

НЕФРОПРОТЕКТИВНЫЕ СВОЙСТВА ИНГИБИТОРА ДПП-4 В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ НЕФРОПАТИИ

Байрашева В.К.^{1,2}, Бабенко А.Ю.^{1,2}, Чефу С.Г.², Дмитриев Ю.В.¹, Иванова А.Н.³, Шаталов И.С.⁴, Гринева Е.Н.^{1,2}

¹ФГБУ «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия (197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, 2), e-mail: bayrasheva_med@mail.ru

²ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия (197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6-8)

³ ФГБУН «Ботанический институт им. В. Л. Комарова» РАН, Санкт-Петербург, Россия (197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 2)

⁴ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики», Санкт-Петербург, Россия (197101, Санкт-Петербург, пр-кт Кронверкский, 49)

В ряде экспериментальных работ сообщается, что пероральные препараты для лечения сахарного диабета 2-го типа из группы ингибиторов дипептидилпептидазы-4 обладают антиоксидантными и противовоспалительными свойствами, что могло бы найти отражение в уменьшении повреждения почек при сахарном диабете. В пилотном исследовании оценено влияние 8-недельной терапии ингибитором дипептидилпептидазы-4 вилдаглиптином на уровни рутинных маркеров дисфункции почек и морфологические почечные изменения у крыс с экспериментальной диабетической нефропатией, смоделированной у геминефрэктомизированных самцов крыс стока Вистар, получавших в течение 4 недель высокожировое питание, введением стрептозотоцина. Согласно полученным результатам на фоне 8-недельной терапии вилдаглиптином наблюдалось значимое улучшение клиренса креатинина, уменьшение креатинина сыворотки и уровня экскреции альбумина с мочой по сравнению с крысами, получавшими плацебо. Кроме того, положительное влияние вилдаглиптина на почки подтвердилось при проведении морфологического исследования. Полученные результаты могут свидетельствовать о наличии у вилдаглиптина нефропротективных свойств, не зависящих от сахароснижающего действия препарата, что требует дальнейших исследований в этой области.

Ключевые слова: сахарный диабет, нефропротекция, крыса стока Вистар, дипептидилпептидазы-4 ингибитор, вилдаглиптин, почка, диабетическая нефропатия, стрептозотоцин, высокожировое питание

NEPHROPROTECTIVE PROPERTIES OF DPP-4 INHIBITOR IN EXPERIMENTAL MODEL OF DIABETIC NEPHROPATHY

Bayrasheva V.K.^{1,2}, Babenko A.Y.^{1,2}, Chefu S.G.², Dmitriev Y.V.¹, Ivanova A.N.³, Shatalov I.S.⁴, Grineva E.N.^{1,2}

¹ Federal State Institution «Federal North-West Medical Research Centre» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia (197341, Saint Petersburg, street Akkuratova, 2), e-mail: bayrasheva_med@mail.ru

² State Educational Institution of Higher Professional Education Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia (197022, Saint Petersburg, street Lev Tolstoy, 6-8)

³ Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia (197376, Saint Petersburg, Prof. Popov street, 2)

⁴ Saint Petersburg national research University of Information, Technologies, Mechanics and Optics, Saint Petersburg, Russia (197101 Russia, Saint Petersburg, Kronverksky Pr., 49)

Recent experimental studies have demonstrated antioxidant and anti-inflammatory properties of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors, that could result in some positive effects on kidney function in diabetes. This pilot study, concerned with heminephrectomized, fed with high-fat diet for 4 weeks, streptozotocin-induced diabetic male Wistar rats, aimed to evaluate the effects of vildagliptin treatment on kidney histopathology and routine renal dysfunction markers. According to obtained data 8 weeks vildagliptin treatment in daily dose 8 mg/kg was able to significantly improve creatinine clearance, and reduce serum creatinine level and urinary albumin excretion ratio compared with placebo group. Moreover, nephroprotection in rats treated with vildagliptin was also associated with restoring morphological changes in kidney tissue. Thus, we determined that vildagliptin might attenuate experimental diabetic nephropathy, in addition to hypoglycemic action. It requires further research in this area.

Keywords: diabetes mellitus, nephroprotection, rat Wistar, dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, vildagliptin, kidney, diabetic nephropathy, streptozotocin, high-fat diet

В условиях неуклонного роста распространённости сахарного диабета (СД) 2-го типа и связанных с ним инвалидизирующих хронических осложнений, таких как диабетическая нефропатия (ДН) с исходом в хроническую почечную недостаточность, актуальными становятся поиск и исследование препаратов, позволяющих предотвратить или замедлить прогрессирование диабетического поражения почек. В ряде опубликованных за последние несколько лет экспериментальных работ сообщается, что пероральные препараты для лечения СД 2-го типа из группы ингибиторов дипептидилпептидазы-4 (ДПП-4) обладают антиоксидантными и противовоспалительными свойствами [7, 5], что могло бы найти отражение в уменьшении проявлений ассоциированной с диабетом почечной дисфункции. Ингибируя фермент ДПП-4, участвующий в деградации эндогенных регуляторов гомеостаза глюкозы — кишечных гормонов инкретинов, основным из которых является глюкагоноподобный пептид-1 (ГПП-1), эта относительно новая группа сахароснижающих препаратов заинтересовала исследователей также с позиции потенциальных плейотропных эффектов на органы и ткани. Среди возможных патогенетических механизмов положительного влияния ингибиторов ДПП-4 на почки рассматривают как ГПП-1-опосредованные (связанные с воздействием ГПП-1 на соответствующие рецепторы в почечной ткани, приводящим к увеличению уровня цАМФ с последующим запуском каскада с участием протеинкиназы А и тем самым уменьшающим образование конечных продуктов гликирования), так и инкретин-независимые (среди которых немаловажная роль отводится ряду гормоноподобных субстанций, являющихся субстратами действия ДПП-4 и обладающих способностью стимулировать натрийурез и уменьшать вазоконстрикцию) [3]. Тем не менее наличие нефропротективных свойств у ингибиторов ДПП-4 требует доказательств как в эксперименте, так и на клиническом материале.

Цель исследования

Изучить влияние терапии вилдаглиптином на морфофункциональное состояние почек геминефрэктомированных крыс со стрептозоточин-индуцированным сахарным диабетом, получавших высокожировое питание.

Материалы и методы исследования

Модель диабетической нефропатии у крыс. Все эксперименты были одобрены локальным этическим комитетом. Животные содержались в стандартных условиях вивария при естественном освещении, имели свободный доступ к воде и пище. Пилотное исследование выполнено на половозрелых самцах крыс стока Wistar массой 180–210 г, подвергшихся

правосторонней нефрэктомии, которым моделировали экспериментальный СД согласно методике Zhang M. и соавт. посредством введения в рацион говяжьего сала с последующим двукратным внутрибрюшинным введением стрептозотоцина (СТЗ) в дозе 30 мг/кг с интервалом 7 дней [10]. Геминефрэктомированным крысам из группы здорового контроля (n=5), получавшим стандартный пищевой рацион, вместо СТЗ внутрибрюшинно был введен натриевый цитратный буфер (10 ммоль/л, рН 4,5) из расчета 2,5 мл/кг в те же сроки с аналогичным интервалом. СД диагностировали в ходе проведения орального глюкозотолерантного теста через 2 недели после первой инъекции СТЗ при выявлении гликемии выше 12,0 ммоль/л, предварительно разделив крыс случайным образом на три равные по численности группы.

Протокол эксперимента. Через 8 недель после манифестации СД животным трех групп на последующие 8 недель были назначены следующие препараты (ежедневно):

- 1) вилдаглиптин в дозе 8 мг/кг/сутки с питьевой водой – группа вилдаглиптина (n=5);
- 2) подкожные инъекции изофан-инсулина по 2 ед/сутки — группа гликемического контроля (n=5) на инсулинотерапии.

Контрольная группа крыс в сроки назначения лекарственных препаратов получала крахмал (50 мг/кг) с питьевой водой (группа плацебо-контроля (n=5)).

Исследуемые показатели. С интервалом в 1 неделю измеряли массу тела, потребление корма и воды, после индукции СД – глюкозу и ацетон в моче. По окончании эксперимента оценивали уровни креатинина (Cr) и мочевины сыворотки, гликированного гемоглобина (HbA1c), общего холестерина и триглицеридов, последние 2 показателя – также по окончании 4-недельного высокожирового питания. Перед выводом из эксперимента животные на 24 ч помещались в индивидуальные метаболические камеры. Определяли объем выделившейся мочи, концентрацию альбумина в моче и креатинина (Cr), рассчитывали уровень экскреции альбумина с мочой и клиренс креатинина.

Морфологический анализ и морфометрия. Для светооптической микроскопии парафиновые срезы толщиной 3–4 мкм окрашивали гематоксилин-эозином и проводили ШИК-реакцию. С помощью инвертированного микроскопа Leica DMI6000 полученные срезы исследовались не менее чем в 20 полях зрения. Степень экспансии мезангиального матрикса и гломерулосклероза оценивали полуколичественным методом путем расчета индекса, описанного Raij и соавт. [9]. Для этого были рассмотрены все клубочки, пригодные для анализа (диапазон от 20 до 42), которые были классифицированы от 0 до 4 баллов. Также оценивались изменения почечных сосудов (склероз мелких артерий и артериол, их гиалиноз).

Реактивы и методы лабораторного анализа. Креатинин мочи и сыворотки, мочевину определяли на анализаторе Cobas Integra 400 plus (США) с использованием коммерческих

наборов фирмы Roche, Германия. Альбумин в моче — иммуноферментным методом на автоматическом фотометре для микропланшет ELx 800 Bio TEK, США (ИФА-набор фирмы AssayPro, США). HbA1c исследовали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на анализаторе BioRad D10, США.

Стрептозотозин, цитрат натрия и хлоралгидрат приобретены в Sigma Aldrich, США; вилдаглиптин – Novartis PHARMA STEIN AG, Швейцария, инсулин изофан — Фармстандарт, Россия.

Результаты и обсуждение

Значения определяемых по окончании эксперимента показателей в исследуемых группах сведены в таблицу 1. В использованной модели диабетической нефропатии дисфункция почек наступила в результате 50%-й редукции функционирующей массы почечной ткани и поражения нефронов вследствие длительной (16 недель) гипергликемии.

Таблица 1

Значения определяемых по окончании эксперимента (24-я неделя) показателей в исследуемых группах (M ± СКО)

Определяемый показатель	Экспериментальные группы, n= 5 в каждой			
	Плацебо	Инсулин	Вилдаглиптин	Здоровый контроль
Масса тела, г	262 ± 17,4#	298 ± 8,12#	275 ± 14,3#	490 ± 23,8
Общий холестерин, ммоль/л	2,2 ± 0,34	2,45 ± 0,27	2,34 ± 0,36	1,89 ± 0,19
Триглицериды, ммоль/л	2,14 ± 0,35#	1,9 ± 0,42#	1,94 ± 0,32#	0,83 ± 0,29
Гликированный гемоглобин, HbA1c, %	12,8 ± 1,42#	10,7 ± 1,26*#	11,02 ± 0,88*#	4,7 ± 0,15*
Креатинин сыворотки, мкмоль/л	93,2 ± 6,7#	90,75 ± 7,3#	84,7 ± 5,9*	76,5 ± 3,8*
Клиренс креатинина, мл/мин	1,71 ± 0,31#	2,07 ± 0,35#	2,2 ± 0,3*	2,48 ± 0,27*
Мочевина сыворотки, ммоль/л	21,03 ± 3,64#	23,3 ± 4,7#	18,1 ± 2,6#	5,8 ± 0,8*
Уровень экскреции альбумина с мочой, мг/24 ч	26,9 ± 6,0#	23,16 ± 3,97#	10,5 ± 2,39*#	4,2 ± 1,96*

Примечание: * — значимое (p<0,05, ANOVA) различие в сравнении с группой плацебо
— значимое (p<0,05, ANOVA) различие в сравнении с группой здорового контроля

Показатели массы тела и углеводного обмена. Темпы набора массы тела на протяжении 4-недельной высокожировой диеты значимо опережали физиологическую прибавку веса, наблюдаемую у крыс контрольной группы, получавших стандартный пищевой рацион, и к концу 4-й недели составили соответственно 432 ± 22,4 г и 315 ± 11,7 г, p = 0,023. Однако после двукратной инъекции СТЗ и индукции диабета у набравших вес животных наблюдалось постепенное снижение набранной массы тела вплоть до завершения эксперимента на 24-й неделе, отражая декомпенсацию заболевания. Натощаковый уровень глюкозы плазмы значимо повысился после 4 недель высокожирового питания (6,12 ± 0,42 ммоль/л) по сравнению с крысами контрольной группы, находившихся на стандартном

рационе ($4,2 \pm 0,3$ ммоль/л, $p=0,031$), достигнув максимума через 6 недель после первой инъекции СТЗ ($12,8 \pm 2,64$ ммоль/л, $p=0,0012$). Назначенные на 16-й неделе эксперимента сахароснижающие препараты достоверно не повлияли на натощаковый уровень глюкозы плазмы, который оставался стабильно высоким вплоть до окончания исследования. При этом показатели углеводного обмена приближались к значениям, описанным разными авторами в моделях крыс с абсолютной инсулиновой недостаточностью [2]. По окончании эксперимента в диабетических группах уровень HbA1c был в среднем в 2,5 раза выше в сравнении со здоровыми животными, с наибольшими значениями у крыс группы плацебо. Интересно отметить, что показатели углеводного обмена были статистически неразличимы в группах терапии инсулином и вилдаглиптином. Предположительно, сравнимый по силе с инсулином сахароснижающий эффект вилдаглиптина был связан с описанным ингибированием апоптоза бета-клеток поджелудочной железы, и, как следствие, с увеличением образования и секреции инсулина [1] (однако уровень инсулина в нашем пилотном исследовании не определялся).

Показатели липидного профиля. Общий холестерин и триглицериды значительно повысились к окончанию высокожировой диеты ($3,3 \pm 0,17$ ммоль/л и $2,1 \pm 0,42$, соответственно) по сравнению с группой здорового контроля ($1,72 \pm 0,13$ ммоль/л и $0,59 \pm 0,12$ ммоль/л соответственно), $p < 0,05$ для всех. По завершении экспериментального протокола (24-я неделя) достоверная разница в уровне холестерина по сравнению с контрольной группой, получавшей стандартный пищевой рацион, отсутствовала, при этом уровень триглицеридов остался на прежнем уровне, на поздних этапах отражая активацию липолиза и синтеза триглицеридов из свободных жирных кислот вследствие дефицита инсулина.

Показатели почечной функции

У контрольных экспериментальных животных с СД по сравнению с группой здорового контроля через 24 недели после произведенной правосторонней нефрэктомии было отмечено снижение клиренса креатинина, сопровождающееся увеличением концентрации креатинина и мочевины в сыворотке крови (табл. 1), что соответствовало развитию 1-й стадии экспериментальной почечной недостаточности. Другим маркером дисфункции почек являлся значимо повышенный уровень экскреции альбумина с мочой, указывающий на повреждение клубочкового аппарата нефрона диабетического генеза. Наблюдаемое выраженное и статистически между собой неразличимое повышение уровня мочевины сыворотки во всех диабетических группах крыс отражало, по всей видимости, не степень прогрессирования почечной недостаточности (поскольку другие маркеры ренальной дисфункции в этих группах значимо различались), а являлось проявлением чрезмерного катаболизма белка вследствие инсулинопении и нарушения выведения мочевины,

развивающегося при диабетическом кетоацидозе, наблюдаемом в нашем эксперименте у всех крыс с диабетом.

Тем не менее, несмотря на значительные метаболические изменения, отмечавшиеся у крыс с СД, 8-недельная терапия вилдаглиптином значительно уменьшала уровень креатинина сыворотки и экскрецию альбумина с мочой (рис. 1).

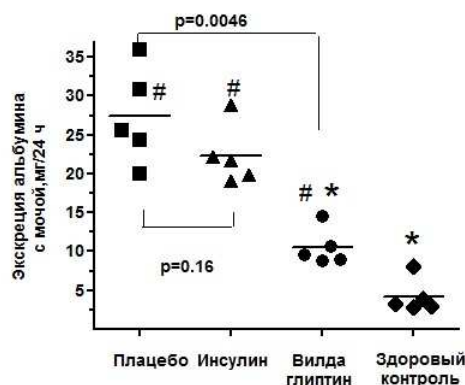


Рис. 1. Уровень экскреции альбумина с мочой по окончании эксперимента (24-я неделя) в исследуемых группах. * — значимое ($p < 0,05$, ANOVA) различие в сравнении с группой плацебо; # — значимое ($p < 0,05$, ANOVA) различие в сравнении с группой здорового контроля

Кроме того, в группе крыс, получавших вилдаглиптин, наблюдалось достоверное, сопоставимое с показателями в недиабетической группе, улучшение клиренса креатинина по окончании эксперимента (рис. 2).

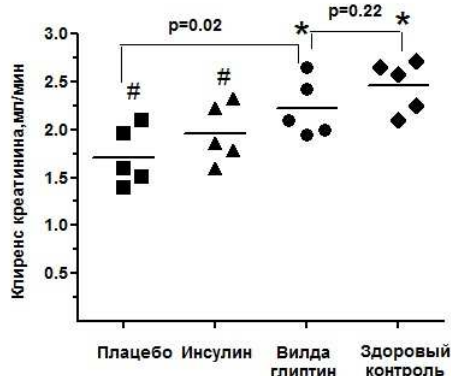


Рис. 2. Уровень клиренса креатинина по окончании эксперимента (24-я неделя) в исследуемых группах. * — значимое ($p < 0,05$, ANOVA) различие в сравнении с группой плацебо; # — значимое ($p < 0,05$, ANOVA) различие в сравнении с группой здорового контроля

Результаты морфологического исследования

У контрольных крыс без СД по результатам светооптической микроскопии почечной ткани состояние гломерулярного аппарата и интерстиция соответствовало ранее описанным незначимым структурным изменениям, развивающимся после геминефрэктомии (рис. 3а) [8]. В контрольной группе крыс с СД, получавших плацебо, были обнаружены закономерные диабетические изменения почечной ткани: в сравнении с крысами из группы здорового

контроля наблюдали 1,5-кратное увеличение размера клубочков, расширение мезангиального матрикса, образование спаек между стенками гломерулярной капсулы и петлями капилляров, сосудистые изменения (рис. 3б-г).

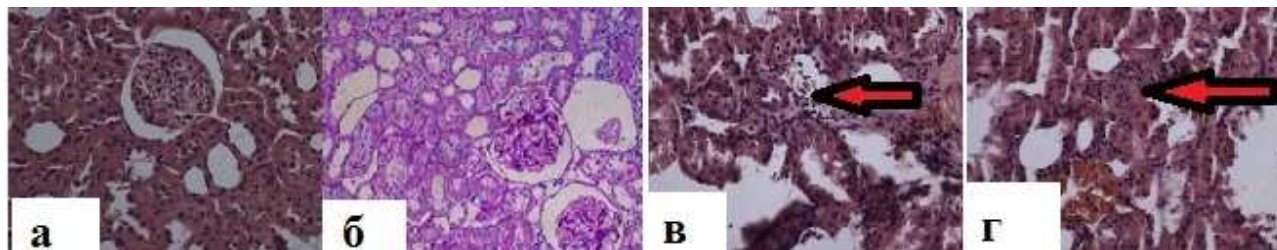


Рис. 3. Результаты светооптической микроскопии почечной ткани крыс контрольных групп. а Состояние клубочкового аппарата почек в группе здорового контроля: Светооптическая микроскопия, окраска гем. – эоз., $\times 200$. Отсутствие диабетических изменений. *б-г* — специфические диабетические изменения, наблюдаемые в почечной ткани крыс с СД, получавших плацебо: *б* — Светооптическая микроскопия, ШИК-окраска, $\times 100$. Экспансия мезангиального матрикса, мезангиальная гиперклеточность. Очаговые отложения ШИК-позитивного вещества в мезангиальном матриксе; *в* — светооптическая микроскопия, окраска гем.-эоз., ув. $\times 400$. Утолщение стенки артериолы (отмечено стрелкой); *г* — Светооптическая микроскопия, окраска гем.-эоз., ув. $\times 400$. Артериологалиноз (отмечено стрелкой)

При этом в группе крыс, получавших инсулин, также отмечались все вышеперечисленные изменения диабетического генеза (рис. 4а), и рассчитанный индекс мезангиальной экспансии ($38,8 \pm 5,3$) был сопоставим с показателем в группе плацебо ($43,1 \pm 4,9$), $p=0,68$, тогда как у животных, получавших вилдаглиптин, наблюдаемые диабетические изменения почечной ткани оказались менее выраженными (рис. 3а), а индекс мезангиальной экспансии оказался значимо ниже в группе контрольных крыс с СД ($29,2 \pm 3,2$, $p=0,038$). Достоверной разницы в значениях рассчитанного индекса гломерулосклероза в диабетических группах обнаружено не было.

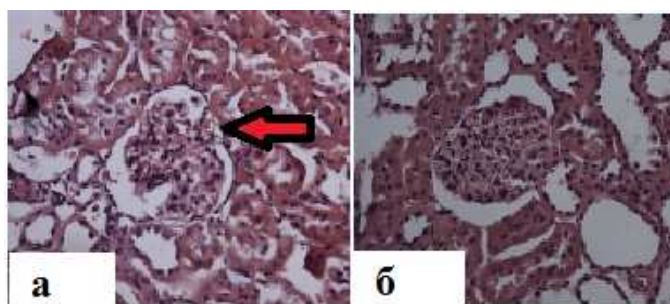


Рис. 3. Результаты светооптической микроскопии почечной ткани крыс, получавших сахароснижающие препараты: а — морфологические изменения почечного клубочка в группе инсулина. Светооптическая микроскопия, окраска гем. – эоз., $\times 200$. Отложение «фибриновых шапочек» (эозинфильных масс, содержащих фибриновые волокна и липидные включения, в пространстве капсулы, прилежащих к капиллярным петлям клубочка – отмечено стрелкой); *б* — морфологические изменения почечного клубочка в группе терапии вилдаглиптином

Полученные нами результаты не противоречат мировым литературным источникам. Так, в работе Liu и соавт. было показано, что терапия вилдаглиптином в дозе 8 мг/кг, назначенная сразу после манифестации стрептозотоцинового СД 1-го типа у крыс Sprague-Dawley, приводила к улучшению ренальной функции к 24 неделе эксперимента. При этом значимые структурные изменения в почечной ткани авторам удалось обнаружить только при проведении электронной микроскопии [6]. Обнаруженные нефропротективные свойства препарата не зависели от сахароснижающего эффекта вилдаглиптина и были ассоциированы со снижением гиперпродукции трансформирующего ростового фактора β -1 (TGF- β 1), выполняющего функцию контроля клеточного роста, клеточной пролиферации, дифференцировки и апоптоза клеток и рассматривающегося, по современным представлениям, в качестве одного из ключевых медиаторов повреждения почек при СД. [6, 4]. В нашем исследовании вилдаглиптин улучшал морфофункциональные сдвиги в менее продолжительные сроки (8-недельная терапия), будучи назначенным экспериментальным животным по прошествии 8 недель пребывания крыс в состоянии гипергликемии. Кроме того, за счет редукции 50% массы функционирующей почечной паренхимы происходило ускорение наступления структурных и функциональных признаков ДН, нефропротективные свойства вилдаглиптина удалось доказать при проведении светооптической микроскопии.

Выводы

У получавших высокожировое питание геминефрэктомированных крыс со стрептозотацин-индуцированным сахарным диабетом терапия ингибитором ДПП-4 вилдаглиптином значимо уменьшала уровни рутинных маркеров повреждения почек и выраженность морфологических диабетических изменений. Полученные результаты могут свидетельствовать о наличии у вилдаглиптина, помимо сахароснижающего действия, нефропротективных свойств, что требует дальнейших исследований в этой области, в том числе выясняющих патогенетические механизмы нефропротекции.

Исследование проведено с использованием оборудования ресурсного центра «Развитие молекулярных и клеточных технологий» СПбГУ и при поддержке гранта РФФИ N 15-04-08138/15. Авторы выражают благодарность руководителю НИЛ клинической эндокринологии ФГБУ СЗ ФМИЦ д.м.н. А.А. Байрамову за содействие в проведении исследования.

Список литературы

1. Дедов И.И., Шестакова М.В. Инкретины: новая веха в лечении сахарного диабета 2-го типа: практ. рук. для врачей. — М.: Дипак, 2010. — 92 с.

2. Fröde T.S., Medeiros Y.S. Animal models to test drugs with potential antidiabetic activity // *J. Ethnopharmacol.* — 2008. Vol. 115. № 2. — P. 173–183.
3. Haluzík M., Frolík J., Rychlík I. Renal Effects of DPP-4 Inhibitors: A Focus on Microalbuminuria // *Int. J. Endocrinol.* — Vol. 2013 (2013). <http://dx.doi.org/10.1155/2013/895102> (дата обращения 7.06.2013)
4. Kato M., Natarajan R. Diabetic nephropathy — emerging epigenetic mechanisms // *Nat. Rev. Nephrol.* — 2014. Vol. 10. № 9. — P. 517–530.
5. Kodera R., Shikata K., Takatsuka T. [et al.]. Dipeptidyl peptidase-4 inhibitor ameliorates early renal injury through its anti-inflammatory action in a rat model of type 1 diabetes // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 2014. Vol. 443. № 3. — P. 828–833.
6. Liu W.J. Xie S.H., Liu Y.N. [et al.]. Dipeptidyl peptidase IV inhibitor attenuates kidney injury in streptozotocin-induced diabetic rats // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* — 2012. Vol. 340. № 2. P. 248–255.
7. Mason R.P., Jacob R.F., Kubant R. [et al.]. Dipeptidyl peptidase-4 inhibition with saxagliptin enhanced nitric oxide release and reduced blood pressure and sICAM-1 levels in hypertensive rats // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* — 2012. Vol. 60. № 5. — P. 467–473.
8. Orsić V., Mihalj M., Mogus M. [et al.]. Impaired kidney function in rats six months after unilateral nephrectomy - an old story, a new perspective // *Med. Glas. Ljek. komore Zenicko-dobojskog kantona.* — 2011. Vol. 8. № 2. — P. 185–191.
9. Raij L., Azar S., Keane W. Mesangial immune injury, hypertension, and progressive glomerular damage in Dahl rats // *Kidney Int.* — 1984. Vol. 26. № 2. — P. 137–143.
10. Zhang M., Lv X.Y., Li J. [et al.]. The characterization of high-fat diet and multiple low-dose streptozotocin induced type 2 diabetes rat model // *Exp. Diabetes Res.* — Vol. 2008(2008):704045.

Рецензенты:

Власов Т.Д., д.м.н., проф., заведующий кафедрой патологической физиологии с курсом клинической патофизиологии, декан лечебного факультета ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, г. Санкт-Петербург;

Митрейкин В.Ф., д.м.н., проф. кафедры патологической физиологии с курсом клинической патофизиологии ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, г. Санкт-Петербург.