиальной гликемии (в ходе проведения ПТТГ). В условиях стрептозотоцин-никотинамид-индуцированного СД исследуемая комбинация замедляла прогрессирование патологии, а у мышей с ожирением терапевтическое курсовое введение ситаглиптина и его комбинации снижало тяжесть нарушения углеводного обмена (уровень гликемии натощак) и увеличивало скорость утилизации глюкозы.

Заключение. Аминугуанидин как блокатор iNOS усиливал противодиабетическое действие ситаглиптина, предотвращая развитие аллоксанового диабета и уменьшая выраженность стероид-индуцированного СД при профилактическом введении, а при лечебном курсовом введении снижал тяжесть течения стрептозотоцин-никотинамид-индуцированного СД у крыс и СД 2 типа у мышей с предрасположенностью к ожирению.

Ключевые слова: ингибиторы ДПП-4; ситаглиптин; доклинические исследования; сахарный диабет; аллоксан; стрептозотоцин

Список сокращений: eNOS – эндотелиальная синтаза оксида азота; iNOS – индуцибельная синтаза оксида азота; nNOS – нейрональная синтаза оксида азота; NO – оксид азота (II); ГПП-1 – глюкагоноподобный пептид-1; иДПП-4 – ингибиторы дипептидилпептидазы-4; ПТТГ – пероральный тест на толерантность к глюкозе; СД – сахарный диабет; ССД – стероид-индуцированный сахарный диабет.

Для цитирования: Д.В. Куркин, Д.А. Бакулин, Е.И. Морковин, Ю.В. Горбунова, А.В. Стрыгин, Т.М. Андриашвили, А.А. Соколова, Н.С. Болохов, В.Э. Пустынников, Е.А. Фомичев. Гипогликемическое действие комбинации ситаглиптина с аминугуанидином при экспериментальном сахарном диабете. *Фармация и фармакология*. 2022;10(6):536-548. DOI: 10.19163/2307-9266-2022-10-6-536-548

© Д.В. Куркин, Д.А. Бакулин, Е.И. Морковин, Ю.В. Горбунова, А.В. Стрыгин, Т.М. Андриашвили, А.А. Соколова, Н.С. Болохов, В.Э. Пустынников, Е.А. Фомичев, 2022

For citation: D.V. Kurkin, D.A. Bakulin, E.I. Morkovin, Yu.V. Gorbunova, A.V. Strygin, T.M. Andriashvili, A.A. Sokolova, N.S. Bolokhov, V.E. Pustynnikov, E.A. Fomichev. Hypoglycemic effect of sitagliptin and aminoguanidine combination in experimental diabetes mellitus. *Pharmacy & Pharmacology*. 2022;10(6):536-548. DOI: 10.19163/2307-9266-2022-10-6-536-548

HYPOGLYCEMIC EFFECT OF SITAGLIPTIN AND AMINO GUANIDINE COMBINATION IN EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS

D.V. Kurkin, D.A. Bakulin, E.I. Morkovin, Yu.V. Gorbunova, A.V. Strygin,
T.M. Andriashvili, A.A. Sokolova, N.S. Bolokhov, V.E. Pustynnikov, E.A. Fomichev

Volgograd State Medical University,
1, Pavshikh Bortsov Sq., Volgograd, Russia, 400131

E-mail: strannik986@mail.ru

Received 16 Sep 2022

After peer review 15 Nov 2022

Accepted 11 Dec 2022

The aim of the work was to determine the antidiabetic effect of a sitagliptin and aminoguanidine combination in rats with experimental diabetes mellitus.

Materials and methods. The study was carried out on male Wistar rats and C57BL/KsJ-db/db mice. According to the models used, it was divided into 4 series, in which alloxan, steroid-induced (dexamethasone) and streptozotocin-nicotinamide-induced diabetes mellitus (DM) were formed, respectively, in rats, and in the 4 series, obese C57BL/KsJ-db/db mice were used. In the 1 and 2 series, the treatment was started prophylactically – 3 h after the alloxan administration and simultaneously with the dexamethasone administration, in the 3rd and 4th series, the treatment was carried out after the pathology had developed – 7 days after the streptozotocin with nicotinamide administration, and in the obese mice – immediately after their distribution according to the groups. The treatment was carried out with sitagliptin (10 mg/kg), aminoguanidine (25 mg/kg), or a combination thereof. The treatment was continued till the end of the experiment, which was completed with an oral glucose tolerance test (OGTT) after 4 h of fasting. The obtained data were subjected to statistical processing.

Results. In the course of the experiments, it was found out that the prophylactic administration of a sitagliptin and aminoguanidine combination, unlike each of the components, prevented the development of alloxan DM. More effectively than the administration of sitagliptin alone, it reduced the severity of steroid-induced DM, which was expressed in a significantly lower level of fasting glycemia (after 4 h of fasting) and postprandial glycemia (during OGTT). Under the conditions of streptozotocin-nicotinamide-induced DM, the studied combination slowed down the progression of the pathology, and in the obese mice, the course therapeutic administration of sitagliptin and its combination reduced the severity of carbohydrate metabolism disorders (fasting glycemia) and increased the rate of glucose utilization.

Conclusion. As an iNOS blocker, aminoguanidine enhances the antidiabetic effect of sitagliptin, preventing the development of alloxan diabetes and reducing the severity of steroid-induced DM when administered prophylactically. When administered therapeutically, it reduces the severity of streptozotocin-nicotinamide-induced DM in rats and type 2 DM in mice with a predisposition to obesity.

Keywords: DPP-4 inhibitors; sitagliptin; preclinical studies; diabetes; alloxan; streptozotocin

Abbreviations: eNOS – endothelial nitric oxide synthase; iNOS – inducible nitric oxide synthase; nNOS – neuronal nitric oxide synthase; NO – nitric oxide (II); GLP-1 – glucagon-like peptide-1; DPP-4 inhibitors – inhibitors of dipeptidyl peptidase-4; OGTT – oral glucose tolerance test; DM – diabetes mellitus; SDM – steroid-induced diabetes mellitus.

ВВЕДЕНИЕ

Количество зарегистрированных в России пациентов с сахарным диабетом (СД) на начало 2021 г. составляло почти 4,8 млн человек [1]. При этом в мире по оценкам Международной диабетической федерации (IDF) эта цифра превысила 536 млн человек в 2021 г. (диагностированные и недиагностированные случаи) и по ее прогнозам к 2045 г. это число увеличится на 46%, достигнув 783,2 млн человек [2]. Низкая доступность современных гипогликемических лекарственных средств существенно ограничивает эффективность эндокринологической службы и медико-социальных мер, направленных на сдерживание СД и родственных ему заболеваний. Современные рекомендации по терапии СД указывают на целесообразность раннего начала лечения с использованием рациональных комбинаций препаратов, а также отмечают важность профилактики сосудистых осложнений СД [3, 4].

Стероид-индуцированный сахарный диабет (ССД) также распространенная и потенциально опасная проблема в клинической практике, затрагивающая почти все медицинские специальности, однако обнаружить её в клинических условиях очень трудно. Глюкокортикоиды широко используются как сильнодействующие противовоспалительные и иммунодепрессивные препараты для лечения широкого спектра заболеваний. Однако они также связаны с рядом побочных эффектов, включая впервые возникшую гипергликемию у пациентов без СД в анамнезе или тяжелую неконтролируемую гипергликемию у пациентов с диагностированным СД [5]. Механизм развития ССД включает снижение чувствительности к инсулину (соответственно утилизации глюкозы) в тканях-мишенях с последующим усилением катаболических процессов (протеолиза и липолиза) и повышением продукции глюкозы печенью (вследствие

стимуляции глюконеогенеза и гликогенолиза), а также подавление синтеза инсулина, в том числе из-за прямого повреждающего эффекта стероидов на β -клетки поджелудочной железы [5].

В настоящее время научно обоснованные и надежно апробированные методы предупреждения и профилактики ССД малочисленны. Как и в случае других видов СД, применяются принципы раннего выявления и модификации факторов риска. Скрининг на ССД следует проводить у всех пациентов, получающих средние и высокие дозы глюкокортикоидов. Проблемы в лечении ССД связаны с большими колебаниями постпрандиальной гипергликемии и отсутствием четких протоколов лечения. Наряду с изменением образа жизни показаны гипогликемические препараты с инсулин-сенситизирующим действием [6, 7]. Тем не менее, инсулинотерапия часто неизбежна, поэтому инсулин можно считать препаратом выбора. При лечении ССД следует учитывать степень и характер гипергликемии, а также тип, дозу и режим приема глюкокортикоидов. Кроме того, важно проинструктировать пациента и/или его семью о том, как выполнять необходимые регулировки. Для ответа на оставшиеся вопросы, касающиеся ССД, необходимы проспективные исследования. Считается, что гипергликемия, возникшая на фоне применения глюкокортикоидов, проходит после их отмены, но это не всегда подтверждается на практике. Обратная ситуация возникает чаще, особенно у лиц с наличием факторов риска в виде ожирения или преддиабета, что подтверждается данными пациентов, перенесших COVID-19 [8].

Ингибиторы дипептидилпептидазы-4 (иДПП-4) обладают умеренной гипогликемической активностью и часто используются для создания рациональных комбинаций гипогликемических препаратов. Препараты этой фармакотерапевтической группы разрабатываются уже на протяжении более, чем 30 лет в том числе ведущими фармацевтическими компаниями по всему миру [9]. Отличительной особенностью препаратов с инкретиновой активностью, к которым относятся иДПП-4, является ряд плейотропных эффектов, связанных со снижением риска развития сердечно-сосудистых осложнений СД [10]. В России иДПП-4 активно используются при комбинированной терапии СД. Характеристики отечественного рынка иДПП-4 обобщены на рисунке 1.

Аминогуанидин является ингибитором синтеза оксида азота с высокой (в 50 раз) специфичностью в отношении её индуцибельной изоформы (iNOS), а также ингибитором образования конечных продуктов гликирования [11]. В экспериментальных условиях введение аминогуанидина задерживало формирование аутоиммунного СД, скорость образования бляшек в условиях диеты с избытком холестерина и улучшало течение аллоксанового

СД [12–14]. Результаты ряда исследований свидетельствуют в пользу существенной роли оксида азота в развитии аутоиммунного диабета, также указывает на целесообразность использования селективных ингибиторов iNOS для ослабления болезненных состояний, связанных с его экспрессией и повышенной продукцией оксида азота [13–15]. Оксид азота может рассматриваться в качестве одной из мишеней для терапии СД и его осложнений, поскольку доказана его роль в модуляции секреции инсулина и его сигнальных путей [16]. Внимание многих исследователей сосредоточено на изучении роли iNOS в патогенезе многих заболеваний, в том числе на формировании инсулинорезистентности и гибели β -клеток при СД. Известно, что этот фермент может быть индуцирован многими воспалительными цитокинами, повышенная экспрессия которых сопровождает СД и ожирение [14, 15, 18].

В рамках поиска средств профилактики сосудистых осложнений СД аминогуанидин ранее исследовался в качестве антигликирующего агента и препарата для лечения диабетической нефропатии [19]. Однако клинические испытания аминогуанидина были прекращены на III фазе из-за соображений безопасности и недостаточной эффективности. Тем не менее, терапевтический потенциал аминогуанидина представляет интерес в рамках разработки новых патогенетических подходов для лечения СД и его осложнений путем создания рациональных комбинаций. Для этого целесообразно изучить потенциал комбинации средств с инкретиновой активностью, улучшающего функцию β -клеток и ингибитора iNOS аминогуанидина, который способен снизить аутоагрессию иммунной системы в отношении β -клеток при СД, а также обладающий свойствами антигликирующего агента.

ЦЕЛЬ. Изучить гипогликемическое действие комбинации ситаглиптина с аминогуанидином в условиях различных моделей экспериментального сахарного диабета.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Модельные объекты

Все эксперименты были выполнены в соответствии с законодательством Российской Федерации и техническими стандартами Евразийского экономического союза по надлежащей лабораторной практике (ГОСТ Р 53434-2009, ГОСТ Р 51000.4-2011). Дизайн исследования одобрен Региональным независимым этическим комитетом, регистрационный номер: ИРБ 00005839 IORG 0004900 (OHPR), о чем свидетельствует выписка из протокола № 132 от 20 мая 2019 г. заседания комиссии по экспертизе исследования этического комитета при ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России.

Работу выполняли на 150 самцах крыс линии Wistar (возраст 6 мес, масса тела 300–350 г, ПЛЖ

«Рапполово»), и 40 самцах мышей линии C57BL/KsJ-db/db (возраст 4–5 мес, масса тела 50–60 г), для которых характерно выраженное ожирение и спонтанно развивающийся тяжёлый СД, вызывающий по мере прогрессирования некроз β -клеток, нефро-, нейро-, ретинопатию и другие осложнения. Мыши данной линии несут аутосомно-рецессивную мутацию в гене рецептора лептина (8-я группа сцепления, 4-я хромосома), в гомозиготном состоянии вызывающую гиперлептинемию, гиперинсулинемию, дислипидемию, гипергликемию, ожирение и диабет, который при этом сложно корректировать препаратами из группы иДПП-4 в монотерапии [20]. В качестве контрольных использовали 10 мышей линии C57BL/KsJ-db+/+m (ген *m* – *misty*, рецессивный, осветляющий окраску маркер оппозитивной хромосомы, не несущий гена *db*), без ожирения и без диабета (возраст 4–5 мес, масса тела 20–25 г) [21, 22]. Всех мышей получали из питомника лабораторных животных «Столовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России. После поступления из питомника животных помещали на карантин длительностью 14 сут в виварий ВолгГМУ, в помещении которого они содержались на протяжении всего эксперимента при $20 \pm 2^\circ\text{C}$ в условиях 40–60% влажности в условиях сменяющегося цикла день/ночь (12/12 ч) с неограниченным доступом к корму и воде.

Моделирование патологии

У крыс нарушение углеводного обмена вызывали многократным внутрибрюшинным введением дексаметазона (раствор для инъекций 4 мг/мл; КРКА, Словения) в дозе 20 мг/кг/сут (в течение 7 дней) или однократным внутрибрюшинным введением аллоксана (130 мг/кг; Sigma-Aldrich, США) [23] или стрептозотоцина (65 мг/кг; через 15 мин после 230 мг/кг никотинамида; Sigma-Aldrich, США) [24]. Аллоксан и стрептозотоцин вводили животным после 36 ч голодания, которое обеспечивает лучшую воспроизводимость данных моделей из-за снижения уровня гликемии к нижней границе референсного диапазона и уменьшения вариабельности её уровня между животными [24]. Механизм диабетогенного действия этих веществ схематично отображен на рисунке 2. Аллоксан и стрептозотоцин благодаря способности избирательно взаимодействовать с переносчиком глюкозы GLUT2 накапливаются в β -клетках поджелудочной железы и оказывают селективное для них, но разное по механизму, цитотоксическое действие. Введение аллоксана приводит к развитию оксидативного стресса и последующей гибели бета-клеток, и вызывает состояние выраженной гипергликемии, которое может соответствовать СД 1 типа. При этом возможно поражение клеток печени и почек из-за незначительной экспрессии GLUT2. Цитостатический эффект стрептозотоцина развивается в

результате алкилирования нуклеиновых кислот и повышения генерации активных форм кислорода. Алкилирование ДНК приводит к ошибкам в репарации, которые, накапливаясь, влекут за собой гибель клетки через активацию механизмов апоптоза. При этом совместное со стрептозотоцином введение никотинамида позволяет снизить активность PARP-1, что, в свою очередь, снижает активность SOS-репарации и несколько уменьшает интенсивность процессов апоптоза. Введение стрептозотоцина и никотинамида в определенных дозах (и в определенных соотношениях) позволяет добиться частичного снижения β -клеточной массы с развитием состояния умеренной гипергликемии которое может соответствовать одной из форм СД 2 типа, характеризующейся нарушением секреции инсулина без инсулинорезистентности [25].

Дизайн исследования

Общий дизайн исследования представлен ниже на рисунке 3. Исследование выполняли в 4 серии: в первой лечение начинали через 3 ч после введения аллоксана, во второй – одновременно с первой инъекцией дексаметазона, в третьей – через 7 сут после введения стрептозотоцина, а в четвертой – после прохождения карантина и распределения на группы. В качестве лечения вводили ситаглиптин (Янувия, 10 мг/кг/сут, *per os*) или аминоксидин (Sigma, 25 мг/кг/сут, в/б) или их комбинацию (доза, режим и путь введения для каждого препарата сохранялся). В 1 и 2 сериях, в которых лечение начинали до развития патологии, животных распределяли на группы случайным образом перед введением исследуемых препаратов. В 3 серии (стрептозотоцин-никотинамид индуцированный СД) и в 4 серии (мыши с ожирением) у животных со сформированной патологией предварительно измеряли уровень гликемии. Рандомизации в экспериментальные группы подлежали крысы и мыши с уровнем гликемии натощак более 11 ммоль/л. Лечение начинали сразу после разделения по группам. Эффективность терапии оценивали путем измерения концентрации глюкозы (глюкометр Контур ТС, Bayer, Германия) в крови после 4 ч голодания и/или при проведении перорального теста на толерантность к глюкозе (ПТТГ). Для этого теста регистрировали уровень гликемии до, а также через 60 и 120 мин после перорального введения водного 40% раствора глюкозы в дозе 4 г/кг с последующим расчётом площади под кривой зависимости «уровень гликемии – время» (AUC_{0-120}).

В каждой серии исследования животных разделяли на равные ($n=10$) группы: интактная, диабет + плацебо (0,9% раствор NaCl) – «Плацебо», диабет + ситаглиптин – «Сит», диабет + аминоксидин – «Амг», диабет + ситаглиптин + аминоксидин – «Сит + Амг». Дозы веществ подбирали с учетом литературных данных [19, 26].

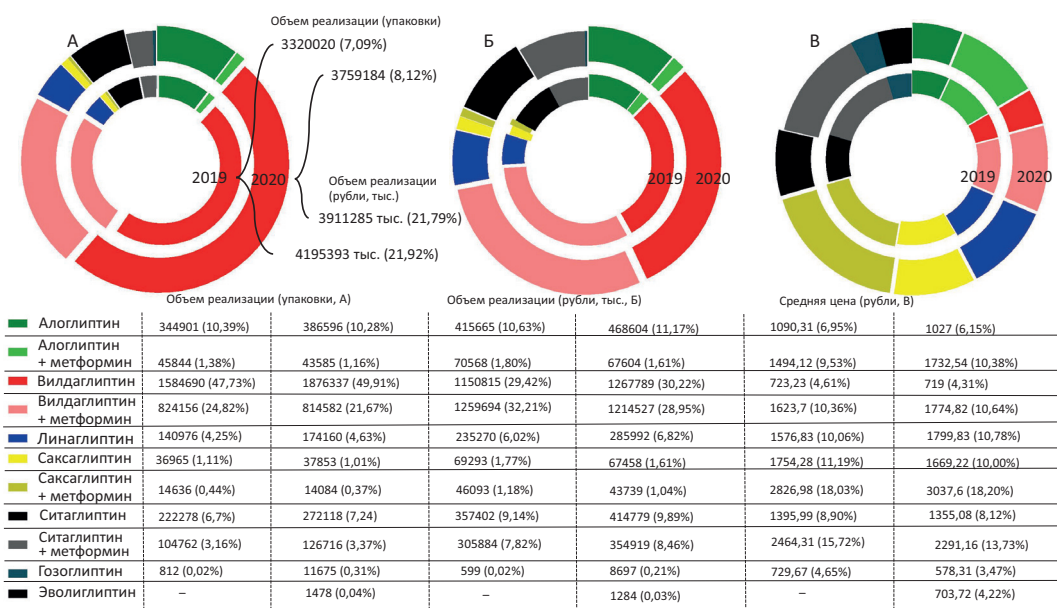


Рисунок 1 – Некоторые показатели отечественного рынка ИДПП-4 (по данным DSM Group)¹
Примечание: данные представлены в российских рублях, на 1 августа 2022 г. 1 доллар США (USD) соответствовал 61,3 российским рублям (RUB).

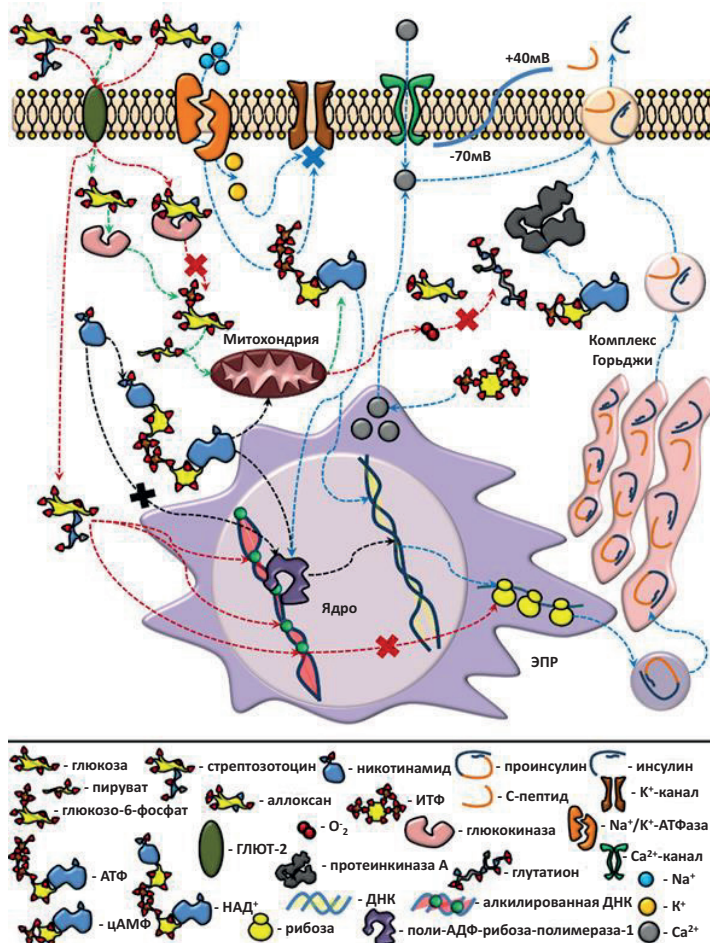


Рисунок 2 – Механизм диабетогенного действия стрептозотоцина и аллоксана, адаптировано из [25]

Примечание: АДФ – аденозиндифосфат; АТФ – аденозинтрифосфат; ГЛЮТ-2 – глюкозный транспортер тип 2; ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота; ИТФ – инозитол 1,4,5-трифосфат; мВ – милливольт; НАД⁺ – никотинамидадениндинуклеотид (окисленный); цАМФ – циклический аденозинмонофосфат; ЭПР – эндоплазматический ретикулум.

¹ Данные были официально приобретены у компании DSM Group, на их основе произведены расчёты и представлены диаграммы.

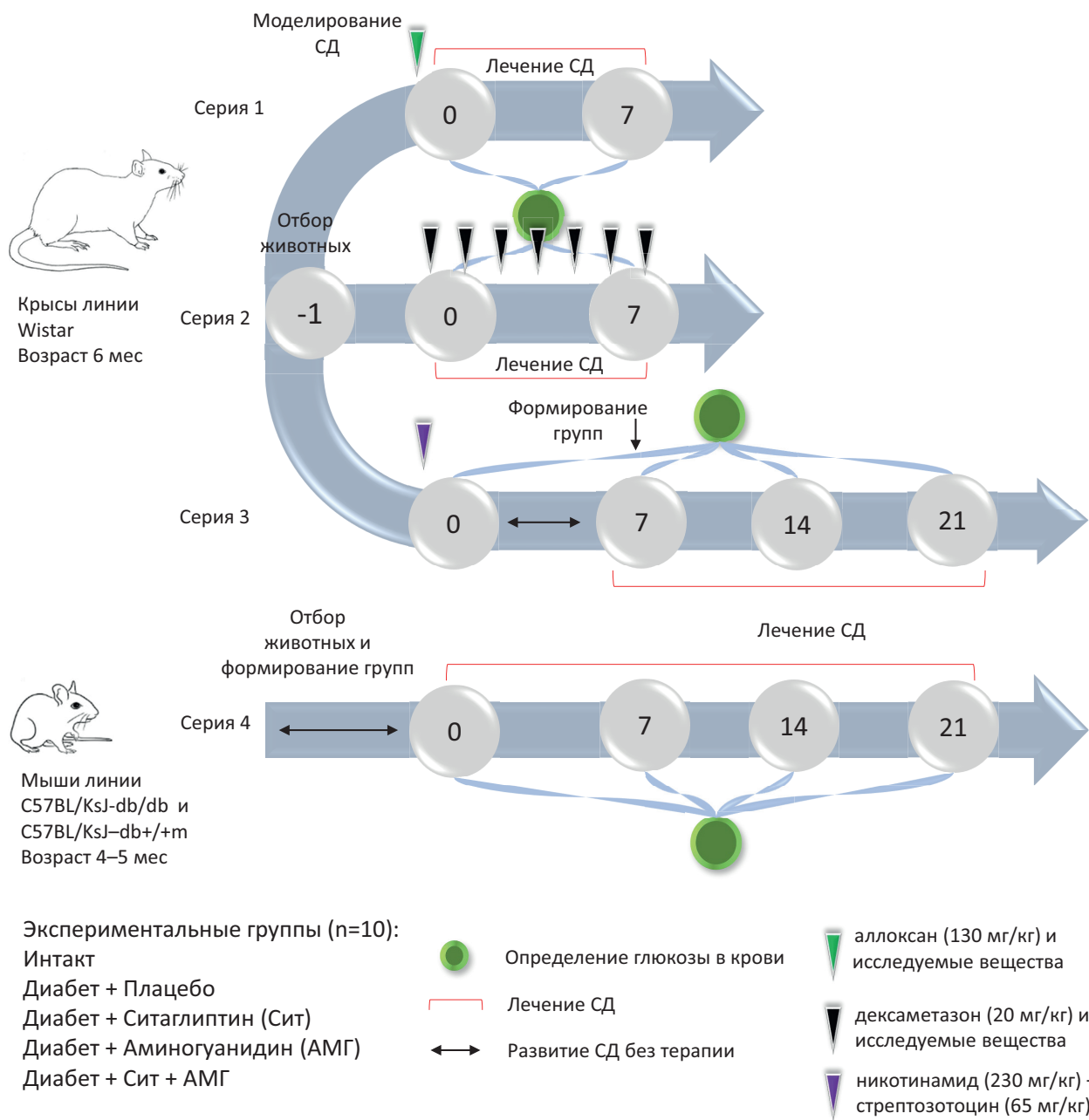


Рисунок 3 – Дизайн исследования
 Примечание: АМГ – аминогуанидин; СД – сахарный диабет; Сит – ситаглиптин.

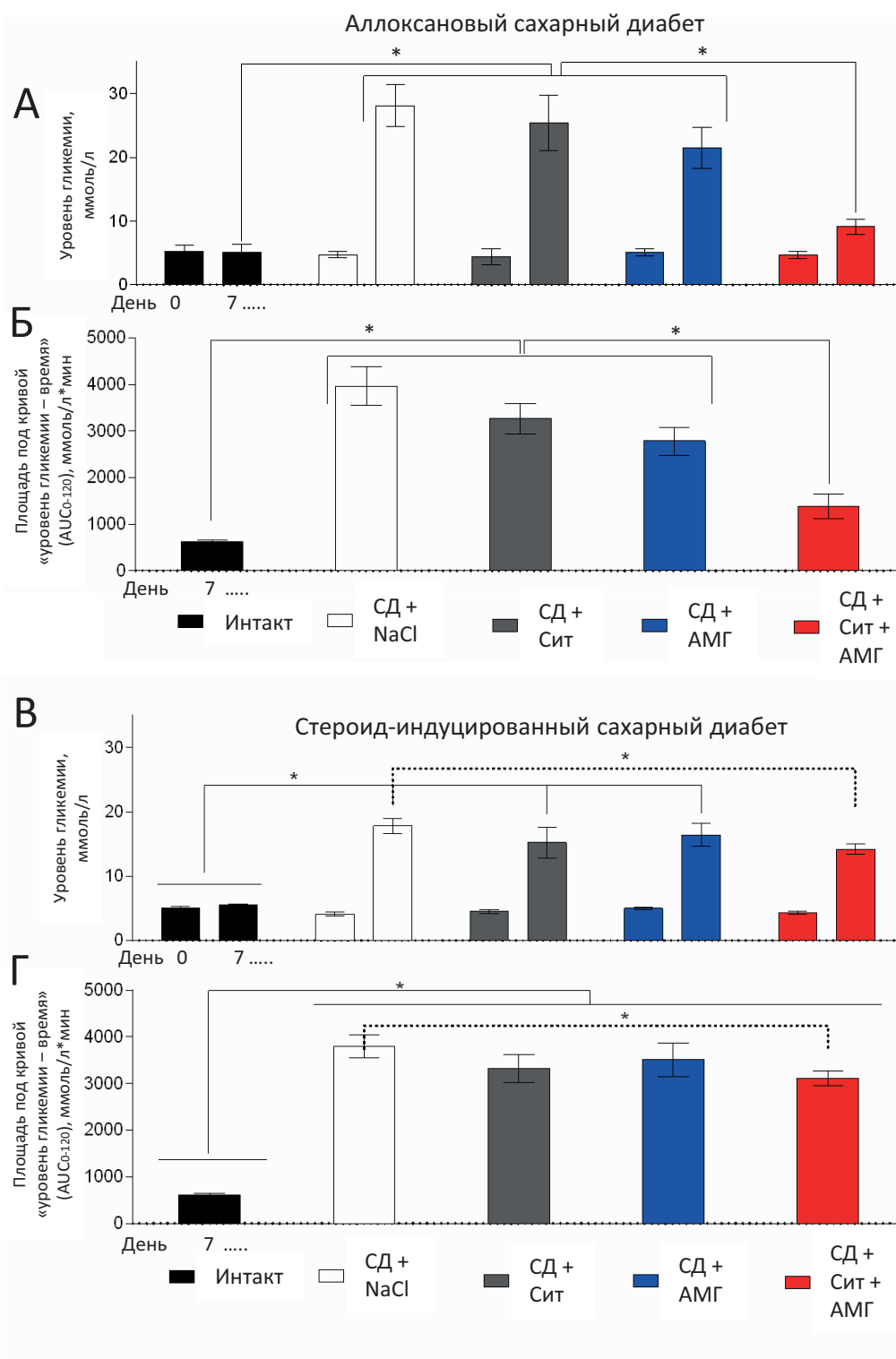
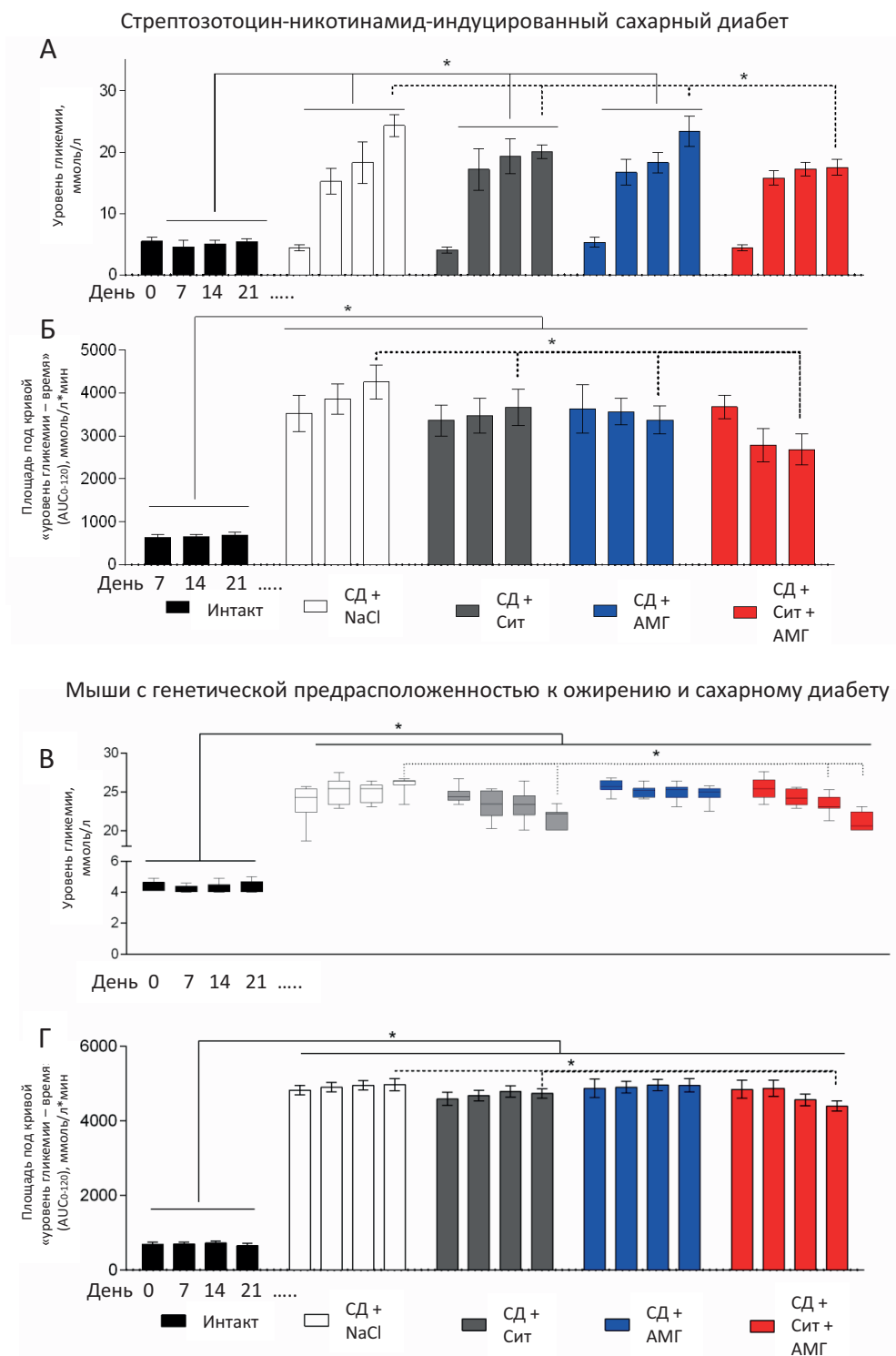


Рисунок 4 – Влияние ситаглиптина, аминугуанидина и их комбинации при профилактическом введении крысам с аллоксановым (А, Б) и стероид-индуцированным (В, Г) СД на уровень глюкозы в крови натощак (ммоль/л; А, В) и её утилизацию при пероральном тесте на толерантность к глюкозе (AUC_{0-120} , ммоль/л*мин; Б, Г)

Примечание: А – первый столбик – значения до моделирования СД (аллоксан, день 0), второй – после лечения (день 7); Б – площадь под кривой «уровень гликемии – время» (AUC_{0-120}) через 7 дней после лечения СД, вызванного введением аллоксана; В – первый столбик – значения до моделирования СД (дексаметазон, день 0), второй – после лечения (день 7); Г – AUC_{0-120} через 7 дней после лечения СД, вызванного введением дексаметазона; * – $p < 0,05$ однофакторный дисперсионный анализ с пост-тестом Ньюмена-Кейлса; сравниваемые выборки обозначены линиями.



Мыши с генетической предрасположенностью к ожирению и сахарному диабету

Рисунок 5 – Влияние ситаглиптина, аминогуанидина и их комбинации при лечебном введении крысам со стрептозотоцин-никотинамид-индуцированным СД (А, Б) и у мышей линии C57BL/KsJ-db/db с генетической предрасположенностью к СД (В, Г) на уровень глюкозы в крови натощак (ммоль/л; А, В) и её утилизацию при пероральном тесте на толерантность к глюкозе (AUC₀₋₁₂₀, ммоль/л*мин; Б, Г) до и после лечения

Примечание: А – первый столбик – значения до моделирования СД (стрептозотоцин, день 0), второй – до лечения (день 7), третий и четвертый соответственно после лечения; Б – первый столбик – до лечения (день 7), второй, третий столбик – AUC₀₋₁₂₀ соответственно после лечения; В – первый столбик – значения до лечения (день 0), второй, третий и четвертый – соответственно через 7, 14 и 21 день после лечения; Г – первый столбик – значения до лечения (день 0), второй, третий и четвертый – соответственно через 7, 14 и 21 день после лечения; * – p<0,05 однофакторный дисперсионный анализ с пост-тестом Ньюмена-Кейлса; сравниваемые выборки обозначены линиями.

Статистическая обработка

Статистическую обработку полученных результатов проводили методами описательной и аналитической статистики с применением программного обеспечения Prism 6 (GraphPad Software Inc., США). Распределение количественных показателей оценивали с использованием критерия Шапиро-Уилка. Межгрупповые различия оценивали при помощи однофакторного дисперсионного анализа с пост-тестом Ньюмена-Кейлса. Различия признавались значимыми при $p < 0,05$. Цифровые значения представляли в виде гистограмм с использованием среднего арифметического и стандартной ошибки среднего арифметического ($M \pm SD$), а также в виде диаграмм размаха с указанием медианы, 25-го и 75-го перцентиля.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Введение аллоксана вызывает выраженное токсическое действие в отношении β -клеток поджелудочной железы: через 7 дней после введения у животных, которым одновременно с аллоксаном вводили физиологический раствор (плацебо), концентрация глюкозы в крови была максимальной и составила $28,1 \pm 3,3$ ммоль/л (скорость утилизации глюкозы при проведении ПТТГ в данной группе была минимальной; Рис. 4А и Б). Это свидетельствует о выраженном нарушении углеводного обмена вследствие деструкции β -клеток поджелудочной железы.

Одновременное с аллоксаном введение ситаглиптина или аミノгуанидина существенно не влияло на тяжесть возникающих нарушений метаболизма глюкозы, уровень гипергликемии у животных составлял $25,4 \pm 4,3$ ммоль/л или $21,5 \pm 3,2$ ммоль/л соответственно. Совместное введение ситаглиптина и аミノгуанидина оказывало выраженное протективное действие, поскольку у животных этой группы концентрация глюкозы составляла $9,1 \pm 1,2$ ммоль/л (скорость утилизации глюкозы при ПТТГ также была значительно выше, чем у животных других групп, $p \leq 0,05$; Рис. 4А и Б). Таким образом, профилактическое введение комбинации ситаглиптина (идПП-4) с аミノгуанидином (ингибитора iNOS) предотвратило развитие аллоксанового СД. Это может быть следствием сочетания протективного действия инкретинов и ингибирующего действия аミノгуанидина в отношении iNOS: фермента, который, вызывая секрецию большого количества NO, значительно усиливает апоптоз и соответственно потенцирует цитотоксическое действие аллоксана, а соответственно его блокада препятствует возникновению оксидативного стресса и снижает повреждение β -клеток поджелудочной железы.

В отличие от механизма развития СД после применения аллоксана курсовое введение глюкокортикостероидов вызывает усиление

катаболических процессов в тканях-мишенях инсулина, а также снижение функции и гибель β -клеток. В зависимости от длительности введения, исходного состояния углеводного обмена и других индивидуальных особенностей глюкокортикостероиды могут вызвать незначительные обратимые изменения, так и стойкие и прогрессирующие нарушения углеводного обмена [5]. В проведенном исследовании курсовое введение дексаметазона приводило к развитию выраженной гипергликемии (Рис. 4В и Г). У животных, которым одновременно с дексаметазоном вводили ситаглиптин ($15,2 \pm 2,4$ ммоль/л), аミノгуанидин (в меньшей степени, $16,4 \pm 1,8$ ммоль/л) или их комбинацию (в большей степени, $14,2 \pm 0,8$ ммоль/л, $p < 0,05$) концентрация глюкозы в крови была значительно ниже, чем у тех, которым вводили дексаметазон и плацебо ($17,8 \pm 1,2$ ммоль/л).

Подобно аллоксану, введение стрептозотоцина с никотинамидом вызывало меньшие, но в то же время выраженные нарушения метаболизма глюкозы вследствие неполного поражения β -клеточной массы, что предпочтительнее при проведении исследований продолжительностью более 14 сут ввиду меньшего общесоматического истощения животных. В данной серии экспериментов исследуемые вещества животным вводили, начиная с 7 сут после стрептозотоцина. У животных, которым вводили физиологический раствор (плацебо), концентрация глюкозы увеличилась с $15,2 \pm 2,1$ (7 сут) до $24,3 \pm 1,8$ ммоль/л (21 сут), что свидетельствует о прогрессирующей деструкции β -клеток поджелудочной железы (Рис. 5А и 5Б). У животных, которым после стрептозотоцина в течение 14 дней вводили ситаглиптин или аミノгуанидин концентрация глюкозы увеличивалась с $17,2 \pm 3,4$ и $16,7 \pm 2,1$ ммоль/л до $20,1 \pm 1,1$ и $23,4 \pm 2,5$ ммоль/л, соответственно. Минимальная прогрессия гипергликемии отмечена у животных, которым в течение 14 сут вводили комбинацию ситаглиптина и аミノгуанидина (с $15,8 \pm 1,2$ до $17,5 \pm 1,3$ ммоль/л, $p < 0,05$), что также может быть следствием блокирования iNOS и снижения количества факторов, способствующих апоптозу.

Мыши, на которых проводили последнюю серию исследований при содержании на стандартной диете, характеризовались крайне высокими значениями гипергликемии (Рис. 5В и 5Г), что, вероятно, является особенностью данной модели СД. Введение животным ситаглиптина, аミノгуанидина или их комбинации оказывало умеренное гипогликемическое действие: уровни гликемии у мышей, которым в течение 3 недель вводили перечисленные лекарственные средства составлял $21,6 \pm 1,2$ ммоль/л, $24,7 \pm 0,9$ ммоль/л, $21,1 \pm 1,2$ ммоль/л соответственно, в то время как у животных, получавших плацебо, концентрация глюкозы в крови составляла $26 \pm 0,96$ ммоль/л.

ОБСУЖДЕНИЕ

Островок Лангенгарса состоит из приблизительно 1000 β -клеток, которые содержат от 10 до 13 тыс. гранул с 10^6 молекулами инсулина в каждой. В клетках поджелудочной железы экспрессируются все изоформы NOS. Продукция оксида азота индуцибельной синтазой (iNOS) значительно превышает таковую у остальных изоформ. Более того, экспрессия iNOS увеличивается при высоких концентрациях (≥ 10 mM) глюкозы в цитоплазме. Оксид азота участвует в ранней фазе секреции инсулина, увеличивает уровень циклического гуанозинмонофосфата и внутриклеточного Ca^{2+} , способствует синтезу инсулина, стимулирует активность промотора гена инсулина и его экспрессию, усиливает кровоток в поджелудочной железе и препятствует апоптозу посредством S-нитрозилирования, модулирует динамическую ассоциацию глюкокиназы с секреторными гранулами, что, в совокупности, способствует секреции инсулина. Помимо протективного действия, NO в высоких концентрациях, создаваемых в основном iNOS, оказывает выраженное негативное действие в отношении многих систем организма, в том числе и в отношении инсулярного аппарата. Физиологические (создаваемые nNOS или eNOS) концентрации NO вызывают позитивные эффекты, которые прекращают функционировать при активации iNOS и слишком высокой продукции NO, что способствует дисфункции островков. В ответ на воспалительные стимулы клетки поджелудочной железы увеличивают экспрессию iNOS, что сопровождается повышением концентрации NO до цитотоксических уровней, вызывающих повреждение, дисфункцию и гибель β -клеток, что имеет важное значение в возникновении и прогрессировании СД. Подавление iNOS оказывает протективное действие в отношении клеток поджелудочной железы, которые считаются особо чувствительными к повреждению свободными радикалами различного происхождения из-за низкого уровня ферментов антиоксидантной системы – супероксиддисмутазы, каталазы и глутатионпероксидазы [16–18].

Регуляция активности индуцибельной NOS осуществляется на всех этапах экспрессии, включая стабильность белка, и в значительной степени зависит от функционального состояния клетки. С учетом токсичности избытка NO блокада iNOS в условиях воспаления является перспективным экспериментальным подходом для управления целым рядом патологических процессов. Для различных заболеваний предпринималось множество попыток к нормализации активности NOS: блокирование продукции АФК в восходящем направлении, введение $ВН_4$, введение фолиевой кислоты для рециркуляции $ВН_2$ в $ВН_4$, ингибиторов аргиназы, ресвератрола, кальция добезилата, кавноксина, усилителей транскрипции NOS (AVE3085 и AVE9488), L-аргинина, блокаторов и активаторов различных NOS [11].

Метаболическая защита β -клеток поджелудочной железы является перспективным обоснованным подходом к терапии СД и снижения его осложнений. Комбинирование нескольких лекарственных средств, обладающих разнонаправленными эффектами и, соответственно, воздействующими на различные патогенетические механизмы представляет собой перспективный подход к разработке современных лекарственных средств. С этой позиции аминоксидантин (ингибитор iNOS и ингибитор образования конечных продуктов гликирования [19]) и ситаглиптин (повышающий уровень эндогенных инкретинов, оказывающих защитное действие на β -клетки [27]) являются обоснованными кандидатами для создания комбинированного противодиабетического препарата, способного защитить β -клетки и замедлить прогрессирование СД различной этиологии.

В данном исследовании была предпринята попытка оценить противодиабетическое действие комбинации распространенного препарата ситаглиптин и средства, проявляющего выраженное ингибирующее iNOS действие. Используемые в работе модели характеризуются различным механизмом индукции углеводных нарушений: полная или частичная гибель β -клеток из-за специфического токсина, формирование стероид-индуцированного СД и генетическая модель СД2. Также относительно момента формирования патологии различалось время начала терапии: профилактическое введение (аллоксановый СД с индукцией полной гибели β -клеток и стероид-индуцированный СД с комплексным нарушением углеводного обмена) и лечебное введение (стрептозотоцин-никотинамид-индуцированный СД и генетическая модель СД2, которые характеризуются гибелью большей части β -клеток и ожирением с первичной инсулинорезистентностью).

В ходе выполнения работы было обнаружено, что протективное действие комбинации значительно превосходит эффекты отдельных веществ, что указывает на синергизм компонентов, что, в свою очередь, может быть объяснено и разноплановостью их действия. Особенно выраженным терапевтический эффект был при профилактическом введении на модели аллоксанового СД, который характеризуется полной гибелью β -клеток, чего очевидно не случилось на фоне введения комбинации ингибитора iNOS и инкретиномиметика (идПП-4). Ранее в литературе отмечалось протективное действие аминоксидантина на модели аллоксанового диабета при монотерапии и профилактическом введении, но для развития выраженного эффекта потребовалось его введение в течение 6 недель, при этом главным развивающимся протективным эффектом авторы связывают с восстановлением системы антиоксидантной защиты, ингибированием образования конечных продуктов гликирования, снижением воспаления и восстановлением островков [14]. В текущем исследовании, только в группе, получавшей

комбинацию (ситаглиптин + аминоксидин, но не отдельные компоненты) уровень гликемии по сравнению с группой негативного контроля был значительно (в несколько раз) ниже уже через 1 неделю после введения аллоксана, что указывает на защитное действие комбинации в отношении клеточного токсина, который реализует свое действие через оксидативный стресс с последующей гибелью β -клеток. Учитывая характер экспериментального диабета, вызываемого введением схожих по механизму действия цитотоксических веществ (аллоксана и стрептозотоцина), а именно ключевую роль апоптоза в повреждении β -клеток и участие в этом процессе iNOS. Можно предположить, что гипогликемическое и протективное действие в отношении β -клеток у ситаглиптина (реализующего свое действие преимущественно через инкретины) дополняется антиапоптотическим (антиоксидантным и противовоспалительным вследствие ингибирования iNOS) влиянием аминоксидина, что приводит к снижению интенсификации апоптоза и, соответственно, меньшей потере β -клеток. Для выяснения точного механизма влияния комбинации на процесс гибели β -клеток требуется дополнительное исследование с выявлением экспрессии факторов, влияющих на апоптоз (например: транскрипционных факторов, цитокинов, эффекторов и регуляторов апоптоза, и др.).

Во второй серии исследования было обнаружено, что комбинация ситаглиптина и аминоксидина при одновременном (профилактическом) введении с дексаметазоном значительно ограничивает гипергликемическое действие последнего (прогрессирование нарушений углеводного обмена). Выявленный эффект был менее выраженный по сравнению с первой серией, что возможно связано с комплексным влиянием глюкокортикостероидов на углеводный обмен, при ограниченном числе точек приложения исследуемой комбинации, прежде всего защита β -клеток. Однако для коррекции сохранившихся нарушений углеводного обмена после отмены глюкокортикостероидов, данный подход может представлять интерес.

В третьей серии экспериментов лечебное

введение комбинации ситаглиптина и аминоксидина удалось значительно замедлить прогрессирование стрептозотоцин-никотинамидного СД, что также можно связать со снижением интенсивности апоптоза и улучшением функционального состояния оставшихся β -клеток вследствие сочетания гипогликемического и защитного действия инкретинов (идПП-4) и противовоспалительного эффекта аминоксидина.

У животных с ожирением и СД также было отмечено определенное гипогликемическое действие ситаглиптина и его комбинации с аминоксидином. Известно, что ожирение и инсулинорезистентность вызывают каскад реакций общим звеном которых является системное воспаление с повышением секреции провоспалительных цитокинов, что ускоряет повреждение β -клеток и трансформацию диабета 2 типа в 1. Применение аминоксидина в сочетании с ситаглиптином может значительно влиять на различные патогенетические звенья, инициируемые гипергликемией, в частности, снижать уровень системного воспаления за счёт ингибирования активности iNOS и ее роли в деструкции β -клеток. При дальнейшей работе с данной моделью ввиду тяжести патологии целесообразно применение более эффективных инкретиномиметиков – агонистов рецептора глюкагоноподобного пептида-1.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Комбинированное применение ситаглиптина и аминоксидина повышает противодиабетическое действие отдельных компонентов, препятствуя развитию сахарного диабета после введения аллоксана при профилактическом введении, снижая выраженность углеводных нарушений после курсового введения дексаметазона, замедляя прогрессирование стрептозотоцин-никотинамидного СД и снижая уровень гликемии у животных с генетической предрасположенностью к сахарному диабету и ожирению при лечебном введении. Комбинация ситаглиптина с аминоксидином может стать основой разработки нового перспективного подхода к лечению сахарного диабета и его осложнений.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена при поддержке РФ (проект № 20-75-10013)

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Д.В. Куркин, А.В. Стрыгин – идея и планирование исследования, оформление графического материала, утверждение финальной версии рукописи; Т.М. Андриашвили, А.А. Соколова, Н.С. Болохов, В.Э. Пустынников, Е.А. Фомичев – моделирование патологии, проведение экспериментальной работы; Е.И. Морковин – статистическая обработка данных, оформление графического материала, редактирование текста; Д.А. Бакулин, Ю.В. Горбунова – сбор и анализ литературных данных, написание рукописи.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Дедов И.И., Шестакова М.В., Майоров А.Ю., Мокрышева Н.Г., Викулова О.К., Галстян Г.Р., Кураева Т.Л., Петеркова В.А., Смирнова О.М., Старостина Е.Г., Суркова Е.В., Сухарева О.Ю., Токмакова А.Ю., Шамхалова М.Ш., Ярек-Мартынова И.Я., Артемова Е.В., Бешлиева Д.Д., Бондаренко О.Н., Велеводз Н.Н., Гомова И.С., Григорян О.Р., Джемилева З.Н., Есян Р.М., Ибрагимова Л.И., Калашников В.Ю., Кононенко И.В., Лаптев Д.Н., Липатов Д.В., Мельникова О.Г., Михина М.С., Мичурова М.С., Мотовилин О.Г., Никонова Т.В., Роживанов Р.В., Скляник И.А., Шестакова Е.А. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом». Под редакцией И.И. Дедова, М.В. Шестаковой, А.Ю. Майорова. 10-й выпуск // Сахарный диабет. – 2021. – Т. 24, № 1S. – С. 1–148. DOI: 10.14341/DM12802
2. Sun H., Saeedi P., Karuranga S., Pinkepank M., Ogurtsova K., Duncan B.V., Stein C., Basit A., Chan J.C.N., Mbanya J.C., Pavkov M.E., Ramachandaran A., Wild S.H., James S., Herman W.H., Zhang P., Bommer C., Kuo S., Boyko E.J., Magliano D.J. IDF Diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045 // Diabetes Res. Clin. Pract. – 2022. – Vol. 183. – Art. ID: 109119. DOI: 10.1016/j.diabres.2021.109119
3. Дедов И.И., Шестакова М.В., Викулова О.К., Железнякова А.В., Исаков М.А. Эпидемиологические характеристики сахарного диабета в Российской Федерации: клиничко-статистический анализ по данным регистра сахарного диабета на 01.01.2021 // Сахарный диабет. – 2021. – Т. 24, № 3. – С. 204–221. DOI: 10.14341/DM12759
4. Blonde L., Umpierrez G.E., Reddy S.S., McGill J.B., Berga S.L., Bush M., Chandrasekaran S., DeFronzo R.A., Einhorn D., Galindo R.J., Gardner T.W., Garg R., Garvey W.T., Hirsch I.B., Hurley D.L., Izuora K., Kosiborod M., Olson D., Patel S.B., Pop-Busui R., Sadhu A.R., Samson S.L., Stec C., Tamborlane W.V. Jr., Tuttle K.R., Twining C., Vella A., Vellanki P., Weber S.L. American Association of Clinical Endocrinology Clinical Practice Guideline: Developing a Diabetes Mellitus Comprehensive Care Plan-2022 Update // Endocr. Pract. – 2022. – Vol. 28, No. 10. – P. 923–1049. DOI: 10.1016/j.eprac.2022.08.002
5. Триголосова И.В. Стероид-индуцированный сахарный диабет // ПМЖ. – 2016. – Т. 24, № 1. – С. 54–56.
6. Wallace M.D., Metzger N.L. Optimizing the Treatment of Steroid-Induced Hyperglycemia // Ann. Pharmacother. – 2018. – Vol. 52, No. 1. – P. 86–90. DOI:10.1177/1060028017728297
7. Shah P., Kalra S., Yadav Y., Deka N., Lathia T., Jacob J.J., Kota S.K., Bhattacharya S., Gadve S.S., Subramaniam K.A.V., George J., Iyer V., Chandratreya S., Aggrawal P.K., Singh S.K., Joshi A., Selvan C., Priya G., Dhingra A., Das S. Management of Glucocorticoid-Induced Hyperglycemia // Diabetes Metab Syndr Obes. – 2022. – Vol. 15. – P. 1577–1588. DOI:10.2147/DMSO.S330253
8. Стронгин Л.Г., Некрасова Т.А., Беликина Д.В., Корнева К.Г., Петров А.В. Дисгликемия при COVID-19 и сахарном диабете 2 типа: особенности гликемического профиля у госпитализированных пациентов и роль стероид-индуцированных нарушений // Проблемы эндокринологии. – 2022. – Т. 68, № 2. – С. 56–65. DOI:10.14341/probl12840
9. Сидоров А.В. Клиническая фармакология ингибиторов дипептидилпептидазы 4: сравнительный обзор // Эффективная фармакотерапия. – 2020. – Т. 16, № 25. – С. 24–49. DOI:10.33978/2307-3586-2020-16-25-24-48
10. Тюренков И.Н., Бакулин Д.А., Куркин Д.В., Волотова Е.В. Нейропротективные свойства инкретиномиметиков при ишемии головного мозга и нейродегенеративных заболеваниях // Проблемы эндокринологии. – 2017. – Т. 63, № 1. – С. 58–67. DOI:10.14341/probl201763149-58
11. Куркин Д.В., Абросимова Е.Е., Бакулин Д.А., Ковалев Н.С., Дубровина М.А., Борисов А.В., Стрыгин А.В., Морковин Е.И., Тюренков И.Н. Модуляция активности различных синтаз оксида азота в качестве подхода к терапии эндотелиальной дисфункции // Фармация и фармакология. – 2022. – Т. 10, № 2. – С. 130–153. DOI:10.19163/2307-9266-2022-10-2-130-153
12. Corbett J.A., McDaniel M.L. The use of aminoguanidine, a selective iNOS inhibitor, to evaluate the role of nitric oxide in the development of autoimmune diabetes // Methods. – 1996. – Vol. 10, No. 1. – P. 21–30. DOI:10.1006/meth.1996.0074
13. Panagiotopoulos S., O'Brien R.C., Bucala R., Cooper M.E., Jerums G. Aminoguanidine has an anti-atherogenic effect in the cholesterol-fed rabbit // Atherosclerosis. – 1998. – Vol. 136, No. 1. – P. 125–131. DOI:10.1016/s0021-9150(97)00192-5
14. Arif B., Arif Z., Ahmad J., Perveen K., Bukhari N.A., Ashraf J.M., Moinuddin, Alam K. Attenuation of hyperglycemia and amadori products by aminoguanidine in alloxan-diabetic rabbits occurs via enhancement in antioxidant defenses and control of stress // PLoS One. – 2022. – Vol. 17, No. 1. – Art. ID: e0262233. DOI:10.1371/journal.pone.0262233
15. Oleson B.J., Corbett J.A. Dual Role of Nitric Oxide in Regulating the Response of β Cells to DNA Damage // Antioxid. Redox. Signal. – 2018. – Vol. 29, No. 14. – P. 1432–1445. DOI:10.1089/ars.2017.7351
16. Gheibi S., Ghasemi A. Insulin secretion: The nitric oxide controversy // EXCLI J. – 2020. – Vol. 19. – P. 1227–1245. DOI:10.17179/excli2020-2711
17. Anavi S., Tirosh O. iNOS as a metabolic enzyme under stress conditions // Free Radic. Biol. Med. – 2020. – Vol. 146. – P. 16–35. DOI:10.1016/j.freeradbiomed.2019.10.411
18. Soskić S.S., Dobutović B.D., Sudar E.M., Obradović M.M., Nikolić D.M., Djordjević J.D., Radak D.J., Mikhailidis D.P., Išenović E.R. Regulation of Inducible Nitric Oxide Synthase (iNOS) and its Potential Role in Insulin Resistance, Diabetes and Heart Failure // Open Cardiovasc. Med. J. – 2011. – Vol. 5. – P. 153–163. DOI:10.2174/1874192401105010153
19. Thornalley P.J. Use of aminoguanidine (Pimagedine) to prevent the formation of advanced glycation endproducts. Arch. Biochem. Biophys. – 2003. – Vol. 419, No. 1. – P. 31–40. DOI:10.1016/j.abb.2003.08.013
20. Kawashima S., Matsuoka T.A., Kaneto H., Tochino Y., Kato K., Yamamoto K., Yamamoto T., Matsuhisa M., Shimomura I. Effect of alogliptin, pioglitazone and glargine on pancreatic β -cells in diabetic db/db mice // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2011. – Vol. 404, No. 1. – P. 534–540. DOI:10.1016/j.bbrc.2010.12.021

21. Ковалева М.А., Макарова М.Н., Макаров В.Г. Генетически модифицированные линии лабораторных животных, используемые в качестве модели метаболического синдрома и сахарного диабета // *Лабораторные животные для научных исследований.* – 2018. – № 1. – С. 22–31. DOI:10.29296/2618723X-2018-01-03
22. Katsuda Y., Ohta T., Shinohara M., Bin T., Yamada T. Diabetic mouse models // *Open J. Anim. Sci.* – 2013. – Vol. 3, No. 4. – P. 334–342. DOI:10.4236/ojas.2013.34050
23. Tyurenkov I.N., Kurkin D.V., Bakulin D.A., Volotova E.V., Morkovin E.I., Chafeev M.A., Karapetian R.N. Chemistry and Hypoglycemic Activity of GPR119 Agonist ZB-16 // *Front Endocrinol. (Lausanne).* – 2018. – Vol. 9. – Art. ID: 543. DOI:10.3389/fendo.2018.00543
24. Sheriff O.L., Olayemi O., Taofeeq A.O., Riskat, K.E., Ojochebo D.E., Ibukunoluwa A.O. A new model for alloxan-induced diabetes mellitus in rats // *J. Bangladesh Society of Physiologist.* – 2020. – Vol. 14, No. 2. – P. 56–62. DOI:10.3329/jbsp.v14i2.44785
25. Rais N., Ved A., Ahmad R., Parveen K., Gautam G.K., Bari D.G., Shukla K.S., Gaur R., Singh A.P. Model of Streptozotocin-nicotinamide Induced Type 2 Diabetes: a Comparative Review // *Curr. Diabetes. Rev.* – 2022. – Vol. 18, No. 8. – Art. ID: e171121198001. DOI:10.2174/157339981866621117123358
26. Okamoto T., Shimada T., Matsumura C., Minoshima H., Ban T., Itotani M., Shinohara T., Fujita S., Matsuda S., Sato S., Kanemoto N. New Approach to Drug Discovery of a Safe Mitochondrial Uncoupler: OPC-163493 // *ACS Omega.* – 2021. – Vol. 6, No. 26. – P. 16980–16988. DOI:10.1021/acsomega.1c01993
27. Scott L.J. Sitagliptin: a review in type 2 diabetes // *Drugs.* – 2017. – Vol. 77, No. 2. – P. 209–224. DOI:10.1007/s40265-016-0686-9

АВТОРЫ

Куркин Денис Владимирович – доктор фармацевтических наук, доцент, профессор кафедры клинической фармакологии и интенсивной терапии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-1116-3425. E-mail: strannik986@mail.ru

Бакулин Дмитрий Александрович – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории фармакологии сердечно-сосудистых средств НЦИЛС ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-4694-3066. E-mail: mbfdoc@gmail.com

Морковин Евгений Игоревич – кандидат медицинских наук, доцент, заведующий лабораторией нейропсихофармакологии НЦИЛС ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-7119-3546. E-mail: e.i.morkovin@gmail.com

Горбунова Юлия Васильевна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры клинической фармакологии и интенсивной терапии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-1116-3425. E-mail: yvgorbunova@yandex.ru

Стрыгин Андрей Валерьевич – кандидат медицинских наук, доцент, заместитель директора НЦИЛС ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-6997-1601. E-mail: drumsav@mail.ru

Андриашвили Тамара Мамукаевна – студент-исследователь, кафедра клинической фармакологии и интенсивной терапии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-0983-666X. E-mail: tamuna.andriashvili@yandex.ru

Соколова Алина Андреевна – студент-исследователь, кафедра клинической фармакологии и интенсивной терапии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-5116-8458. E-mail: chudi.lis.14@gmail.com

Болохов Никита Сергеевич – студент-исследователь, кафедра клинической фармакологии и интенсивной терапии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-2458-5731. E-mail: neekit.main@gmail.com

Пустынников Владислав Эдуардович – студент-исследователь, кафедра клинической фармакологии и интенсивной терапии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-9561-5320. E-mail: pustynnikov200122@gmail.com

Фомичев Евгений Андреевич – студент-исследователь, кафедра клинической фармакологии и интенсивной терапии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-1837-4337. E-mail: fomichevVSMU@gmail.com