

*На правах рукописи*

Шрамко Юлиана Ивановна

**МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА И  
ВОЗМОЖНОСТИ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ С  
ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КОНЦЕНТРАТОВ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ  
ПРОДУКТОВ**

3.3.3. – Патологическая физиология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

Симферополь – 2022

Работа выполнена в Институте «Медицинская академия имени С. И. Георгиевского» Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации

**Научный консультант:**

доктор медицинских наук, профессор **Кубышкин Анатолий Владимирович**

**Официальные оппоненты:**

**Медведев Олег Стефанович**, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова», заведующий кафедрой фармакологии факультета фундаментальной медицины

**Зима Анастасия Павловна**, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, профессор кафедры молекулярной медицины и клинической лабораторной диагностики

**Коваленко Людмила Васильевна**, доктор медицинских наук, профессор, Бюджетное учреждение высшего образования Ханты-Мансийского автономного округа – Югры «Сургутский государственный университет», Департамента образования и науки Ханты-Мансийского автономного округа – Югры, заведующая кафедрой патофизиологии и общей патологии

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «\_\_» \_\_\_\_\_ 2023 года в \_\_\_\_\_ часов на заседании диссертационного совета 24.2.318.01 при Институте «Медицинская академия имени С. И. Георгиевского» Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского» по адресу : 295051, Симферополь, бульвар Ленина, 5/7.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института «Медицинская академия имени С. И. Георгиевского» Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского» по адресу: 295051, Симферополь, бульвар Ленина, 5/7 и на сайте: <http://cfuv.ru/>

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2022

Ученый секретарь диссертационного совета 24.2.318.01  
доктор медицинских наук, доцент

Зяблицкая  
Евгения Юрьевна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования и степень ее разработанности.** Метаболический синдром (МС) — это комплекс, включающий абдоминальное ожирение (АО), артериальную гипертензию (АГ), дислипидемию и сахарный диабет 2-го типа (СД2) с единым патогенетическим механизмом развития тканевой инсулинорезистентности (ИР) и гиперинсулинемии (ГИ). В настоящее время распространенность МС в мире на основании различных критериев его диагностики определяется от 10 до 84 %, в зависимости от географического региона (Кыткова О. Ю. и др., 2021; Gluvic Z., et al., 2017) и продолжает ежегодно возрастать (Saklayen M. G., 2018). АО, которое по своей сути является увеличением количества висцеральной жировой ткани, входит в число основных признаков МС (Галагудза М. М., 2022). Число людей, страдающих ожирением, также ежегодно увеличивается (Вербовой А. Ф., Шаронова Л. А., 2019). По данным (Дедов И. И., Мокрышева Н. Г., 2021), в настоящее время не менее 30 % трудоспособного населения России имеют избыточную массу тела, из них 25 % страдают ожирением.

Избыточное накопление жировой ткани при АО сопровождается изменениями в функционировании адипоцитов и распределении жировой ткани в организме (van Vliet-Ostapchouk J.V., 2014). Особенности висцеральных адипоцитов являются высокая чувствительность к липолитическому действию катехоламинов и низкая к антилиполитическому действию инсулина, а также способность к синтезу активных форм кислорода и различных провоспалительных медиаторов, что приводит к развитию синдрома системной воспалительной реакции и МС. Установлены корреляционные связи между системным воспалением и нарушениями углеводного обмена (Мусина Н. Н. и др., 2021). Существенную роль в развитии каскада патогенетических процессов, развивающихся на фоне абдоминального ожирения, отводят именно адипокинам (Галагудза М. М., 2022). Наибольшее значение среди последних имеют адипонектин и лептин. Они обладают способностью модифицировать продукцию инсулина, изменяют трансдукцию инсулинового сигнала в периферических клетках, активность рецепторов к инсулину, интенсивность липогенеза (Романцова Т. И., Сыч Ю. П., 2019). Адипонектин через свои рецепторы ADIPOR1 и ADIPOR2 вовлечен в метаболизм жировой ткани, регулирует энергетический гомеостаз и оказывает противовоспалительный и антиатерогенный эффекты (Маркова Т. Н., 2022). Лептин также является ключевым гормоном, регулирующим массу тела, функционирующий как вспомогательный сигнал насыщения для гипоталамуса, где он запускает каскад нейроэндокринных реакций, приводящих к ингибированию орексигенных пептидов (Бородкина Д. А., 2018).

Дефицит лептина и /или адипонектина приводит к нарушениям многих важнейших функций, в частности, вызывает репродуктивную недостаточность, ожирение, инсулинорезистентность, сахарный диабет, МС и аутоиммунные заболевания (Петренко В. И. и соавт., 2019; Чаулин А. М., Григорьева Ю. В., 2021). Дефицит данных адипокинов может быть обусловлен мутацией в соответствующих генах (Авзалетдинова Д. Ш., 2019; Бородкина Д. А., 2018;

Ghoshal K., 2015.). Поэтому изучение вариаций в генах адипонектина и лептина позволит выявить пациентов с большим риском неблагоприятных последствий ожирения и применять по отношению к ним более целенаправленную терапию.

В то же время лечение и профилактика МС синтетическими медикаментами представляет серьезные трудности ввиду их значительных побочных эффектов, высокой стоимости, неэффективности в некоторых случаях и недостаточной доступности для многих людей во всем мире. В связи с этим возрастает интерес к использованию продуктов натурального происхождения для коррекции данной медико-социальной проблемы. Последние исследования считают антиоксидантную активность главным механизмом действия продуктов натурального происхождения в лечении и профилактике МС и СД2 (Белова Е. А. и др., 2022; Liu K. et al., 2019; Guo Q. et al., 2020). Большинство исследователей отмечают корреляцию антиоксидантной активности лекарственных растений с содержанием в них полифенолов (Белова Е. А. и др., 2022; Bagetta D. et al., 2020; Zhang S., et al., 2021). Полифенолы самостоятельно не синтезируются в организме человека и должны постоянно поступать с растительной пищей. Однако, их биологическая доступность для человека крайне мала, вследствие низкой растворимости полифенолов в воде (Мазо В. К. и др., 2018). В связи с тем, что виноград является одним из наиболее важных источников полифенолов среди фруктов (Зайцев Г. П., 2020; Li L., Sun B., 2019), полифенолы могут применяться в составе виноградных пищевых концентратов, приготовленных по специальным технологиям (Черноусова И. В. и др., 2021; Саракова Z. et al., 2018). Программой ВОЗ определена статистически значимая доза ежедневного потребления полифенолов, защищающая от коронарной недостаточности (WHO, 2013), что соответствует 750 мг полифенолов или адекватной дозе 10 мг/кг массы тела человека (MP 2.3.1.2432—08, 2015; Черноусова И. В., 2020). Было показано (Остроухова Е. В. и др., 2019), что массовые концентрации фенольных веществ, обнаруженные в соке ягод и концентратах из перспективных отечественных сортов винограда Краснодарского края и Крыма, значительно выше таковых у западноевропейских сортов. Следует отметить, что наблюдается существенный недостаток исследований, в который был бы проведен систематический анализ экспериментальных данных по коррекции полифенолами винограда, моделированного МС, который, в то же время, был бы сопоставлен с данными клинических испытаний действия полифенолов винограда при естественном развитии МС и его кардиоваскулярных осложнений. Кроме того, назрела необходимость в создании индивидуализированных рекомендаций по применению полифенолов винограда в связи с неоднозначными данными по ассоциации полиморфных маркеров генов лептина, *ADIPOQ*, *ADIPOR1* и *ADIPOR2* с МС, СД2 и их кардиоваскулярными осложнениями.

В связи со всем вышеизложенным, представляется актуальным изучение патофизиологических механизмов развития МС и поиск патогенетически обоснованных подходов для профилактики и терапии МС, в том числе на основе изучения полиморфных маркеров генов, ассоциированных с МС и СД2 в различных популяциях, проживающих в Республике Крым.

**Цель исследования** – установить роль провоспалительных механизмов и генетических особенностей в патогенезе метаболических и структурных нарушений при развитии метаболического синдрома и обосновать возможности использования продуктов, насыщенных полифенолами, для профилактики и коррекции его развития.

**Задачи исследования:**

1. Изучить роль провоспалительных изменений и активации перекисного окисления липидов в развитии экспериментального метаболического синдрома.
2. Определить значение активации TLR4 зависимых каскадов и роль GLUT4 в механизмах внутриклеточного метаболизма жирных кислот и обмена адипоцитов в эксперименте на лабораторных крысах.
3. Сопоставить характер морфологических изменений органов-мишеней с метаболическими и воспалительными нарушениями при моделировании МС у экспериментальных животных.
4. Выявить ассоциации полиморфных маркеров генов лептина, *ADIPOQ*, *ADIPOR1*, *ADIPOR2* с риском развития метаболического синдрома и его гемодинамических осложнений в крымской популяции в клинике.
5. Изучить влияние полифенольных продуктов переработки винограда на биологические объекты путем тестирования *in vitro*.
6. Определить дозо- и компонентозависимый характер влияния полифенольных продуктов переработки винограда на ключевые механизмы формирования метаболического синдрома в эксперименте.
7. Изучить эффективность применения полифенольных продуктов переработки винограда в комплексе реабилитационного лечения больных с гемодинамическими нарушениями, развивающимися на фоне метаболического синдрома.
8. Патогенетически обосновать критерии применения полифенольных продуктов переработки винограда в комплексе реабилитационного лечения и дать практическое обоснование и рекомендации в использовании полифенольных продуктов переработки винограда при профилактике и коррекции гемодинамических осложнений метаболического синдрома.

**Научная новизна исследования.** При экспериментальном моделировании МС *in vivo* впервые выявлены нарушения в механизмах внутриклеточного метаболизма жирных кислот и обмена адипоцитов, проявляющиеся в дислипидемии, ассоциированной с угнетением механизмов антирадикальной защиты и повышением концентрации маркеров острой фазы воспаления. Причем, несмотря на увеличение в крови экспериментальных животных количества GLUT4 и PPAR $\gamma$ , не отмечается полноценной утилизации глюкозы.

При экспериментальной коррекции МС впервые установлена зависимость между концентрацией полифенолов в полифенольных продуктах переработки винограда (ПППВ) и морфофункциональными и биохимическими показателями у крыс с моделированным МС.

Показана степень достоверности биотеста на люминесцентных тест-бактериях *Photobacterium leiognath* Sh1 *in vitro* для оценки антиоксидантной активности виноматериалов и виноградных концентратов.

Впервые применен экспериментальный полифенольный концентрат с высоким содержанием полифенолов – «Фэнокор» и экспериментально показаны его гипогликемический, гипополипидемический, противовоспалительный и кардиопротективный эффекты в терапии МС *in vivo*.

При морфометрическом исследовании жировой ткани подтверждена эффективность ПППВ в борьбе с накоплением висцерального жира и их роль в нормализации функционирования адипоцитов.

При клинико-генетических исследованиях выявлены ассоциации однонуклеотидных полиморфизмов генов лептина, *ADIPOQ*, *ADIPOR1* и *ADIPOR2* с развитием основных патогенетических звеньев МС в крымской популяции.

Даны практическое обоснование и рекомендации в использовании полифенольных продуктов переработки винограда в практике санаторно-курортного лечения гемодинамических осложнений МС в виде алгоритма, воспроизводящего оптимальный подход к выбору препарата с высоким содержанием полифенолов на основании определения психосоматических характеристик пациента и присутствия полиморфных маркеров генов лептина, *ADIPOQ*, *ADIPOR1* и *ADIPOR2*.

**Теоретическая значимость работы.** Результаты проведенных исследований значительно расширяют представления о патогенезе МС на фруктозной модели. Использование 2,5 % раствора фруктозы в течение 12 недель вызвало появление основных признаков МС – абдоминального ожирения, гипергликемии и дислипидемии, дистрофических и атрофических явлений в органах-мишенях и нарушения про- и антиоксидантного баланса в крови. Также установлено, что фруктозная диета в используемой модели МС привела к изменениям в механизмах внутриклеточного метаболизма жирных кислот и обмена адипоцитов, выраженными морфологическими нарушениями в абдоминальной жировой клетчатке, с привлечением значительного количества лимфоцитов, а также явлениями воспаления, дистрофии и атрофии в органах-мишенях. При клинических исследованиях установлена ассоциация генотипа GG полиморфизма -2548 A/G (rs7799039) гена лептина с синдромом артериальной гипертензии, генотипа GG полиморфизма G (276) T (rs1501299) гена *ADIPOQ* – с гипергликемией, генотипа GT полиморфизма +45 T/G (rs2275737) Q гена *ADIPOR1* – с повышением гликированного гемоглобина, генотипа CC полиморфизма rs 2275738 гена *ADIPOR1* с наиболее выраженной гиперхолестеринемией. Также была обнаружена взаимосвязь между генотипом GA + 795 G/A (rs16928751) гена *ADIPOR2* и высоким ИМТ. У носителей генотипа GG полиморфизма rs16928751 гена *ADIPOR2* впервые установлена взаимосвязь между нормальными показателями холестерина и диастолического АД.

**Научно-практическая значимость исследования.** Результаты исследования, положения, выводы и предложения, содержащиеся в работе, являются концептуальной основой для оптимизации технологий санаторно-

курортного лечения МС и его гемодинамических осложнений. Даны практическое обоснование и рекомендации в использовании полифенольных продуктов переработки винограда в практике санаторно-курортного лечения гемодинамических осложнений МС в виде алгоритма, воспроизводящего оптимальный подход к стратегии терапии и профилактики развития МС на основании определения психосоматических характеристик пациента и присутствия полиморфных маркеров генов лептина, *ADIPOQ*, *ADIPOR1* и *ADIPOR2*. При всех выявленных типах полиморфизма показано применение ПППВ. При этом присутствие генотипа GG полиморфизма -2548 A/G (rs7799039) гена лептина обуславливает необходимость профилактики артериальной гипертензии; генотипа GG полиморфизма G (276) T (rs1501299) гена *ADIPOQ* и генотипа GT полиморфизма +45 T/G (rs2275737) гена *ADIPOR1* – применения методик снижения глюкозы в крови; генотипа CC полиморфизма rs 2275738 гена *ADIPOR1* – применения методик коррекции липидного профиля и снижения холестерина. Наличие генотипа GA + 795 G/A (rs16928751) гена *ADIPOR2* требует профилактики и /или лечения избыточной массы тела.

#### **Основные научные положения, выносимые на защиту:**

1. Полифенольные концентраты дозозависимо ингибируют люминесценцию тест-бактерий, которая коррелирует с показателями антиоксидантной активности виноматериалов и свидетельствует о биологическом эффекте. Более высокое содержание антиоксидантов в образцах приводит к более сильному ингибированию бактериальной биолюминесценции и более низким показателям интенсивности свечения тест-бактерий. Наибольшее содержание полифенолов наблюдалось в образцах «ФЭнокора».
2. В развитии метаболического синдрома прослеживается комплекс биохимических, провоспалительных и иммунных механизмов, образующих ряд замкнутых циклов патогенеза. Развитие метаболического синдрома сопровождается морфологическими признаками активного воспаления, деструкции, атрофии и фиброза в жировой ткани, печени, почек и миокарде, что происходит на фоне выраженного абдоминального ожирения, сопровождающегося нарушением про- и антиоксидантного баланса в крови.
3. В крымской популяции подтверждается высокая степень ассоциации полиморфизмов генов лептина, *ADIPOQ*, *ADIPOR1* и *ADIPOR2* с развитием СД2 и МС, что является основанием для формирования группы риска по развитию МС и СД2, а также для индивидуализации программ коррекции питания с использованием полифенольных продуктов переработки винограда при указанных видах патологии.
4. Назначение в комплексе санаторно-курортного лечения полифенолов в виде продуктов переработки красного винограда у пациентов с кардиоваскулярными осложнениями МС способствовало уменьшению субклинического воспаления, минимизации перекисного окисления липидов, увеличению активности антиоксидантных ферментов, нормализации липидного и углеводного обмена, а также основных показателей деятельности сердечно-сосудистой системы и физической работоспособности.

**Степень достоверности и апробация результатов.** О достоверности полученных результатов и обоснованности выводов в исследовании *in vivo* свидетельствует использование при проведении экспериментальных исследований 60 крыс линии Wistar в соответствии с принципом *reduction* (уменьшение количества животных), представленном в «The Principles of Human Experimental Technique» W. M. S. (Russel and R. L. Burch, 1959; Hubrecht, R. C., & Carter E., 2019). Фруктозная модель МС описана в целом ряде источников, как наиболее соответствующая критериям МС у человека (Ивницкий Ю. Ю., 2019). Достоверность результатов подтверждается также большим объемом лабораторных исследований, выполненных с применением современных методик и адекватный статистический анализ численных данных.

О достоверности полученных результатов и обоснованности выводов при клинических исследованиях свидетельствует достаточное количество обследованных лиц (100 пациентов с установленным диагнозом СД 2 типа и 100 условно здоровых субъектов – для исследования полиморфных маркеров генов лептина, *ADIPOQ*, *ADIPOR1* и *ADIPOR2*, и 259 больных для исследования использования ПППВ в комплексе санаторно-курортного лечения).

Диссертационная работа является частью плановой научно-исследовательской работы кафедры общей и клинической патологической физиологии Института «Медицинская академия имени С. И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского» – «Патогенетические механизмы развития системных и локальных воспалительных, морфофункциональных и метаболических нарушений и обоснование подходов к их патогенетической коррекции» (АААА-А17-117070450081-2). Исследования проводились в соответствии с руководящими принципами Хельсинкской декларации 1975 года (пересмотрено в 2013 году) и одобрено Комитетом по этике ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского» (Протокол № 8 от 17 января 2018 года). Информированное согласие было получено от всех участников клинических исследований.

Материалы диссертации доложены на : IX Международной конференции, посвященной 100-летию со дня рождения академика Н. М. Эммануэля (Москва, 2015); 12 Всемирном конгрессе по воспалению (Лондон, 2015); научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы физиотерапии, курортологии и медицинской реабилитации» (Ялта, 2016); конференции «Проблемы и перспективы инновационного развития экономики» (Алушта, 2017); 13 Всемирном конгрессе по воспалению (Лондон, 2017); конференции «Фенольные соединения : фундаментальные и прикладные аспекты» (Москва, 2018); конференции «Актуальные вопросы организации курортного дела, курортной политики, медицинской реабилитации и физиотерапии» (Евпатория, 2019); Конференции «Медицинский туризм. Медицинская реабилитация и санаторно-курортное лечение. Физиотерапия» (Ялта, 2019); Всероссийском форуме «Здравница» (Ялта, 2019); Международной научно-практической конференции «Современные тенденции науки, инновационные технологии в виноградарстве и виноделии» (Ялта, 2021). Работа рекомендована к защите на заседании Ученого совета Института «Медицинская академия имени С. И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского».

Апробация диссертации проведена на расширенном заседании кафедры общей и клинической патологической физиологии Института «Медицинская академия им. С. И. Георгиевского» (структурное подразделение) ФГАОУ ВО "Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского" (Симферополь, 2022).

**Публикации.** По материалам диссертационного исследования опубликовано 20 научных работ, из них – 11 в журналах, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации и 9 в международных базах цитирования. Получен 1 патент Российской Федерации на изобретение (RU 2748227 С1), а также изданы 1 методические рекомендации.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация изложена на 322 страницах компьютерного текста, состоит из введения, главы, посвященной обзору литературы, главы с описанием материала и методов исследования, четырех глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, включающего 436 отечественных и иностранных источников. В диссертации представлены 62 рисунка и микрофотографии, 61 таблица.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

**Материалы и методы.** Проведено интервенционное, одноцентровое, проспективное, выборочное, контролируемое, рандомизированное исследование без ослепления. Материалом для экспериментального исследования являлись 60 белых крыс-самцов линии Wistar массой 180-200 граммов (возраст 10-12 недель), разделенных на 6 групп. В качестве модели МС использовали модель с применением питья с 2,5 %-м содержанием фруктозы, приготовленного из кристаллической фруктозы «NovaSweet» (Новапродукт АГ, Россия). Животные всех групп получали в течение 12 недель стандартную пищу, а также питье в зависимости от группы (таблица 1).

Таблица 1 – Распределение экспериментальных животных по группам

группа	Применяемые воздействия	n
К1	вода + 0	10
К2	2,5% раствор фруктозы + 0	10
Э1	2,5% раствор фруктозы + «Фэнокор»	10
Э2	2,5% раствор фруктозы + ПППВ (разведение Р1)	10
Э3	2,5% раствор фруктозы + ПППВ (разведение Р2)	10
Э4	2,5% раствор фруктозы + ПППВ (разведение Р3)	10

Для анализа ассоциации полиморфных маркеров генов лептина, ADIPOQ, ADIPOR1 и ADIPOR2 с МС, СД2 и их сердечно-сосудистыми осложнениями было проведено непрерывное одноцентровое поисковое исследование случай-контроль, выполненное одновременно на образцах пациентов с СД2 и здоровых жителей Республики Крым. Использовалась сыворотка крови 100 пациентов с установленным диагнозом СД2 типа и 100 условно здоровых субъектов, соответствовавших критериям включения.

Для клинического исследования использования ПППВ в комплексе санаторно-курортного лечения больных было отобрано 259 больных, поступивших на санаторно-курортное лечение в государственное унитарное предприятие Республики Крым «Санаторий «Ай-Петри» из различных регионов материковой части Российской Федерации. Отбор пациентов для исследования осуществлялся методом сплошной выборки с последующей рандомизацией и учетом критериев срока санаторно-курортного лечения (не менее 15 дней) и информированного согласия пациента для включения в исследование.

Для тестирования биологической и антиоксидантной активности использовали пищевые концентраты полифенолов из винограда сортов "Каберне-Совиньон", "Саперави", "Мерло", произведенные в Крыму и на Кубани, полученные от производителей, урожая 2014 г.

**Методы исследования.** *Качественный и количественный состав полифенолов* определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием хроматографической системы "Agilent Technologies 1100" ("Agilent", США) с диодно-матричным детектором. Идентификацию веществ производили путем сравнения их спектральных характеристик времени удерживания с аналогичными характеристиками стандартов. Спектральные характеристики отдельных веществ получали с использованием данных литературы (Bagchi D. et al., 2000; Bagchi D. et al., 2003). Количественное содержание индивидуальных компонентов рассчитывали с использованием калибровочных графиков зависимости площади пика от концентрации вещества, построенных по растворам индивидуальных веществ. Содержание антоцианов определяли в пересчете на хлорид мальвидин-3-О-глюкозида, содержание кафтаровой кислоты – в пересчете на кофейную кислоту, содержание полимерных и олигомерных процианидинов производили в пересчете на (+) D-катехин. Все определения проводили в трех повторностях. Массовую концентрацию фенольных веществ определяли по методу Фолина-Чокальтеу. Для оценки антиоксидантной активности образцов продукции (сока, вина, концентратов) использовали амперометрический метод измерения массовой концентрации антиоксидантов по стандартному антиоксиданту тролоксу (Trolox) на приборе "Цвет-Яуза 01-АА" (НПО "Химавтоматика", РФ) по ГОСТ Р 54037 (ГОСТ 3 54037-2010 Продукты пищевые). Антиоксидантную активность образцов исследовали также на биологической модели люминесцентных бактерий. Изменение интенсивности билюминесценции регистрировали в течение 30 мин с использованием билюминометра "БЛМ 8801" (СКТБ "Наука", РФ) с самописцем.

*Исследование маркеров повреждения* при экспериментальном МС – определение продуктов перекисного окисления липидов и антиоксидантов, а также протеиназ. Состояние процессов ПОЛ в сыворотке крови оценивали по содержанию ТБК-активных продуктов (ТБК-АП). Изучение антиоксидантного гомеостаза включало оценку церулоплазмина (ЦП) и супероксиддисмутазы (СОД). Определение неспецифических протеиназ – трипсина (ТПА) и эластазоподобной активности (ЭПА), и их тканевых ингибиторов –

кислотостабильных ингибиторов проводили энзиматическими методами в крови крыс (Кубышкин А. В., Фомочкина И. И., 2008).

**Определение маркеров синдрома системной воспалительной реакции** – концентрации свободных TLR 4, GLUT 4, а также содержание СРБ в плазме крови крыс выполнялось с помощью тест-систем производства «CUSABIO BIOTECH Co., Ltd» (США) в соответствии с инструкциями производителя.

**Определение экспрессии полиморфных маркеров генов лептина, ADIPOQ, ADIPOR1 и ADIPOR2.** Геномную ДНК выделяли из цельной крови больных с помощью фенол-хлороформного метода. Определение однонуклеотидного полиморфизма исследуемых маркеров проводили с помощью аллель-специфической ПЦР в реальном времени с использованием наборов для ПЦР в реальном времени, праймеров и флуоресцентных зондов, синтезированных в фирме «Синтол». Условия ПЦР, последовательности праймеров, флуоресцентных зондов приведены в табл. 2 (Ходырев Н. С., 2015; Huuskonen A., 2012).

Аmplификацию полиморфизма генов проводили с помощью ПЦР в реальном времени на термоциклере «CFX96» (Biorad, USA).

Таблица 2 – Последовательности праймеров и зондов

Маркер	Праймеры 5`-3`	Зонды 5`-3`	Температура отжига, °С
<i>LEP</i> - G(-2548)A (rs7799039)	cctgtaattttcccatgagaac tgcaacatctcagcacttag	cggtccccgacagggttgcgctgatcgcca cg cggtccccgacagggttgactgatcgcca cg	95
<i>ADIPOQ</i> G(276)T (rs1501299)	caggtaagaatgtttctg agaggaatcagaatatgaa	atataaactatatgaaggcattcattattaac taa atataaactatatgaagtcattcattattaact aa	58
<i>ADIPOQ</i> +45 T/G (rs2241766)	ggagctgttctactgcta ctctttctcaccctctc	ctctgcccggtcatgaccag ctctgcccggtcatgaccag	65
<i>ADIPOR1</i> -102 T/G (rs2275737)	5`ctttgtgggaagacatct5` gcttctattcagtagtagta ta	atggtagactaaaagaaaatacaaacat gaagg atggtagactaaaagcaatacaaacat gaagg	59
<i>ADIPOR1</i> -102 T/G (-106 T/Crs2275738)	ctttgtgggaagacatct gcttctattcagtagtagta a	agactaaaagaaaacacaacatgaa ggat agactaaaagaaaatacaaacatgaag gat	59
<i>ADIPOR2</i> +219 A/T(rs11061971)	acgaagaggtgataatga atagtagtagtagtagtagt ag	aatgtggaggaagtggcagagg aatgtggaggaagtggcagagg	58
<i>ADIPOR2</i> +795 G/A(rs16928751).	cttacctgcttactcccttgct tcatctactg	caaacatgtcccactgggagactata caaacatgtcccactgggagactata	58

**Общеморфологические исследования и морфометрия.** Пробоподготовку для общей морфологии проводили по стандартной методике (Коржевский Д. Э., 2013). Из фрагментов тканей изготавливали парафиновые блоки. Из парафиновых блоков на автоматическом микротоме Leica RM 2255 (Leica, Германия) выполнялись серийные гистологические срезы толщиной 4–5 мкм. Срезы контрастировали набором для окраски гематоксилином Джилла и эозином компании БиоВитрум (Россия), согласно инструкции. Микрофотографии получали, используя микроскоп Leica DM2000, световой микроскоп Olympus CX-41 и гистосканер Aperio Leica Scan Scope CS2 (Leica, Германия) при увеличениях 100x и 400x. Из части материала изготавливали полутонкие срезы толщиной 0,5–1,5 мкм на ультратоме ЛКБ–460, с последующим окрашиванием толлуидиновым синим. На цифровых изображениях данных срезов, полученных при увеличении 1000x с иммерсионным объективом микроскопа Leica DM2000, проводили анализ структуры тканей, а на изображениях срезов жировой ткани – подсчеты размеров адипоцитов и их ядер – диаметра (мкм) и вычисляли ядерно-цитоплазматическое отношение. Ультратонкие срезы (толщина 30–60 нм) нарезались с помощью того же ультратома, контрастирование выполнялось с помощью тетраоксида осмия и цитрата свинца по Рейнольдсу. Просмотр и фотографирование производились на электронном микроскопе марки «ПЭМ–125К».

**Методы статистической обработки результатов.** *Принципы расчета размера выборки:* при статистической обработке данных использовали следующие критерии: One-Way ANOVA и t-критерий Стьюдента. *Методы статистического анализа данных:* Статистический анализ полученных данных обрабатывался с помощью программы Statistica 10.0. Количественные данные представлялись в стандартных приложениях MS Word Excel. Полученные результаты выражены в виде медианы (Me), верхнего и нижнего квартилей (Q1-Q3). Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием методов вариационной статистики, непараметрического T-критерия Вилкоксона и U-критерия Манн-Уитни. Различия считали достоверными при  $p < 0,05$ .

*Анализ распределения частот аллелей и генотипов* проводили с использованием таблиц сопряженности и критерия хи-квадрат ( $\chi^2$ ). Для сравнения частот комбинаций аллелей использовался критерий  $\chi^2$  с поправкой Йейтса на непрерывность. Связь полиморфизмов с СД2 анализировали путем определения критерия отношения шансов (ОШ) и 95 % доверительного интервала (95 % ДИ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

**Проявления МС у животных с фруктозной моделью метаболического синдрома.** В течение 12 недель после начала применения фруктозной диеты у экспериментальных животных появились основные признаки МС – абдоминальное ожирение, гипергликемия и дислипидемия, дистрофические и атрофические явления в органах-мишенях и нарушения про- и антиоксидантного баланса в крови. Нарушение липидно-углеводного баланса сопровождалось увеличением размеров адипоцитов в группе в 2 раза по сравнению с группой без коррекции, что, несмотря на высокие уровни ЦП и СОД, приводило к срыву

антиоксидантных механизмов, о чем свидетельствуют снижение ПА в 1,4 раза, АТА в 5 раз, ТПА в 2 раза, а ЭПА в 3 раза, а также пятикратное повышение КА по сравнению с контрольной группой. Кроме того, обратные корреляционные зависимости между размерами адипоцитов и активностью СОД ( $r=-0,5$ ) и ЦП ( $r=-0,7$ ), и размерами адипоцитов и АТА (ТПА) ( $r=-0,6$ ) подтверждали снижение антиоксидантной защиты и рост повреждающих тенденций, в том числе и на уровне рецепторов и транспортных белков. Наблюдаемая сильная положительная корреляция между ЦП и КА ( $r= 0,7$ ) также подтверждала развитие фазы напряжения антирадикальной защиты, несмотря на увеличение концентрации плазменного антиоксиданта ЦП и внутриклеточного антиоксиданта каталазы.

Компенсаторный переход метаболизма в сторону синтеза липидов при избытке глюкозы и развитии инсулинорезистентности при моделированном МС подтверждался отрицательными корреляционными зависимостями между концентрацией глюкозы и ЛПВП и положительной корреляцией между уровнями ОХС и размерами адипоцитов в группе МС без коррекции ( $r=-0,5$ ;  $0,7$ , соответственно).

Рост концентрации GLUT4 совместно с увеличением размеров адипоцитов в группе животных с моделируемым МС без коррекции указывал на фазу гиперинсулинизма в развитии инсулинорезистентности, увеличение размеров клеток вело к экстенсивному увеличению количества GLUT4, модулированному ростом PPAR $\gamma$ ; концентрация последнего с высокой степенью положительно коррелировала с экспрессией GLUT4 ( $r= 0,81$ ).

Моделированный МС сопровождался явлениями системного воспаления. Так, уровень СРБ в индуцированной модели МС увеличился более чем в 2 раза по сравнению с его первоначальным уровнем, а уровень экспрессии основного рецептора иммунного контроля TLR 4 показал 5 кратное повышение. Уровень СРБ положительно коррелировал с высокой степенью с концентрацией TLR 4, и со средней степенью – с PPAR $\gamma$  ( $r= 0,72$  и  $0,63$ , соответственно). Существование системного воспаления при МС нашло подтверждение как на биохимическом, так и на морфологическом уровне. В группе животных с МС без коррекции в жировой клетчатке наблюдались отек межтучной ткани и полнокровие сосудов, а также крупные массивные лимфоплазмочитарные агрегаты в межтучной ткани, и слабовыраженный интерстициальный фиброз (рис. 1А). Указанные изменения произошли вследствие свободнорадикального повреждения, что подтверждалось высокой активностью КА, ЦП и СРБ, и отрицательной корреляцией указанных показателей с размерами адипоцитов. Признаком развившегося стеатогепатита явилась воспалительная лимфоплазмочитарная инфильтрация с примесью нейтрофильных лейкоцитов (рис. 1В). В миокарде системное воспаление проявлялось отеком межтучной ткани, полнокровием сосудов и очаговыми петехиальными кровоизлияниями, а также очаговым истончением и разволокнением мышечных волокон с интерстициальным фиброзом (рис. 1С)

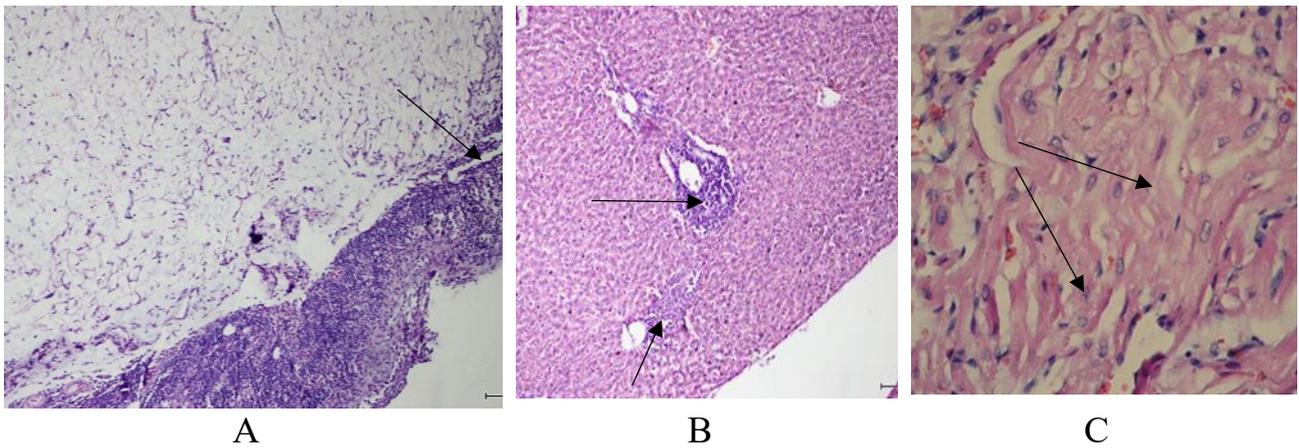


Рисунок 1 – А. Массивная лимфоплазмоцитарная инфильтрация с формирующейся фиброзной тканью в жировой ткани крыс с моделируемым МС. Парафиновый срез. Окраска: гематоксилин-эозин. Ув.  $10\times 10$

В. Перипортальные воспалительные инфильтраты при моделируемом метаболическом синдроме. Парафиновый срез. Окраска гематоксилин-эозин. Ув.  $10\times 10$

С. Разволокнение и расщепление мышечных волокон на фоне расстройства кровообращения в группе с моделированным метаболическим синдромом. Парафиновый срез. Окраска гематоксилин-эозин. Ув.  $10\times 40$

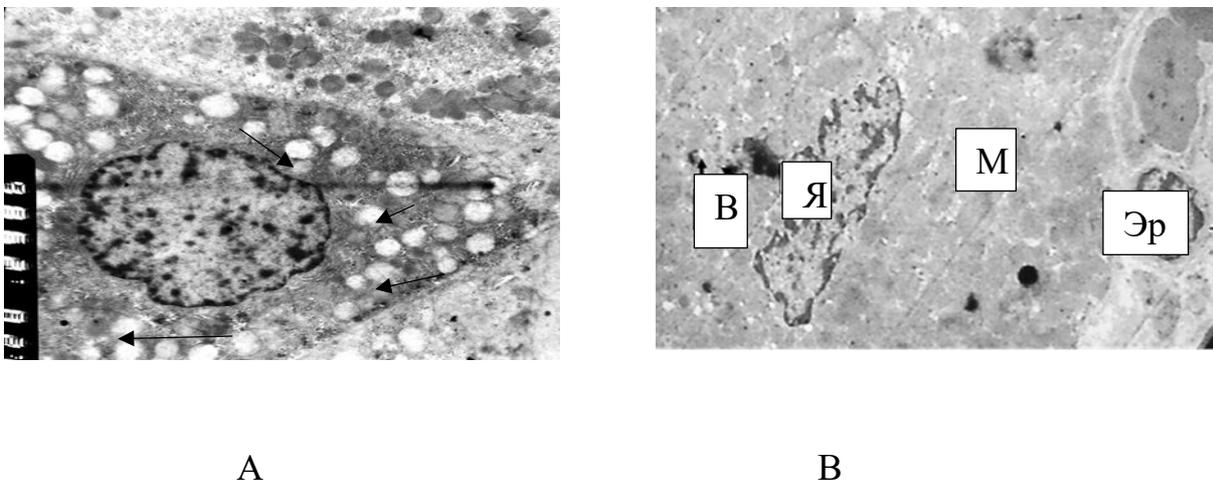


Рисунок 2 – А. Ультраструктура гепатоцитов при моделированном МС. Вакуолизация цитоплазмы. Контрастирование тетраоксидом осмия и цитратом свинца по Рейнольдсу. Ув.  $4000\times$

В. Ультраструктура фрагмента миокарда крысы с моделированным МС. Отек эндотелиоцита, сладж эритроцитов (Эр). Ядро кардиомиоцита (Я) с инвагинациями кариолеммы, в саркоплазме выявляются мелкие вакуоли (В), умеренно набухшие митохондрии (М) с электронноплотным матриксом. Ультратонкий срез. Контрастирование тетраоксидом осмия и цитратом свинца по Рейнольдсу. Ув.  $8000\times$

На ультраструктурном уровне в гепатоцитах были выявлены вакуолизация цитоплазмы, а в митохондриях отмечались участки просветления и разнонаправленности расположения крист (рис. 2А). На ультратонких срезах миокарда наблюдались деструктивные и дистрофические нарушения в кардиомиоцитах, интерстиции и микроциркуляторном русле (рис. 2 В).

Следовательно, высокая гипергликемия при моделированном МС привела к развитию глюкотоксичности, которая выражалась в синтезе медиаторов воспаления, вызывающих повышение уровня свободных радикалов и активности протеолитических ферментов, что привело к интенсификации перекисного окисления липидов. Значительный уровень свободнорадикального повреждения привел к последующим разрушениям функционально активных тканей, активизации фибробластов и, в случае миокарда, его ремоделированию на фоне системной воспалительной реакции.

Таким образом, диет-индуцированное повышение концентрации глюкозы приводит к увеличению секреции инсулина и компенсаторной активации GLUT 4 как основного трансмембранного транспортера глюкозы в ответ на функциональную гиперинсулинемию путем активации PI3-K (Phosphoinositide 3-kinases). Это подтверждалось обратной корреляционной связью между концентрациями глюкозы и GLUT 4. Активация PI3-K, через ряд промежуточных стадий, вызывает изменения в концентрации PPAR $\gamma$ , которые усиливают экспрессию GLUT 4 еще больше, увеличивая его концентрацию. Это подтверждалось синхронным увеличением как PPAR $\gamma$ , так и GLUT в группе животных с индуцированным МС. Увеличение GLUT4, PPAR $\gamma$  носило инсулин-зависимый характер, т. к. сочеталось с высокой гликемией, а также холестерин- и триглицеридемией. Повышение внутриклеточного уровня жирных кислот в результате активации биосинтеза *de novo* и/или поступления в клетку усиливает экспрессию генов, регулируемых транскрипционными факторами PPAR $\gamma$ , таких как таких как гены белков, осуществляющих транспорт жирных кислот, транскрипционный фактор SREBP-1c. Это вызывает усиление липогенеза, ухудшает экспрессию и функцию NADPH-, тем самым снижая содержание NAD<sup>+</sup> в клетках ухудшает экспрессию и функцию NADPH-, тем самым снижая содержание NAD<sup>+</sup> в клетках. Это приводит к снижению экспрессии и активности SIRT1 и к дальнейшему увеличению экспрессии PPAR $\gamma$  и GLUT4. Таким образом, однажды запущенный каскад поддерживает экспрессию этих критических факторов. В нашем исследовании алиментарная гипергликемия, приводящая к усиленному синтезу жирных кислот, вызвала активацию PPAR $\gamma$ , что, в свою очередь, через усиление экспрессии целого ряда генов, привело к усилению липогенеза и дальнейшему увеличению активации PPAR $\gamma$ . Налицо образование порочного круга, приводящего, в конечном итоге, к накоплению липидов в адипоцитах и развитию ожирения.

TLR 4 является связующим звеном между развитием низкоинтенсивного системного воспаления и метаболическими нарушениями. Положительная сильная корреляция между GLUT 4 и TLR 4 ( $r=0,75$ ) говорит в пользу развивающейся инсулинорезистентности. Также наблюдалась отрицательная корреляция между содержанием глюкозы и ЛПВП ( $r=-0,5$ ), что на фоне

гиперхолестеринемии и активации ПОЛ является маркером не только системного воспаления, но и повреждения эндотелия и высоким фактором риска развития атеросклероза при МС. Повышенное содержание провоспалительных медиаторов, обладающих прямым и непрямым повреждающим действием, приводит к усилению липолиза, повышению концентрации СЖК и дальнейшему усилению каскада TLR4- NF-κB -PPARγ – воспалительные медиаторы. Иными словами, налицо возникновение еще одного порочного круга в патогенезе МС, приводящему к инсулинорезистентности.

**Результаты биологического тестирования *in vitro* антиоксидантной активности (АОА) полифенольных продуктов переработки винограда.** Для обоснования рациональности использования ПППВ в коррекции МС было установлено, что величина антиоксидантной активности в единицах тролокса возрастает по мере увеличения концентрации полифенолов в продукции, что совпало с данными спектрального анализа и результатами биологического тестирования. При проведении спектральных исследований образцов виноматериалов было обнаружено наличие одинакового пика поглощения при 278-279 нм, который соответствует суммарному поглощению фенольных и полифенольных соединений вин. Результаты спектрального анализа свидетельствовали, что наибольшее содержание полифенолов наблюдалось в образцах «Фэнокора» (2371,5) и концентратов «Эноант» и «Эноант-премиум» (339,5 и 645,0, соответственно). Исходя из полученных спектральных данных, был произведен расчет содержания фенольных/ полифенольных компонентов по длине волны 279 нм, и окрашенных флаваноидов по длине волны 510 нм. Полученные данные полностью совпадают с результатами количественного анализа фенолов по Фолину-Чокальтеу. Было изучено действие образцов виноматериалов и виноградных концентратов на биолюминесценцию фотобактерий. При в 18- часовом тесте отмечено усиление действия в ряду «Эноант» (6)-«Эноант-премиум» (4)-«Фэнокор» (5), что совпадает с увеличением содержания фенольных и полифенольных антиоксидантов, а также с увеличением общей АОА (рис. 3). Остальные закономерности ингибирования биолюминесценции исследуемыми образцами оставались постоянными.

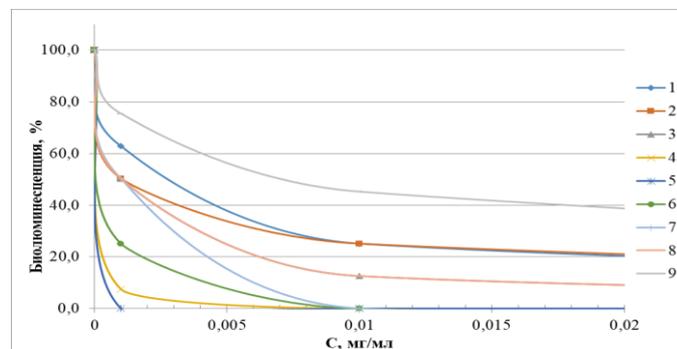


Рисунок 3 – Хроническое действие исследуемых образцов виноматериалов на биолюминесценцию *P. leiognathi* Sh1, 18-часовой тест

Таким образом, анализ биологического тестирования *in vitro* антиоксидантной активности (АОА) полифенольных продуктов переработки винограда показал, что все полифенольные концентраты дозозависимо ингибируют люминесценцию тест-бактерий, которая коррелирует с показателями антиоксидантной активности виноматериалов и свидетельствует о биологическом эффекте. Более высокое содержание антиоксидантов в исследуемых образцах (особенно «Эноант», «Эноант»-премиум и «Фэнокор») приводит к более сильному ингибированию бактериальной биолюминесценции и более низким показателям интенсивности свечения тест-бактерий. Спектральные данные полностью совпадали с данными по содержанию фенолов по Фолину-Чокальтеу и с общей АОА по тролоксу, полученными от производителей. Поэтому ПППВ являются продукцией с высокой антиоксидантной активностью, что делает их перспективными продуктами функционального питания, с возможным применением как комплекса, влияющего на ключевые механизмы формирования МС – дисбаланс про-и антиоксидантов.

**Использование ПППВ в коррекции метаболического синдрома в эксперименте.** При коррекции экспериментального МС разведениями ПППВ от 0,5 г/дм<sup>3</sup> до 2,5 г/дм<sup>3</sup> наблюдались сходные тенденции в изменениях исследуемых показателей.

Масса тела крыс групп Э2, Э3 и Э4 оставалась выше контрольных цифр на 40 %, 55 % и 50 %, соответственно ( $p < 0,05$ ), что сопровождалось увеличением окружности живота на 16 %, 50 % и 16 % ( $p < 0,05$ ) (рис. 4).

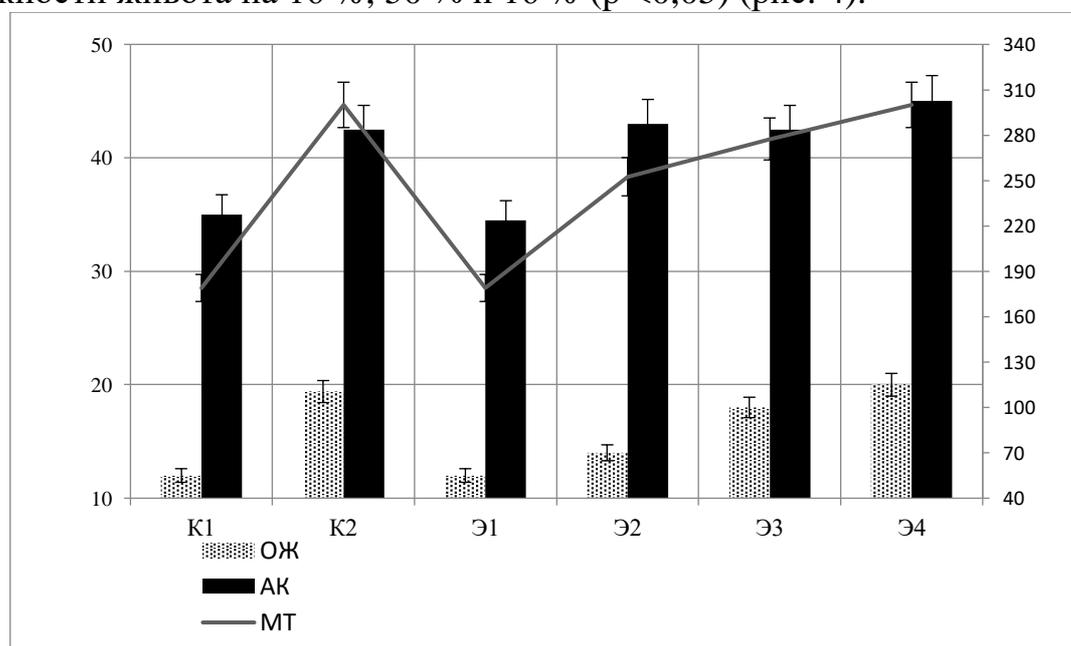


Рисунок 4 – Влияние препаратов переработки винограда на массу тела, окружность живота и массу абдоминальной жировой клетчатки крыс с моделью МС

Примечания: МТ – масса тела (г), ОЖ – окружность живота (см), АК – масса абдоминальной жировой клетчатки (г).

Произошло достоверное снижение содержания глюкозы в сыворотке крови, отрицательно коррелировавшее с экспрессией GLUT4, что на фоне уменьшения

холестерин- и триглицеридемии указывает на снижение инсулинорезистентности. Это сопровождалось понижением концентрации PPAR $\gamma$ , указывающим на снижение липотоксичности и на активацию SIRT 1-зависимого механизма подавления синтеза PPAR $\gamma$ . Произошла определенная стабилизация последующего синтеза провоспалительных медиаторов, что подтверждается отрицательной корреляцией между PPAR $\gamma$  и СРБ. Снижение стимуляции TLR 4 вследствие уменьшения СЖК в исследуемых группах уменьшило интенсивность ПОЛ. Эти изменения также были связаны со снижением глюкозотоксичности, на что указывала отрицательная корреляция содержания глюкозы с размерами адипоцитов. В то же время, сохранялся дисбаланс между протеолитическими ферментами и их ингибиторами (рис. 5).

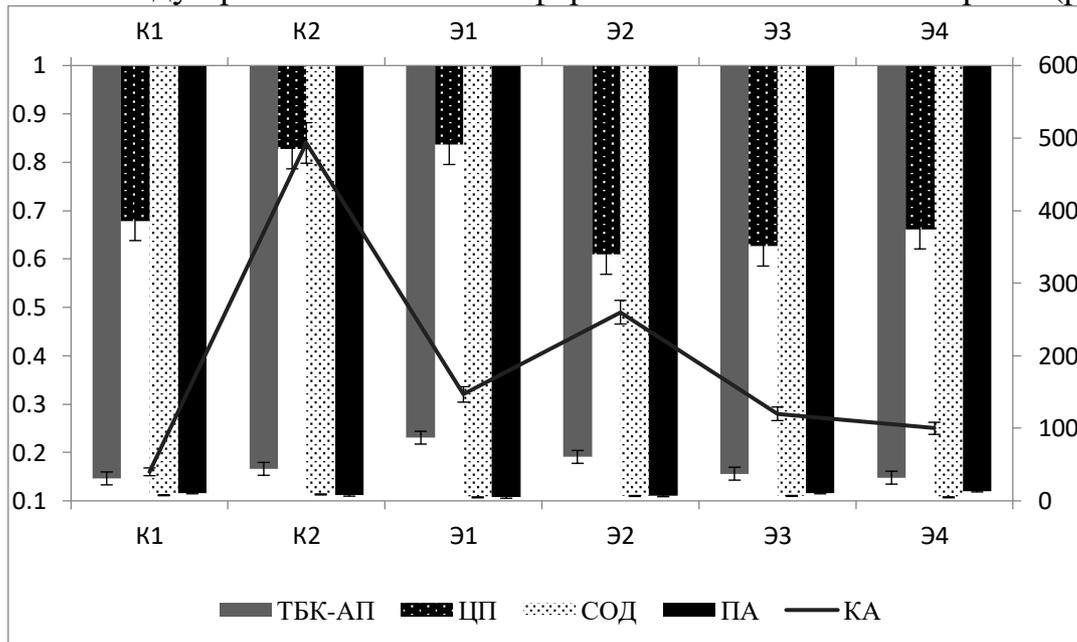


Рисунок 5 – Эффекты ПППВ в отношении ПОЛ и антиокислительного потенциала крови при коррекции экспериментального МС.

Примечания : ТБК-А – концентрация ТБК-активных продуктов (нМ МДА/мг), ЦП – концентрация церулоплазмينا (Мг/мл), СОД – активность супероксиддисмутазы (Ед/мл), КА – каталазная активность (мМ/гНв), ПА - пероксидазная активность (мМ/л.с).

Указанные изменения в сочетании с низкой активностью ЭПА и ТПА говорили о продолжающемся системном воспалении, характерном для МС, что сопровождалось умеренными морфологическими изменениями в органах-мишенях.

Таким образом, применение указанных концентраций полифенолов не позволило в значительной степени минимизировать проявления инсулинорезистентности, системного воспаления и оксидативного стресса.

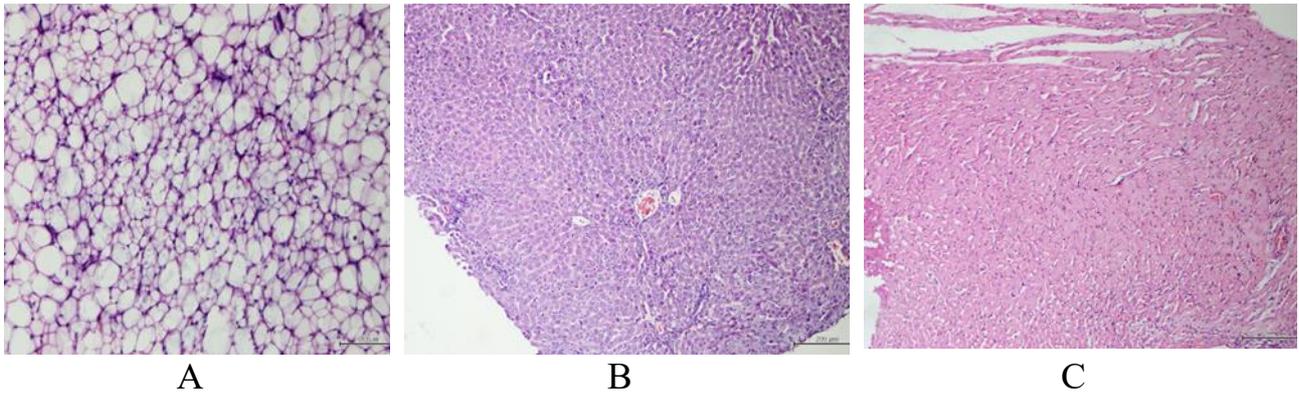


Рисунок 6 – А. Ткань висцерального жира, состоящая из адипоцитов различного размера в экспериментальной группе с применением «Фэнокора». Парафиновый срез. Окраска гематоксилин-эозин. Ув.  $10\times 20$

В. Слабовыраженные признаки гемодинамических расстройств и слабовыраженная воспалительная инфильтрация в ткани печени крыс из группы с применением «Фэнокора». Парафиновый срез. Окраска гематоксилин-эозин. Ув.  $10\times 10$

С. Ткань миокарда со слабовыраженными явлениями расстройства кровообращения в группе с применением «Фэнокора». Парафиновый срез. Окраска гематоксилин-эозин. Ув.  $10\times 10$

В группе животных с коррекцией препаратом «Фэнокор» (Э1) выявлено значительное снижение концентрации глюкозы в сыворотке крови, которая значимо не отличалась от таковой у интактных животных. Экспрессия GLUT 4 в исследуемой группе в 9 раз превышала таковую в интактной группе и в 2 раза – в группе МС без коррекции ( $p < 0,05$ ). Препарат «Фэнокор» имеет сложный состав и высокую антиоксидантную активность. Комбинированное действие различных полифенолов позволило эффективно транспортировать глюкозу внутрь клетки и препятствовало синтезу и накоплению жирных кислот. Это подтверждалось малой степенью абдоминального ожирения и большой вариабельности размеров адипоцитов (рис. 6 А), что было связано с уменьшением содержания триглицеридов под влиянием ПППВ и подтверждалось отрицательной корреляцией между концентрацией глюкозы и размерами адипоцитов (коэффициент Спирмена  $-0,4$ ).

Также в данной группе наблюдалось почти двукратное увеличение активности PPAR $\gamma$ , которые модулируют экспрессию GLUT 4. Повышенную экспрессию PPAR $\gamma$  в данной экспериментальной группе можно объяснить инициацией синтеза разных вариантов PPARs полифенольными веществами, входящим в состав «Фэнокора». Увеличение экспрессии GLUT 4 и PPAR $\gamma$  в данной группе экспериментальных животных произошло не под влиянием СЖК, а полифенольных веществ, и не являлось маркером системного воспаления и ИР. Это подтверждается отрицательной корреляцией между СРБ и ЛПВ ( $r = -0,7$ ) и высоким уровнем ЦП (в 2,2 раза выше контрольных цифр) и минимальными изменениями в органах-мишенях. Так, в гепатоцитах и миокарде наблюдались слабовыраженные признаки гемодинамических расстройств (рис. 6 В, С). Минимальный характер морфологических изменений в основных органах-

мишенях был выявлен также на ультрамикроскопическом уровне. В гепатоцитах наблюдалась слабая вакуолизация цитоплазмы (рис. 7 А), а в миокарде – типичное расположение миофибрилл, их чёткая поперечная исчерченность с хорошо выраженными изотропными участками (рис. 7 В).

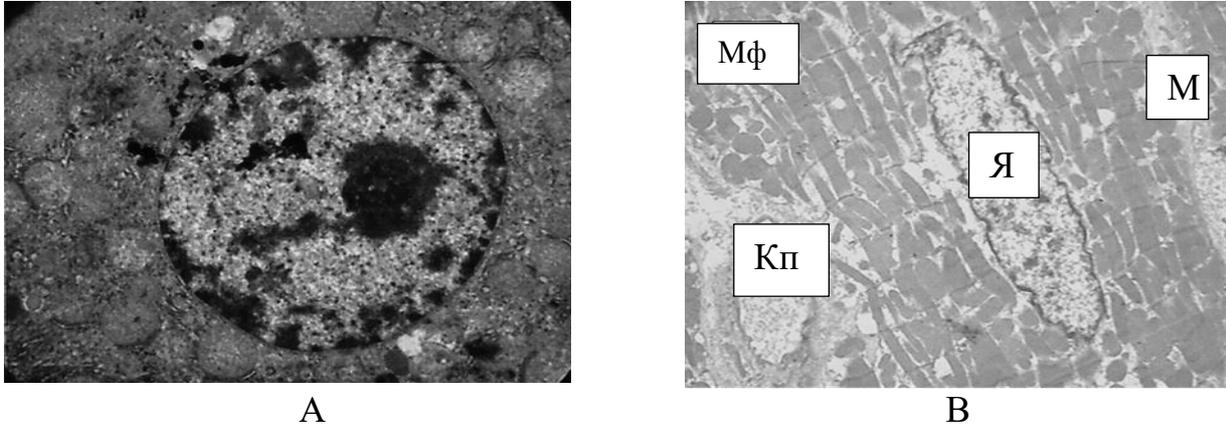


Рисунок 7 – А. Гепатоциты при коррекции МС «Фэнокором». Вакуолизация цитоплазмы. Контрастирование тетраоксидом осмия и цитратом свинца по Рейнольдсу. Ув. 4000<sup>×</sup>

В. Коррекция метаболического синдрома «Фэнокором». Ультраструктура фрагмента миокарда крысы. Ядро кардиомиоцита (Я) с неглубокими инвагинациями кариолеммы, митохондрии (М) с электронноплотным матриксом, расположены между миофибриллами (Мф). Просвет капилляров (Кп) без форменных элементов. Контрастирование тетраоксидом осмия и цитратом свинца по Рейнольдсу. Ув. 8000<sup>×</sup>

Нормализация концентраций ТГ, ОХС и ЛПВ, а также отрицательная корреляция сильной степени между глюкозой и ТГ ( $r = -0,7$ ) отражали восстановление липидного обмена и полноценность утилизации глюкозы под действием применяемого ПППВ.

Понижение экспрессии TLR4 в группе с коррекцией «Фэнокором» было связано со снижением триглицеридемии и уменьшением размеров адипоцитов, которые прямо коррелировали с TLR4 ( $r = 0,5$ ).

Таким образом, схема воздействия ПППВ на патогенез МС выглядит следующим образом (рис. 8).

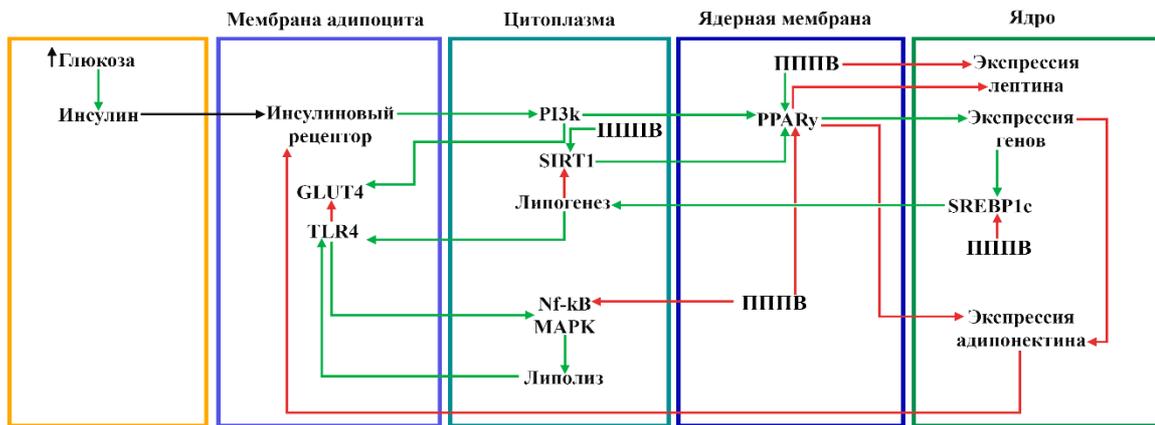


Рисунок 8 – Схема воздействия ПППВ на патогенез МС.

Примечания: красные стрелки – ингибирующий эффект, зеленые стрелки – стимулирующий эффект, черные стрелки – увеличение (усиление) взаимодействия

ПППВ с высоким содержанием различных полифенолов позволяют эффективно транспортировать глюкозу внутрь клетки путем воздействия на сиртуиновый механизм синтеза GLUT 4 и препятствуют синтезу и накоплению жирных кислот через механизмы ингибирования SREBP1c. Это подтверждалось в наших исследованиях нормализацией уровня глюкозы крови, малой степенью абдоминального ожирения и большой вариабельности размеров адипоцитов, что связано с уменьшением содержания триглицеридов, а также отрицательной корреляцией между концентрацией глюкозы и размерами адипоцитов (коэффициент Спирмена -0,4). Уменьшение концентрации глюкозы привело к снижению экспрессии генов, регулируемых транскрипционными факторами PPAR $\gamma$ , которые участвуют в транспорте ЖК из внеклеточного пространства и приводят к гипелипид- и гиперхолестеринемии и накоплению жира в адипоцитах. Снижение содержания жирных кислот, развившееся по указанному механизму, уменьшило экспрессию TLR 4, и, как следствие, активацию сигнальных путей воспаления через NF- $\kappa$ B, что снизило явления инсулинорезистентности. Увеличение экспрессии GLUT 4 и PPAR $\gamma$  при воздействии ПППВ произошло не под влиянием СЖК, а полифенольных веществ, что сопровождалось ингибированием NF- $\kappa$ B-пути и подавлении экспрессии KLF7 и не являлось маркером системного воспаления и ИР. Это подтверждалось снижением синтеза СРБ до значений интактной группы, положительной корреляцией между СРБ и ЛПВ (коэффициент Спирмена 0,63), отрицательной корреляцией между GLUT 4 и TLR4 (коэффициент Спирмена -0,5), положительной корреляцией между глюкозой и TLR4 (коэффициент Спирмена 0,7), нормализацией концентраций ТГ, ОХС и ЛПВ, а также отрицательной корреляцией и между глюкозой и ТГ (коэффициент Спирмена -0,5), которая отражала нормализацию липидного обмена и полноценность утилизации глюкозы под действием применяемого ПППВ и высоким уровнем ЦП (в 2,2 раза выше контрольных цифр). Таким образом, повышение ЛПВ нормализовало транспорт липидов и снизило активность TLR4-зависимого пути синтеза СРБ, что на фоне активизации

антиоксидантной системы привело к угнетению системного воспаления и ПОЛ. Подавлении экспрессии KLF7 при помощи ПППВ проявилось в нормализации функционирования генов, связанных с адипогенезом, таких как PPAR $\gamma$ , лептин, CEBP $\beta$  и aP2 в адипоцитах. Это подтверждалось нормализацией липидного обмена и полноценностью утилизации глюкозы.

**Определение ассоциации полиморфных маркеров генов лептина, *ADIPOQ*, *ADIPOR1* и *ADIPOR2* с основными клиническими проявлениями МС.** При анализе ассоциации клинических симптомов МС с полиморфизмами генов лептина, *ADIPOQ*, *ADIPOR1* и *ADIPOR2* в популяции Крыма было установлено следующее. Среди генотипов полиморфизма G (-2548) A гена лептина (*rs7799039*) у пациентов с метаболическим синдромом наиболее тесно с синдромом артериальной гипертензии ассоциировался генотип GG – АД систолическое составляло в указанной группе в среднем 157,5 мм рт. ст. ( $p < 0,05$ ) (рис. 9). Таким образом, присутствие данного генотипа в полиморфизме G (-2548) A гена лептина (*rs7799039*) у пациентов с МС требует дополнительной коррекции артериального давления. У носителей генотипа GG полиморфизма G (276) T гена *ADIPOQ* (*rs1501299*) показал наивысший уровень сывороточной глюкозы (10,2 ммоль/л) ( $p < 0,05$ ) (рис. 9). Анализ ассоциации генотипов полиморфизма *rs2275737* гена *ADIPOR1* и основных клинических проявлений у пациентов с метаболическим синдромом выявил ассоциацию генотипа TG с повышением уровня HbA1c до 9 % ( $p < 0,05$ ) (рис. 9). Носительство обоих генотипов требует диетической и лекарственной коррекции уровня глюкозы в крови. Анализ ассоциации генотипов полиморфизма *rs 2275738* гена *ADIPOR1* и основных клинических проявлений у пациентов с метаболическим синдромом выявил сочетание генотипа TT с выраженной гипергликемией до 10 ммоль/л ( $p < 0,05$ ). Генотип CC ассоциировался с наивысшим уровнем и холестерина натощак (6,2 ммоль/л) ( $p < 0,05$ ) (рис. 9). Таким образом, выявление указанных генотипов данного полиморфизма требует коррекции уровня глюкозы и холестерина. Анализ ассоциации генотипов полиморфизма *rs16928751* гена *ADIPOR2* и клинических проявлений у пациентов с метаболическим синдромом показал взаимосвязь между генотипом GA и самым высоким ИМТ (до 38,7 кг/м<sup>2</sup>) ( $p < 0,05$ ) (рис. 9). То есть, при данном генотипе необходима коррекция избыточной массы тела. Анализ ассоциации генотипов полиморфизма *rs16928751* гена *ADIPOR2* и клинических проявлений у пациентов с метаболическим синдромом показал взаимосвязь между нормальными показателями холестерина и диастолического АД у носителей генотипа GG. Таким образом, данный генотип можно считать протективным и приводящим к относительно благоприятному течению СД2 и МС (рис. 9).

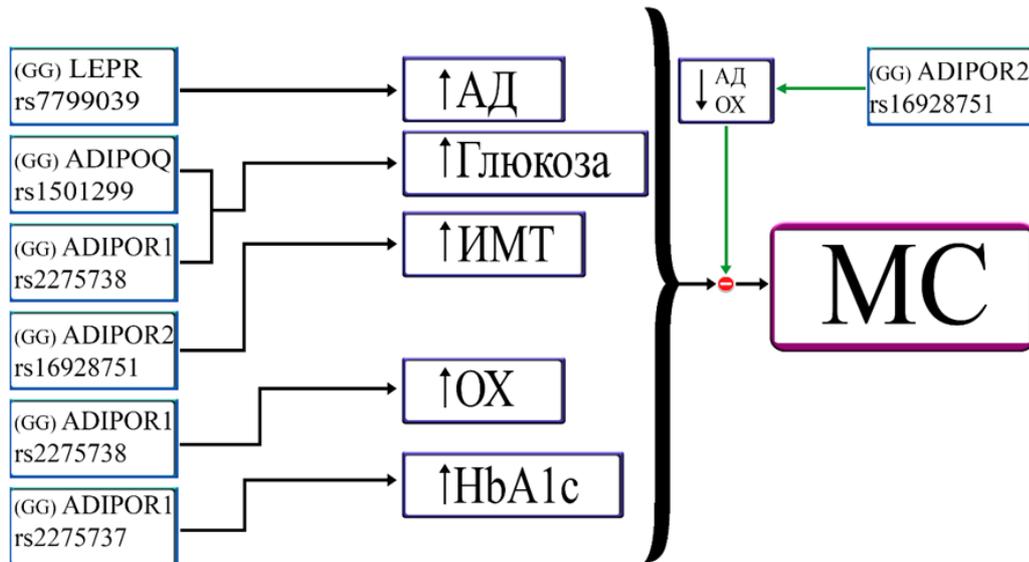
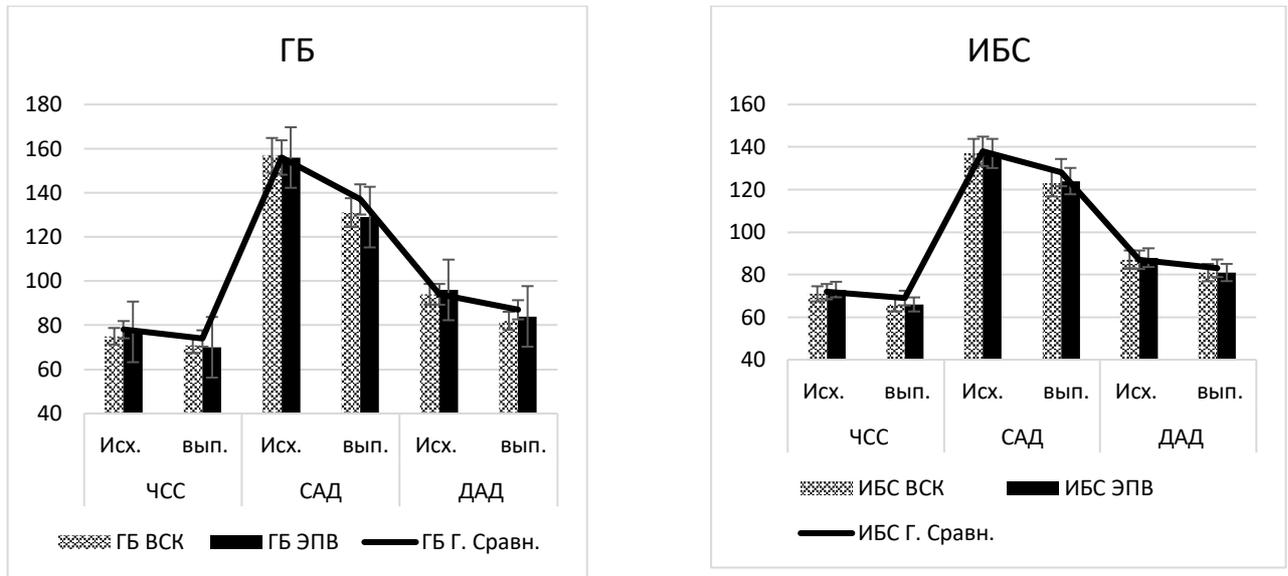


Рисунок 9 – Ассоциация полиморфных маркеров генов лептина, *ADIPOQ*, *ADIPOR1* и *ADIPOR2* с основными клиническими маркерами СД2 и МС

**Использование ПППВ в лечении и профилактике в группах различной степени риска развития гемодинамических осложнений метаболического синдрома.** Назначение полифенольных продуктов в виде экстракта полифенолов винограда (ЭПВ) и вина столового красного (ВСК) больным с ишемической болезнью сердца (ИБС) способствовало положительной клинической динамике. После проведенного курса санаторно-курортного лечения на фоне введения полифенольных продуктов переработки винограда у 84,4 % пациентов было выявлено снижение числа ангинозных приступов в среднем с 3,9 до 1,5/неделю, соответственно в 2 раза ( $p < 0,05$ ). К окончанию курса терапии с использованием ПППВ у 24,3 % пациентов со стабильной стенокардией напряжения ФК стенокардии снизился со II до I. Также при использовании экстракта полифенолов у большинства (87,3 %) пациентов отмечено уменьшение утомляемости, увеличение толерантности к физической нагрузке. Так, санаторно-курортное лечение больных с ИБС, дополненное ЭПВ, сопровождалось повышением объема выполненной нагрузки на 22,4 % ( $p = 0,002$ ), укорочением времени восстановления после нагрузки на 16,4 % ( $p = 0,01$ ) по отношению к группе сравнения. Общая продолжительность нагрузки при приеме экстракта полифенолов винограда удлинялась, т. к. пациенты выполняли больший объем работы.

Положительные эффекты полифенолов в виде продуктов переработки красного винограда наблюдались и в отношении объективных параметров сердечно-сосудистой системы у больных ИБС и гипертонической болезнью (ГБ). Использование полифенолов в дополнение к базовому комплексу санаторно-курортного лечения способствовало снижению артериального давления и частоты сердечных сокращений (рис. 10).



А

Б

Рисунок 10 – Влияние ПППВ на динамику АД и ЧСС у больных с гипертонической болезнью (ГБ) и ишемической болезнью сердца (ИБС)

Примечания: Исх. – исходные значения исследуемых параметров, вып. – значения исследуемых параметров при выписке, ЧСС – частота сердечных сокращений (уд/мин), САД – систолическое артериальное давление (мм рт. ст.), ДАД – диастолическое артериальное давление (мм рт. ст.), ВСК – вино столовое красное, ЭПВ – экстракт полифенолов винограда, ВСК – вино столовое красное, Г. сравн. – группа сравнения. Количественные значения представлены в формате:  $M \pm \sigma$ .

Также произошло изменение ряда биохимических параметров в исследуемых группах пациентов. Применение курса полифенолов в виде ПППВ в группах пациентов с ГБ и ИБС характеризовалось одинаковым достоверным снижением концентрации фибриногена (на 34 % ( $p < 0,05$ ) к концу лечения при использовании в лечении и ВСК, и ЭПВ. Коэффициент атерогенности после лечения в условиях санатория и применения курса ПППВ составил  $2,58 \pm 0,56$  и  $2,72 \pm 0,60$  при использовании в лечении ВСК и ЭПВ, соответственно.

В обеих группах больных с применением ПППВ отмечалось снижение интенсивности системной воспалительной реакции. Снижение ПОЛ сопровождалось усилением антиоксидантной защиты – увеличением концентрации КПА у больных с ИБС на 24 %, а у больных ГБ на 34,4 % ( $p < 0,001$ ) при применении ЭПВ, а также снижением ЦП у больных ИБС в обеих группах исследования на 39,4 % (ВСК) и 42,1 % (ЭПВ). Уровни СРБ и глюкозы коррелировали между собой в обеих группах ( $r = 0,4-0,5$ ). Аналогичные взаимоотношения наблюдались между концентрациями глюкозы и холестерина ( $r = 0,58-0,56$ ). Данный характер корреляции указывал на нормализующие влияния ПППВ как на липидно-углеводный обмен, так и на системное воспаление, что подтверждалось также снижением СОЭ и нормализацией лейкоцитарной формулы.

Уменьшение концентрации глюкозы в обеих группах применения ПППВ привело к снижению содержания жирных кислот, что уменьшило экспрессию TLR 4, и, как следствие, активацию сигнальных путей воспаления через NF-κB, что снизило явления инсулинорезистентности. Это подтверждалось снижением интенсивности ПОЛ и нормализацией антиоксидантной защиты, а также положительной корреляцией между концентрациями ЦП и ТБКА на фоне снижения обоих показателей.

Полученные результаты позволяют заключить, что для ПППВ характерны антиоксидантный, противовоспалительный, антиатерогенный эффекты, которые проявляются как у больных ИБС, так и у пациентов с ГБ. Эти эффекты превосходят таковые от базового санаторно-курортного курса и подтверждается стабильным состоянием антиоксидантных ферментов на фоне подавления процессов ПОЛ, системного воспаления и ИР. Выявленные положительные сдвиги подтверждают целесообразность применения ПППВ с высоким содержанием полифенолов у этих категорий больных.

## ВЫВОДЫ

1. При моделировании МС в группе экспериментальных животных возникают провоспалительные изменения, проявляющиеся увеличением концентрации СРБ в 2 раза ( $p < 0,05$ ) и TLR 4 – в 5 раз ( $p < 0,05$ ) по сравнению с уровнем у контрольных животных. Содержание СРБ положительно коррелирует с концентрацией TLR 4 ( $r=0,62$ ). Усиление воспалительного ответа вызывает увеличение ПОЛ (наблюдается рост ТБКА в 1,43 раза ( $p < 0,05$ ), снижение уровней ПА в 1,4 раза ( $p < 0,05$ ), ТПА в 2,2 раза ( $p < 0,05$ ) и отрицательная корреляция между ОХС и TLR 4 ( $r= -0,6$ ) и антиоксидантной защиты (отмечается рост КПА в 5 раз ( $p < 0,05$ ) и ЦП в 2,2 раза ( $p < 0,05$ )). В то же время наблюдается формирование дисбаланса между накоплением ПОЛ и антиоксидантами, на что указывает положительная корреляция между концентрациями ЦП и СОД ( $r=0,5$ ).
2. У животных с экспериментальным МС возникают изменения в механизмах внутриклеточного метаболизма жирных кислот и обмена адипоцитов. На фоне развития инсулинорезистентности, подтверждаемой гипергликемией, увеличением GLUT 4 в 2 раза ( $p < 0,05$ ) и отрицательной корреляцией между GLUT 4 и содержанием глюкозы ( $r=-0,6$ ) происходит компенсаторный переход метаболизма в сторону синтеза атерогенных липидов и внутриклеточное накопление жиров. Это подтверждается возрастанием концентраций ОХС и ТГ в 1,5 раза ( $p < 0,05$ ), снижением ЛВПВ 1,9 раза ( $p < 0,05$ ), увеличением размеров адипоцитов в 2,1 раза ( $p < 0,05$ ) и положительной корреляцией между концентрацией ОХС и размерами адипоцитов ( $r=0,7$ ). Также установлено подавление липолиза в жировой ткани, подтверждаемое отрицательной корреляцией между ОХС и PPAR $\gamma$  ( $r= -0,6$ ).
3. Метаболические и воспалительные нарушения при моделировании МС у экспериментальных животных приводят к морфологическим изменениям в органах-мишенях. В абдоминальной жировой клетчатке наблюдаются воспалительные изменения с привлечением значительного количества

лимфоцитов. В печени развивается стеатогепатит, в ткани почек животных данной группы преобладают явления фиброза и атрофии, а в миокарде наблюдаются явления жирового перерождения. Данные изменения вызываются значительным уровнем свободнорадикального повреждения и притоком провоспалительных медиаторов, стимулированным активацией PPAR $\gamma$ -зависимых механизмов, что подтверждается положительной корреляцией между PPAR $\gamma$  и TLR 4 ( $r=0,5$ ) и приводит к разрушению функционально активных тканей и активизации фибробластов.

4. При клинико-генетических исследованиях выявлены ассоциации следующих однонуклеотидных полиморфизмов с развитием основных патогенетических звеньев МС в крымской популяции: с синдромом артериальной гипертензии – генотипа GG полиморфизма -2548 A/G (rs7799039) гена лептина, с гипергликемией – генотипа GG полиморфизма G (276) T (rs1501299) гена *ADIPOQ*, с повышением гликированного гемоглобина – генотипа GT полиморфизма +45 T/G (rs2275737) Q гена *ADIPOR1*, с гиперхолестеринемией – генотипа CC полиморфизма rs 2275738 гена *ADIPOR1*, с высоким ИМТ – генотипа GA + 795 G/A (rs16928751) гена *ADIPOR2*. У носителей генотипа GG полиморфизма rs16928751 гена *ADIPOR2* установлена взаимосвязь между нормальными показателями холестерина и диастолического АД.

5. Оценка антиоксидантной активности полифенольных продуктов *in vitro* показала, что величина антиоксидантной активности возрастает по мере увеличения концентрации полифенолов. Наибольшее содержание полифенолов наблюдалось в образцах «Фэнокора» (2371,5 мг/дм<sup>3</sup>, из них 67,5 мг/дм<sup>3</sup> составляли флавоноиды), антиоксидантная активность которого составляла 196,22 г/дм<sup>3</sup> в единицах тролокса. Тестирование ПППВ *in vivo* выявило, что при в 18-ти часовом билюминисцентном тесте происходит усиление АОА в ряду «Эноант» (25,13) – «Эноант-премиум» (7,54) – «Фэнокор» (0,0 отн. ед (мин (ч) / мг/мл), что совпадает с увеличением содержания фенольных веществ (18,51–21,81–82,69 г/дм<sup>3</sup>), а также с увеличением общей АОА (24,72–36,48–196,22 г/дм<sup>3</sup>). Предложено уравнение, обобщающее величины антиоксидантной активности в широком диапазоне изменения концентрации полифенолов, которое позволяет косвенно оценить биологическую активность продукции при наличии банка данных, полученных для этой продукции *in vivo*.

6. В группах с коррекцией МС при помощи ПППВ с суммарной концентрацией полифенолов 0,5 г/дм<sup>3</sup>, 1 г/дм<sup>3</sup> и 2,5 г/дм<sup>3</sup> не происходит патогенетически значимых изменений показателей, характеризующих развитие МС. Отмечается сохранение абдоминального ожирения, гипергликемии (в 2,3 раза выше контрольных цифр ( $p < 0,05$ )) и инсулинорезистентности (снижение концентрации GLUT 4 в 3,5 раза ( $p < 0,05$ ) по сравнению с группой без коррекции). Остаются на высоком уровне концентрации холестерина и триглицеридов ( $p < 0,05$ ) на фоне снижения экспрессии PPAR $\gamma$  в 3,7 раза ( $p < 0,05$ ) от контрольных значений.

7. Коррекция препаратом «Фэнокор» с суммарным содержанием полифенолов 181,53 г/дм<sup>3</sup> приводит к снижению инсулинорезистентности, а также к нормализации липидного обмена. На это указывают уменьшение содержания

глюкозы сыворотки в 2 раза по сравнению с группой без коррекции ( $p < 0,05$ ), нормализация размеров адипоцитов, снижение до нормы концентраций ТГ, ОХС и ЛПВ ( $p < 0,05$ ) и положительная корреляция между GLUT 4 и ОХС ( $r=0,7$ ). Увеличение экспрессии GLUT 4 и PPAR $\gamma$  в 2 раза по сравнению с интактной группой ( $p < 0,05$ ) происходит на фоне уменьшения явлений системного воспаления, что подтверждается снижением экспрессии TLR 4 в 2,2 раза, СРБ – в 2,1 раза ( $p < 0,05$ ) в сочетании с положительной корреляцией между концентрациями глюкозы и СРБ ( $r=0,7$ ), GLUT4 и СРБ ( $r=0,7$ ) и между СРБ и ЛПВ ( $r=0,63$ ), а также уменьшением морфологических признаков воспаления, атрофии и дистрофии в органах-мишенях. Снижение интенсивности воспаления сопровождается восстановлением баланса антиоксидантных систем и торможением ПОЛ, проявляющееся увеличением ЦП в 2,2 раза, снижением ПА в 2 раза по отношению к группе без коррекции ( $p < 0,05$ ), отрицательной корреляцией между ПА и размерами адипоцитов ( $r=-0,6$ ).

8. При клиническом исследовании применения ПППВ в реабилитационном лечении МС и его гемодинамических осложнений установлено, что у исследуемых пациентов происходит стабилизация гликемии, снижение уровня СРБ в группе больных ИБС на 42,7 % ( $p < 0,05$ ), а также снижением СРБ в группе больных ГБ на 43,6 % ( $p < 0,05$ ), при прямой корреляции между СРБ и содержанием глюкозы ( $r=0,64$ ) вследствие модуляции PPAR $\gamma$ -зависимых механизмов повышения чувствительности к инсулину и супрессии провоспалительных медиаторов. Также происходит ослабление ПОЛ и усиление антирадикальных защитных механизмов, что подтверждалось снижением содержания ЦП на 42,1 % ( $p < 0,05$ ), а ТБК-АП – на 29 % ( $p < 0,05$ ).

9. Потенциал интегральной функциональной активности ПППВ соответствует суточной дозе потребления полифенолов 10 мг/кг массы тела при комплексной реабилитации больных МС и его гемодинамических осложнений – ишемической болезни сердца и гипертонической болезни, что полностью обосновывает дополнение технологии санаторно-курортной реабилитации комплексом ампело- и энотерапии. Концентрация фенольных веществ в этой продукции является достаточным показателем для расчета необходимой терапевтической дозировки.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

Предлагается усовершенствованный вариант ампело- и энотерапии в комплексе санаторно-курортного лечения пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями (ИБС и ГБ), дополненный приемом продуктов переработки красного винограда с высоким содержанием полифенолов.

Методика представляет собой использование ампело- и энотерапии у пациентов с ИБС и ГБ в комплексе санаторно-курортного лечения и предлагает использование полифенолсодержащих продуктов переработки винограда при следующих заболеваниях : ИБС, стенокардия I–III функциональных классов, кардиосклероз; гипертоническая болезнь I–II степени, I–III стадии; недостаточность кровообращения I–III функциональных классов; средний, высокий и очень высокий риск развития сердечно-сосудистых осложнений.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

### Статьи, опубликованные в изданиях, рекомендуемых ВАК МОН РФ:

1. Association between Adiponectin and Leptin Receptor Genetic Polymorphisms and Clinical Manifestations of Metabolic Syndrome / **Iuliana I. Shramko**, Elizaveta S. Ageeva, Konstantin D. Maliy, Irina N. Repinskaya, Cyrill O. Tarimov, Iryna I. Fomochkina, Anatolii V. Kubishkin, Olga V. Ostapenko, Anna K. Gurtovaya, Suman Shekhar // Journal of Diabetes Research. – 2022. – <https://doi.org/10.1155/2022/9881422>
2. Polymorphism in Adiponectin and Adiponectin Receptor Genes in Diabetes Mellitus Pathogenesis / **I. Shramko**, E. Ageeva, E. Krutikov, K. Maliy, I. Repinskaya, I. Fomochkina, A. Kubishkin, A. Gurtovaya, C. Tarimov, S. Shekhar // Pathophysiology. – 2022. – Vol. 29. – P. 81–91. – <https://doi.org/10.3390/pathophysiology29010008>
3. Genetic and pathophysiological substantiation of polyphenolic grape processing products' application in the treatment of metabolic syndrome in the population of the Republic of Crimea / **Iuliana Shramko**, Elizaveta Ageeva, Konstantin Maliy, Irina Repinskaya, Anna Gurtovaya // BIO Web Conf. – 2021. – Vol. 39. –P. 06001. – URL: <https://doi.org/10.1051/bioconf/20213906001>
4. The role of dysmetabolic mechanisms in the development of neurodegenerative processes in an experimental metabolic-cognitive syndrome model / V. I. Petrenko, A. A. Shevandova, A. V. Kubyshkin, I.I. Fomochkina, **Yu.I. Shramko**, T.P. Makalish, Yu.A. Ogay, D.R. Khusainov // Medical News of North Caucasus. – 2021. – Vol. 16, N 2. – P. 187–190
5. Сравнительный анализ коррекции морфофункциональных нарушений в сердечно-сосудистой системе при моделированном метаболическом синдроме / К. О. Таримов, М. В. Субботкин, А. А. Куланова, В. И. Петренко, А. В. Кубышкин, И. И. Фомочкина, Т. П. Макалиш, Е. Ю. Зяблицкая, **Ю. И. Шрамко** // Ожирение и метаболизм. – 2020. – Т. 17, N 2. – С. 208–219.
6. Использование продуктов природного происхождения для коррекции абдоминального ожирения при экспериментальном метаболическом синдроме / А. В. Кубышкин, **Ю. И. Шрамко**, Е. Ю. Зяблицкая, В. И. Петренко, Н. А. Иващенко, К. О. Таримов, И. В. Черноусова, Ю. А. Огай // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2020. – Т. 15, N 4. – С. 563–566.
7. Изучение механизмов нейродегенеративных процессов при экспериментальном метаболическом синдроме / А. С. Кучеренко, В. И. Петренко, А. В. Кубышкин, И. И. Фомочкина, Л. Е. Сорокина, В. В. Ткач, Ю. А. Огай, **Ю. И. Шрамко** // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2019. – Т. 14, N 1–2. – С. 211–217.
8. Особенности продукции активных форм кислорода и антиоксидантов при экспериментальном метаболическом синдроме и его коррекции полифенолами винограда / **Ю. И. Шрамко**, А. В. Кубышкин, И. И. Фомочкина, Л.Л. Алиев, Д. В. Чегодарь, Ю. А. Огай, И. В. Черноусова, С. В. Литвинова, К. О. Таримов // Ульяновский медико-биологический журнал. – 2019. – N 4. – С. 103–113.

9. Патогенетическая коррекция оксидативного стресса природными концентратами полифенолов / А. В. Кубышкин, И. И. Фомочкина, **Ю. И. Шрамко**, Л.Л. Алиев, Ю.А. Огай, И. В. Черноусова, Г.П. Зайцев, А.В. Алехнович, Д.В. Чегодарь, В.И. Петренко // Госпитальная медицина: наука и практика. – 2019. – Т. 1, N 2. – С. 54–61.
10. Возможности энотерапии в коррекции эффектов экспериментальной гипоксии / А. В. Кубышкин, **Ю. И. Шрамко**, Л. А. Алиев, А.А Бекетов, Ю.А. Огай, И. В. Черноусова, И.И. Фомочкина, К.О. Таримов // Вестник Санкт-Петербургского университета. Медицина. – 2018. – Т. 13, N 4. – С. 366–375.
11. Biological effects of grape polyphenols processing products in experimental metabolic syndrome / A. V. Kubyshkin, I. I. Fomochkina, Y. A. Ogai **Y. I. Shramko**, L.L. Aliev, D.V. Chegodar, I. V. Chernousova // Russian Open Medical Journal. – 2018. – Vol. 7, N 4. – P. 405.
12. Влияние продуктов переработки крымского винограда с высоким содержанием полифенолов на эффективность коррекции метаболического синдрома в эксперименте / В. И. Петренко, **Ю. И. Шрамко**, А. В. Кубышкин, И.И. Фомочкина, А.С. Кучеренко, Е. А. Бирюкова, Ю. А. Огай, И. В. Черноусова // Магарач. Виноградарство и виноделие. – 2018. – Т. 20, N 3(105). – С. 82–84.
13. Исследование антиоксидантной активности крымских полифенольных концентратов билюминесцентным методом / А. М. Кацев, **Ю. И. Шрамко**, В. И. Петренко, А. В. Кубышкин, И. И. Фомочкина, А. С. Кучеренко, В. Е. Мосолкова, И. В. Черноусова // Магарач. Виноградарство и виноделие. – 2018. – Т. 20, N 4(106). – С. 83–85.
14. Роль полифенольных продуктов в коррекции психоэмоциональных и функциональных нарушений при санаторно-курортном лечении пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями / А. В. Кубышкин, **Ю. И. Шрамко**, И. И. Фомочкина, Ю. А. Огай, И. В. Черноусова, Г. П. Зайцев, В. И. Петренко, А. С. Ефимова // Вестник физиотерапии и курортологии. – 2018. – Т. 24, N 4. – С. 8–12.
15. Эффективность использования насыщенных полифенолами продуктов переработки винограда для профилактики метаболических нарушений в эксперименте / А. В. Кубышкин, А. М. Авидзба, И. И. Фомочкина, Ю. А. Огай, Р. А. Ханферьян, **Ю. И. Шрамко**, В. А. Маркосов, Т. И. Гугучкина, Н. М. Агеева, Г. П. Зайцев, И. В. Черноусова // Вопросы питания. – 2017. – Т. 86, N 1. – С. 100–107.
16. Полифенолы винограда красных сортов в вине и концентратах для применения в реабилитационных технологиях / А. В. Кубышкин, А. М. Авидзба, В. С. Борисюк, В. С. Стоянов, И. И. Фомочкина, Ю. А. Огай, И. В. Черноусова, Г. П. Зайцев, Т. И. Гугучкина, В. А. Маркосов, Н. М. Агеева, **Ю. И. Шрамко** // Сельскохозяйственная биология. – 2017. – Т. 52, N 3. – С. 622–630.
17. Коррекция морфофункциональных нарушений в экспериментальном метаболическом синдроме у крыс полифенолами винограда / **Ю. И. Шрамко**, А. В. Кубышкин, А. А. Давыдова, И. И. Фомочкина, Л. Л. Алиев, Д. В. Чегодарь // Патогенез. – 2017. – Т. 15, N 4. – С. 43–48.
18. Антиоксидантная активность продуктов переработки красных сортов винограда "Каберне-Совиньон", "Мерло", "Саперави" / А. М. Авидзба, А. В. Кубышкин, Т. И. Гугучкина, В. А. Маркосов, А. М. Кацев, Н. В. Наумова, **Ю. И.**

**Шрамко, Г. П. Зайцев, И. В. Черноусова, Ю. А. Огай, И. И. Фомочкина** // Вопросы питания. – 2016. – Т. 85, N 1. – С. 99–109.

19. Анализ антиоксидантной активности продуктов переработки красных сортов винограда *in vitro*, *in vivo* / А. М. Авидзба, Г. П. Зайцев, И. В. Черноусова, Ю. А. Огай, А. В. Кубышкин, И. И. Фомочкина, А. М. Кацев, Н. В. Наумова, **Ю. И. Шрамко**, Т. И. Гугучкина, В. А. Маркосов // Вестник российской сельскохозяйственной науки. – 2016. – N 2. – С. 45–50.

20. Оценка антиоксидантной активности продуктов переработки винограда с применением амперометрического метода и биоллюминесцентного теста / А. М. Авидзба, А. В. Кубышкин, Т. И. Гугучкина, В. А. Маркосов, А. М. Кацев, Н. В. Наумова, **Ю. И. Шрамко**, Г. П. Зайцев, И. В. Черноусова, Ю. А. Огай, И. И. Фомочкина // Достижения науки и техники АПК. – 2015. – Т. 29, N 12. – С. 113–118.

### **Методические рекомендации и авторские свидетельства**

1. Применение энотерапии с использованием насыщенными полифенолами винограда продуктов в комплексном санаторно-курортном лечении больных с сердечно-сосудистой патологией : методические рекомендации / А. В. Кубышкин, **Ю. И. Шрамко**, И. И. Фомочкина, Ю. А. Огай, И. В. Черноусова, Г. П. Зайцев, В. С. Борисюк, В. С. Стоянов. – Симферополь. 2019. – 24 с.

2. Патент № 2763478 С1 Российская Федерация, МПК G01N 33/573. Способ оценки оксидативного стресса при метаболическом синдроме: № 2021103910: заявл. 16.02.2021: опубл. 29.12.2021 / **Шрамко Ю. И.**, Кубышкин А. В., Фомочкина И. И., Таримов К. О.; заявитель Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского". – 9 с.

### **Монографии**

1. Polyphenols of red grape wines and alcohol-free food concentrates in rehabilitation technologies / A. Kubyshkin, Yu. Ogai, I. Fomochkina I. Chernousova, G. Zaitsev, **Yu. I. Shramko**.// Polyphenols: Open access peer-reviewed edited volume. – London: IntechOpen, 2018. – P. 99–120. –<https://doi.org/10.5772/intechopen.76655>

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АГ артериальная гипертензия	ХЛ ЛНП холестерин
АД артериальное давление	липопротеидов низкой
АО абдоминальное ожирение	плотности
ВГН высокая гликемия натощак	
ВНОК Всероссийское Научное	
Общество Кардиологов	ХС ЛВП холестерин
ВОЗ Всемирная Организация	липопротеидов высокой
Здравоохранения	плотности
ВСК вино столовое красное	ЭПВ экстракт полифенолов
ГБ гипертоническая болезнь	винограда
ГГ гипергликемия	
ГИ гиперинсулинемия	
Гипер-ХС ЛНП гипер-	
холестеринемия липопротеидов	
низкой плотности	
Гипо-ХС ЛВП гипо-	
холестеринемия липопротеидов	
высокой плотности	
ГЛ гиперлипидемия	
ГТГ гипертриглицеридемия	
ДАД диастолическое	
артериальное давление	
ДЛП дислипидемия	
ИБС ишемическая болезнь	
сердца	
ИМТ индекс массы тела	
ИР инсулинорезистентность	
ЛПВ липопротеиды высокой	
плотности	
МС метаболический синдром	
НТГ нарушенная толерантность	
к глюкозе	
ОТ окружности талии	
ПППВ полифенольные	
продукты переработки	
винограда	
САД систолическое	
артериальное давление	
СД сахарный диабет	
СД2 сахарный диабет 2-го типа	
ССЗ сердечно-сосудистые	
заболевания	
ТГ триглицериды	