

Особенности изменений в системе антиоксиданты/прооксиданты у пациентов с сахарным диабетом 1 и 2 типа, осложненным дистальной нейропатией и синдромом диабетической стопы

А.С. Денисюкова, д.м.н. И.И. Павлюченко, д.м.н. Л.А. Иванова, З.С. Попов, к.т.н. В.И. Попов

ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, Краснодар

РЕЗЮМЕ

Цель исследования: изучить особенности изменений в системе антиоксиданты/прооксиданты у пациентов с сахарным диабетом (СД) 1 и 2 типа, осложненным дистальной нейропатией (ДН) и синдромом диабетической стопы (СДС).

Материал и методы: обследовано 149 пациентов с СД 1 и 2 типа в стадии декомпенсации, осложненным ДН и/или СДС, которых распределили в 4 группы. Первую группу составили пациенты с СД 1 типа, осложненным ДН ($n=23$, 45 ± 5 лет, 11 мужчин). Во 2-ю группу вошли пациенты с СД 2 типа и ДН ($n=58$, 55 ± 5 лет, 23 мужчины). В 3-ю группу включили пациентов с СД 1 типа, сопровождающимся ДН и СДС ($n=12$, 47 ± 7 лет, 7 мужчин). В 4-ю группу вошли пациенты с СД 2 типа, осложненным ДН и СДС ($n=56$, 59 ± 9 лет, 30 мужчин). Контрольную группу составили 19 практически здоровых лиц (50 ± 5 лет, 9 мужчин). Для оценки показателей системы антиоксиданты/прооксиданты проведено лабораторно-биохимическое исследование, в котором оценивали активность каталазы, супероксиддисмутазы, глутатионтрансферазы и уровень малонового диальдегида в плазме крови.

Результаты и обсуждение: среди пациентов с СД уровень малонового диальдегида оказался значительно повышен, что свидетельствует о выраженном окислительном стрессе. У пациентов 3-й группы активность супероксиддисмутазы и глутатион S-трансферазы была ниже, чем у пациентов 4-й группы, что указывает на более выраженный окислительный стресс у пациентов 3-й группы. Активность каталазы во всех группах статистически незначимо отличалась от контроля.

Заключение: выявлены значительные изменения в системе антиоксиданты/прооксиданты у пациентов с СД 1 и 2 типа, осложненным ДН и СДС.

Ключевые слова: сахарный диабет, дистальная нейропатия, синдром диабетической стопы, антиоксиданты, прооксиданты, каталаза, супероксиддисмутаза, малоновый диальдегид, глутатион S-трансфераза.

Для цитирования: Денисюкова А.С., Павлюченко И.И., Иванова Л.А. и др. Особенности изменений в системе антиоксиданты/прооксиданты у пациентов с сахарным диабетом 1 и 2 типа, осложненным дистальной нейропатией и синдромом диабетической стопы. РМЖ. 2023;2:3–6.

ABSTRACT

Patterns of changes in the antioxidant / prooxidant system in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus complicated by distal neuropathy and diabetic foot syndrome

A.S. Denisjukova, I.I. Pavlyuchenko, L.A. Ivanova, Z.S. Popov, V.I. Popov

Kuban State Medical University, Krasnodar

Aim: to study the patterns of changes in the antioxidant / prooxidant system in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus (DM) complicated by distal neuropathy and diabetic foot syndrome.

Patients and Methods: 149 patients with type 1 and type 2 DM in the decompensation stage complicated by distal polyneuropathy and/or diabetic foot syndrome were examined, who were divided into 4 groups. Group I consisted of patients with type 1 diabetes mellitus complicated by distal polyneuropathy ($n=23$, 45 ± 5 years, 11 male patients). Group II included patients with type 2 DM and distal polyneuropathy ($n=58$, 55 ± 5 years, 23 male patients). Group III included patients with type 1 DM accompanied by distal polyneuropathy and diabetic foot syndrome ($n=12$, 47 ± 7 years, 7 male patients). Group IV included patients with type 2 diabetes mellitus complicated by distal polyneuropathy and diabetic foot syndrome ($n=56$, 59 ± 9 years, 30 male patients). The control group consisted of 19 practically healthy individuals (50 ± 5 years, 9 men). To assess the indicators of the antioxidant / prooxidant system, a biochemistry laboratory study was conducted, in which the activity of catalase, superoxide dismutase, glutathione transferase and the level of malondialdehyde in blood plasma were evaluated.

Results: among patients with DM, the level of malondialdehyde was significantly increased, which indicated a significant oxidative stress. In group 3, the activity of superoxide dismutase and glutathione S-transferase was lower than in group 4, indicating more significant oxidative stress in group 3. Catalase activity in all groups differed slightly from the control.

Conclusion: significant changes in the antioxidants/prooxidants system were revealed in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus with complicated distal polyneuropathy and diabetic foot syndrome.

Keywords: diabetes mellitus, distal polyneuropathy, diabetic foot syndrome, antioxidants, prooxidants, catalase, superoxide dismutase, malondialdehyde, glutathione S-transferase.

For citation: Denisjukova A.S., Pavlyuchenko I.I., Ivanova L.A. et al. Patterns of changes in the antioxidant / prooxidant system in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus complicated by distal neuropathy and diabetic foot syndrome. RMJ. 2023;2:3–6.

ВВЕДЕНИЕ

Число больных сахарным диабетом (СД) в мире за последнее десятилетие увеличилось более чем в 2 раза и к концу 2021 г. превысило 537 млн человек. Согласно прогнозам Международной диабетической федерации к 2030 г. СД будут страдать 643 млн человек, а к 2045 г. — 784 млн [1].

Согласно данным Федерального регистра СД на 01.01.2022 в Российской Федерации на диспансерном учете состояло 4 871 863 пациента с диагнозом СД, т. е. 3,34% населения. Среди них СД 1 типа диагностирован у 5,6%, СД 2 типа — у 92,3%, а 2,1% приходится на другие формы диабета, в том числе гестационный СД [2].

Исследования, проведенные в последние годы, подтверждают мультифакторную природу СД. Большое значение в развитии заболевания принадлежит внешним средовым факторам, прежде всего способствующим развитию дисбаланса в системе антиоксиданты/прооксиданты с активацией неконтролируемых процессов свободнорадикального окисления и перекисного окисления структурных и функциональных биомолекул организма [3].

Малоновый диальдегид (МДА) — продукт перекисного окисления липидов (ПОЛ), содержание которого в плазме крови коррелирует с активностью процессов перекисидации на тканевом и клеточном уровнях. Степень повреждения клеток, обусловленного воздействием свободных радикалов, можно определить по уровню МДА [4].

Супероксиддисмутаза (СОД) — основной фактор антиоксидантной защиты (АОЗ). Этот фермент регулирует окислительный стресс, липидный обмен, уровень воспаления; предотвращает ПОЛ, окисление липопротеинов низкой плотности в макрофагах, образование липидных капель и адгезию воспалительных клеток в эндотелии [5].

Важный компонент системы АОЗ — каталаза (КАТ), обеспечивающая контроль накопления перекисей, в том числе и образующихся за счет функционирования СОД. Существует корреляция между уровнем КАТ и метаболическими нарушениями при различных заболеваниях. Исследования показали, что содержание каталазоспецифической мРНК, белков и ферментативная активность КАТ напрямую коррелировали с повреждением тканей, что согласуется с более низкой экспрессией КАТ в нелеченых диабетических группах [6].

Глутатион S-трансфераза (Г-S-T) катализирует реакции детоксикации различных окисленных метаболитов, в частности катехоламинов, и является составной частью системы АОЗ, препятствуя дегенеративным клеточным процессам. Фермент Г-S-T и его кофермент глутатион — важные антиоксидантные факторы в системе клеточной защиты против активных форм кислорода. В эксперименте было показано, что перепроизводство свободных радикалов в мозге крыс с СД приводит к окислительному повреждению мембранных липидов, белка и в конечном итоге к снижению содержания Г-S-T [7].

Течение СД у каждого пациента индивидуально и зависит от выраженности изменений метаболизма на фоне гипергликемии, включая нарушения окислительных процессов, приводящих к развитию различных осложнений СД [8]. Дистальная нейропатия (ДН) и синдром диабетической стопы (СДС) значительно осложняют течение СД. Эти состояния являются наиболее частой причиной госпитализации, ухудшения качества жизни и инвалидизации больных СД. Именно поэтому изуче-

ние механизмов развития и особенностей течения ДН и СДС столь актуально.

Цель исследования: изучить особенности изменений в системе антиоксиданты/прооксиданты у пациентов с СД 1 и 2 типа, осложненным ДН и СДС.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследовано 149 пациентов с СД 1 и 2 типа в стадии декомпенсации, сопровождающимся ДН и СДС. Пациентов распределили в 4 группы. В 1-ю группу вошли пациенты с СД 1 типа и ДН ($n=23$, 45 ± 5 лет, 11 мужчин). Во 2-ю группу включили больных СД 2 типа и ДН ($n=58$, 55 ± 5 лет, 23 мужчины). В 3-ю группу вошли пациенты с СД 1 типа, сопровождающимся ДН и СДС ($n=12$, 47 ± 7 лет, 7 мужчин). В 4-ю группу включили пациентов с СД 2 типа, также сопровождающимся ДН и СДС ($n=56$, 59 ± 9 лет, 30 мужчин). Контрольную группу составили 19 практически здоровых лиц (50 ± 5 лет, 9 мужчин).

Критерии включения в исследование: пациенты 40–70 лет с СД 2 типа, осложненным ДН, принимающие пероральные сахароснижающие препараты или получающие инсулинотерапию; пациенты 40–70 лет с СД 2 типа, сопровождающимся СДС, получающие инсулинотерапию; пациенты старше 18 лет с СД 1 типа, осложненным ДН или СДС, получающие инсулинотерапию.

Критерии невключения: пациенты с тяжелыми сопутствующими заболеваниями, в том числе онкологическими, неалкогольной жировой болезнью печени на стадии цирроза или фиброза; с острым коронарным синдромом; бронхообструктивными заболеваниями легких (хроническая обструктивная болезнь легких, бронхиальная астма, обструктивный бронхит и др.); с тяжелыми неврологическими расстройствами; пациенты, не давшие добровольного согласия на исследование; беременные женщины.

Диагноз СД у всех пациентов подтвержден клинико-лабораторными исследованиями. В работе использованы рекомендации федеральной целевой программы «Сахарный диабет» [9]. Все обследованные пациенты дали информированное добровольное согласие на исследование.

Проведено лабораторно-биохимическое исследование с целью оценки показателей системы антиоксиданты/прооксиданты в плазме крови. Для лабораторных исследований использовали ламинарные шкафы 2-го класса защиты, ПЦР-бокс, морозильную камеру с температурой $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, криоморозильную камеру с температурой $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$, спектрофотометр «Пикодроп» с персональным компьютером, весы аналитические электрические, рН-метр, термостат твердотельный TDB 2400, термостат-инкубатор, центрифугу «Вортекс», центрифугу MiniSpin, мешалки электромагнитные.

Из образцов периферической венозной крови получали гемолизат эритроцитов по стандартной методике [10]. Полученный прозрачный гемолизат помещали в стоящую на льду пробирку и использовали для определения активности КАТ, Г-S-T, СОД и уровня МДА.

Для расчета Г-S-T и СОД определяли количество гемоглобина (Hb) в гемолизате [10]. Активность КАТ определяли и рассчитывали с помощью методики, основанной на способности перекиси водорода (H_2O_2) образовывать стойкий окрашенный комплекс с солями молибдена. Активность КАТ описывали отношением H_2O_2 (нМоль) / Hb (мг) [11]. Активность Г-S-T исследовали по методике, основанной

на определении скорости конъюгации восстановленного глутатиона и 1-хлор-2,4-динитробензола и выражали в мМоль/мин/мг [12]. Уровень МДА в гемолизате определяли по реакции с тиобарбитуровой кислотой [13]. Активность СОД в гемолизате оценивали по методике, основанной на скорости ингибирования окисления адреналина [14], и выражали в условных единицах (у. е.).

Для сравнения выборок применяли однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA), одним из условий которого является нормальное распределение признака в статистических совокупностях, из которых извлечены выборки, проверенные с помощью критерия согласия Пирсона (χ^2). Множественные попарные сравнения выполнены с помощью критерия Тьюки. Статистически значимыми признаны показатели при $p < 0,05$. Данные представлены в виде среднего арифметического со стандартной ошибкой.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При анализе и статистической обработке полученных данных установлено, что у больных СД, по сравнению с контрольной группой, активируется ПОЛ, что сопровождается накоплением его первичных и конечных продуктов, прежде всего МДА (см. таблицу). Так, при оценке степени прооксидантной нагрузки на основании данных о содержании продуктов ПОЛ у пациентов всех исследуемых групп значения МДА отличались от показателей контрольной группы. Средний показатель МДА в контрольной группе составил $5,40 \pm 0,58$ мкМоль/л. У пациентов 1-й группы уровень МДА практически в 2 раза превышал значения в контрольной группе. У пациентов 2-й группы концентрация МДА оказалась на 30,4% выше, чем в контрольной группе. Среди пациентов с СД, осложненным ДН и СДС, отличие значений МДА от значений в контрольной группе оказалось еще более выраженным. У пациентов 3-й группы концентрация МДА в 3,8 раза превышала значения в контрольной группе, а у пациентов 4-й группы — в 4,4 раза.

Установлено статистически значимое повышение уровня МДА у пациентов 1-й группы по сравнению с пациентами 2-й группы ($p < 0,01$). В то же время уровень МДА у пациентов 2-й группы статистически значимо превышал показатели МДА пациентов контрольной группы ($p < 0,001$). Анализ полученных данных показал, что у пациентов с СД 1 и 2 типа с ДН активируются избыточная пероксидация липидов и накопление ее продуктов по сравнению с контрольной группой.

У пациентов всех исследуемых групп значительно повышена активность ПОЛ по сравнению с контрольной груп-

пой, что свидетельствует о значительном окислительном стрессе, который наиболее выражен у пациентов с СД 1 и 2 типа, осложненным ДН и СДС. Данный факт может свидетельствовать о глубоких нарушениях метаболических процессов при СД, прежде всего у пациентов с осложнениями сосудистого характера, что, вероятно, связано с повреждением клеток свободными радикалами. Ранее было показано, что уровень МДА повышен у пациентов с СД, особенно сопровождающимся СДС [15].

Известно, что дефицит инсулина и гипергликемия активируют липопероксидацию у больных СД. Инсулин ингибирует ПОЛ, влияет на подвижность липидов мембран и утилизацию перекисей. Усиление процессов пероксидации приводит к дислипидемии и повреждению эндотелия. Накопление продуктов пероксидации при СД может влиять на биологические эффекты инсулина, его продукцию и функционирование. У пациентов с СД 1 типа недостаток инсулина абсолютный, что и лежит в основе патогенеза этого заболевания [3].

При изучении системы АОЗ установлены различные отклонения средних изучаемых показателей в группах пациентов с СД по сравнению с группой контроля (см. таблицу), однако эти изменения носили статистически незначимый характер. Тем не менее установлено, что показатель активности СОД оказался статистически значимо ниже у пациентов с СД 1 типа, осложненным ДН и СДС (3-я группа), по сравнению с группой пациентов с СД 2 типа, осложненным ДН и СДС (4-я группа) ($p < 0,01$). Ранее было показано, что у пациентов с СД, осложненным СДС, отмечались изменения таких показателей АОЗ, как СОД, Г-S-T и КАТ [15].

Анализ показателей СОД позволяет сделать вывод о том, что у пациентов с СД 1 типа с ДН и СДС уровень АОЗ ниже по сравнению с пациентами с СД 2 типа, осложненным ДН и СДС. Следовательно, у пациентов с СД 1 типа, осложненным ДН и СДС, выше окислительный стресс, в большей степени выражены ПОЛ, адгезия липидных клеток в эндотелии и другие нарушения липидного обмена.

На фоне снижения активности СОД у больных СД 1 типа с ДН и СДС показатели Г-S-T оказались статистически значимо ниже по сравнению со значениями в группе больных СД 2 типа с ДН и СДС ($p < 0,01$). Эти изменения могут привести к менее эффективному обезвреживанию продуктов свободнорадикального окисления.

Среди пациентов с СД 2 типа, осложненным ДН и СДС, Г-S-T оказался статистически значимо выше (на 27%), чем в контрольной группе ($p < 0,001$). Анализ активности Г-S-T позволяет сделать вывод о том, что у пациентов с СД 1 типа,

Таблица. Показатели процессов свободнорадикального окисления у пациентов с СД 1 и 2 типа

Показатель	1-я группа (n=23)	2-я группа (n=58)	p	p ₁	p ₂	3-я группа (n=12)	4-я группа (n=56)	p	p ₁	p ₂	Контрольная группа
СОД, у. е.	72,68±2,51	69,51±1,46	0,506	0,903	0,274	69,42±1,98	80,72±1,42	0,003	0,437	0,058	74,22±2,77
МДА, мкМоль/л	10,56±1,36	7,09±0,30	0,001	<0,001	0,203	20,69±1,87	23,83±0,80	0,177	<0,001	<0,001	5,4±0,58
КАТ, H ₂ O ₂ (нМоль) / Hb (мг)	37,8±1,12	37,51±0,93	0,983	0,934	0,831	39,86±1,79	41,89±0,60	0,466	0,786	0,056	38,54±1,62
Г-S-T, мМоль/мин/мг	36,63±1,39	38,14±1,19	0,741	0,511	0,814	42,12±2,62	50,26±1,15	0,009	0,67	<0,001	39,47±1,69

Примечание. p — статистическое отличие показателя в группе пациентов с СД 1 типа от показателя в группе пациентов с СД 2 типа; p₁ — статистическое отличие показателя в группе пациентов с СД 1 типа относительно контрольной группы; p₂ — статистическое отличие показателя в группе пациентов с СД 2 типа относительно контрольной группы.

осложненным ДН и СДС, напряжение в системе АОЗ более выражено по сравнению с больными СД 2 типа, осложненным ДН и СДС. Кроме того, у этих пациентов также нарушена функция системы биотрансформации ксенобиотиков, что может быть причиной более активных дегенеративных процессов. В связи с этим можно предположить снижение эффективности фармакотерапии СД 2 типа, осложненного ДН и СДС, поскольку повышенная активность фермента 2-й фазы биотрансформации ксенобиотиков (в том числе и лекарственных веществ) может индуцировать их более быструю инактивацию и выведение.

Показатели активности фермента второй линии системы АОЗ — КАТ незначительно отличались от показателей в группе контроля. Несущественное, статистически незначимое повышение (на 8,8%) активности фермента отмечено у пациентов с СД 1 типа, осложненным ДН и СДС.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Незначительные изменения в функционировании ферментов системы АОЗ на фоне значительной активации процессов ПОЛ могут служить отражением дисбаланса в системе антиоксиданты/прооксиданты и выраженного окислительного стресса у пациентов с СД. Окислительный стресс у больных СД способствует развитию таких осложнений, как ДН и СДС, о чем свидетельствует повышенный уровень продуктов липопероксидации, а именно МДА, у обследованных пациентов, а также снижение показателей АОЗ, таких как СОД. Эти осложнения являются следствием истощения компенсаторных механизмов организма на фоне окислительного стресса. Вместе с тем повышенный показатель Г-S-T у пациентов с СД 2 типа, осложненным ДН и СДС, свидетельствует о повышении активности системы АОЗ и изменениях в работе системы биотрансформации ксенобиотиков.

Таким образом, выявленные изменения в системе антиоксиданты/прооксиданты влияют на развитие и течение ДН и СДС у пациентов с СД 1 и 2 типа.

Исследование выполнено за счет средств гранта «Участник молодежного научно-инновационного конкурса» федерального государственного бюджетного учреждения «Фонд содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере».

Литература

1. Sun H., Saeedi P., Karuranga S. et al. IDF Diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045. *Diabetes Res Clin Pract.* 2022;183:109–119. DOI: 10.1016/j.diabres.2021.109119.

2. Дедов И.И., Шестакова М.В., Викулова О.К. и др. Эпидемиологические характеристики сахарного диабета в Российской Федерации: клинико-статистический анализ по данным Федерального регистра сахарного диабета на 01.01.2021. Сахарный диабет. 2021;24(3):204–221. [Dedov I.I., Shestakova M.V., Vikulova O.K. et al. Epidemiological characteristics of diabetes mellitus in the Russian Federation: clinical and statistical analysis according to the Federal diabetes register data of 01.01.2021. *Diabetes mellitus.* 2021;24(3):204–221 (in Russ.)]. DOI: 10.14341/DM12759.
3. Бардымова Т.П., Колесникова Л.И. Окислительный стресс у больных сахарным диабетом. Бюллетень ВШЦ СО РАМН. 2005;5(43):183–186. [Bardymova T.P., Kolesnikova L.I. Oxidative stress in patients with diabetes mellitus. *Bulletin of the East Siberian Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2005;5(43):183–186 (in Russ.)].
4. Handayani P.N., Shanty N.M.A., Guna N.K.S.D., Dewi N.W.S. Antioxidant potential of White Turi Stem (*Sesbania grandiflora*) in reducing Malondialdehyde (MDA) and blood glucose levels in type 2 diabetes mellitus model mice. *Int J Res Rev.* 2022;9(6):520–526. DOI: 10.52403/ijrr.20220655.
5. Islam M.N., Abdur R., Fahad F.I. et al. Superoxide dismutase: an updated review on its health benefits and industrial applications. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2022;62(26):7282–7300. DOI: 10.1080/10408398.2021.1913400.
6. Hamza R.Z., Al-Motaani S.E., Al-Talhi T. Therapeutic and ameliorative effects of active compounds of *Combretum molle* in the treatment and relief from wounds in a diabetes mellitus experimental model. *Coatings.* 2021;11(3):324. DOI: 10.3390/coatings11030324.
7. Onikanni A.S., Lawal B., Oyinloye B.E. et al. Therapeutic efficacy of *Clompanus pubescens* leaves fractions via downregulation of neuronal cholinesterases/ Na^+ - K^+ ATPase/ $\text{IL-1}\beta$, and improving the neurocognitive and antioxidant status of streptozotocin-induced diabetic rats. *Biomed Pharmacother.* 2022;148:1127–1130. DOI: 10.1016/j.biopha.2022.112730.
8. Сторожаков Г.И., Эттингер О.А., Швецова И.К. Современные аспекты патогенеза, диагностики и лечения поражения сердца у больных сахарным диабетом. Атмосфера. Новости кардиологии. 2010;4:2–11. [Storozhakov G.I., Ettinger O.A., Shvetsova I.K. Modern aspects of pathogenesis, diagnosis and treatment of heart disease in patients with diabetes mellitus. *Atmosfera. Novosti kardiologii.* 2010;4:2–11 (in Russ.)].
9. Дедов И.И., Шестакова М.В., Максимова М.А. Федеральная целевая программа «Сахарный диабет»: метод. рекомендации. М.; 2002. [Dedov I.I., Shestakova M.V., Maksimova M.A. Federal target program «Diabetes mellitus»: method. recommendations. М.; 2002 (in Russ.)].
10. Лопатина Н.И., Геронимус А.Л., Тренестова Е.П. Определение фетального гемоглобина в крови при помощи ФЭКа. Лабораторное дело. 1976:328–331. [Lopatina N.I., Geronomus A.L., Trenestova E.P. Determination of fetal hemoglobin in the blood using FEC. *Laboratornoe delo.* 1976:328–331 (in Russ.)].
11. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы. Лабораторное дело. 1988;1:16–19. [Korolyuk M.A., Ivanova L.I., Mayorova I.G., Tokarev V.E. Method for determining catalase activity. *Laboratornoe delo.* 1988;1:16–19 (in Russ.)].
12. Арутюнян А.В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма: метод. рекомендации. Под ред. В.Х. Хавинсона. СПб.: ИКФ «Фолиант»; 2000. [Arutyunyan A.V., Dubinina E.E., Zyбина N.N. Methods for assessing free radical oxidation and the antioxidant system of the body: method. recommendations. Havinson V.H., ed. St. Petersburg: IKF "Foliant"; 2000 (in Russ.)].
13. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. Современные методы в биохимии. М.: Медицина; 1977. [Stalnaya I.D., Garishvili T.G. Method of determination of malonic dialdehyde using thiobarbituric acid. *Modern methods in biochemistry.* М.: Medicine; 1977 (in Russ.)].
14. Fried R. Enzymatic and non-enzymatic assay of superoxide dismutase. *Biochimie.* 1975;57(5):657–660. DOI: 10.1016/s0300-9084(75)80147-7.
15. Николаева Л.П., Черданцев Д.В., Степаненко А.В., Козлов В.В. Состояние антиоксидантной активности у больных с синдромом диабетической стопы. Сибирское медицинское обозрение. 2011;2:37–39. [Nikolaeva L.P., Cherdanvez D.V., Stepanenko A.V., Kozlov V.V. Antioxidant activity in patients with diabetic foot syndrome. *Siberian medical review.* 2011;2:37–39 (in Russ.)].