

Федеральное государственное автономное образовательное  
учреждение высшего образования «Крымский федеральный университет  
имени В.И. Вернадского»

Институт «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского»

На правах рукописи

**ШРАМКО ЮЛИАНА ИВАНОВНА**

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

3.3.3. – Патологическая физиология

Диссертация на соискание ученой степени  
доктора медицинских наук

Научный консультант:  
Кубышкин Анатолий Владимирович  
доктор медицинских наук, профессор

Симферополь – 2022

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА, ПОДХОДЫ К ПРОФИЛАКТИКЕ И ЛЕЧЕНИЮ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).....	21
1.1 Метаболический синдром как медицинская проблема. Вопросы диагностики, этиопатогенеза и эпидемиологии .....	21
1.2 Подходы к профилактике и лечению метаболического синдрома .....	40
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	51
2.1 Дизайн исследования.....	51
2.1.1 Моделирование метаболического синдрома у крыс .....	51
2.1.2 Исследование патогенетической коррекции проявлений метаболического синдрома с использованием полифенольных продуктов переработки винограда в эксперименте .....	54
2.1.3 Клиническое исследования использования полифенольных продуктов переработки винограда в комплексе санаторно-курортного лечения больных .....	54
2.1.4 Исследование полиморфных маркеров генов лептина, <i>ADIPOQ</i> , <i>ADIPOR1</i> и <i>ADIPOR2</i> в Республике Крым.....	65
2.2 Методы исследования .....	67
2.2.1 Методики биологического тестирования <i>in vitro</i> антиоксидантной активности полифенольных продуктов переработки винограда.....	67
2.2.2 Методики определения состояния процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантов.....	72
2.2.3 Определение экспрессии полиморфных маркеров генов лептина, <i>ADIPOQ</i> , <i>ADIPOR1</i> и <i>ADIPOR2</i> в крови.....	77
2.2.4 Иммуноферментный анализ воспалительных и метаболических маркеров.....	79
2.2.5 Морфологические и морфометрические исследования.....	79
2.2.6 Методы статистической обработки результатов.....	82
ГЛАВА 3. ПРОЯВЛЕНИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА У ЖИВОТНЫХ С ФРУКТОЗНОЙ МОДЕЛЬЮ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА.....	84

3.1 Степень и характер соматометрических изменений и морфологических изменений органов-мишеней при моделировании метаболического синдрома у экспериментальных животных .....	84
3.2 Степень и характер изменения морфометрических характеристик жировой ткани при моделировании метаболического синдрома у экспериментальных животных .....	102
3.3 Состояние процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантов при экспериментальном метаболическом синдроме.....	106
3.3 Молекулярные изменения при развитии метаболического синдрома у экспериментальных животных .....	108
<b>ГЛАВА 4. КЛИНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА В ГРУППАХ РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ РИСКА РАЗВИТИЯ ГЕМОДИНАМИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА В СВЯЗИ С ПРИСУТСТВИЕМ ПОЛИМОРФНЫХ МАРКЕРОВ ГЕНОВ ЛЕПТИНА, <i>ADIPOQ</i>, <i>ADIPOR1</i> И <i>ADIPOR2</i> В РЕСПУБЛИКЕ КРЫМ .....</b>	<b>111</b>
4.1 Распределение генотипов генов лептина, <i>ADIPOQ</i> , <i>ADIPOR1</i> и <i>ADIPOR2</i> среди пациентов с метаболическим синдромом.....	111
4.2 Частота встречаемости комбинаций между аллельными вариантами генов.....	118
4.3 Сравнительный анализ распределения полиморфизмов генов в контрольной группе и в группе с сахарным диабетом 2 типа .....	126
4.3 Ассоциация генотипов генов лептина, <i>ADIPOQ</i> , <i>ADIPOR1</i> и <i>ADIPOR2</i> с основными клиническими проявлениями метаболического синдрома .....	132
4.4 Сравнительный анализ ассоциации генотипов генов лептина, <i>ADIPOQ</i> , <i>ADIPOR1</i> и <i>ADIPOR2</i> с основными клиническими проявлениями метаболического синдрома в крымской популяции и основных изученных массивов данных .....	139
<b>ГЛАВА 5. РЕЗУЛЬТАТЫ БИОЛОГИЧЕСКОГО ТЕСТИРОВАНИЯ IN VITRO АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ ПРОДУКТОВ ПЕРЕРАБОТКИ ВИНОГРАДА .....</b>	<b>144</b>
5.1 Спектральные исследования образцов полифенольных продуктов переработки винограда.....	144
5.2 Исследование антиоксидантной активности образцов на биологической модели люминесцентных бактериях.....	153

ГЛАВА 6. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ ПРОДУКТОВ ПЕРЕРАБОТКИ ВИНОГРАДА В КОРРЕКЦИИ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ .....	160
6.1 Степень и характер соматометрических изменений и морфологических изменений органов-мишеней при моделировании метаболического синдрома у экспериментальных животных в условиях его коррекции полифенольными продуктами переработки винограда .....	160
6.2 Степень и характер изменения морфометрических характеристик жировой ткани при моделировании метаболического синдрома у экспериментальных животных и в условиях его коррекции полифенольными продуктами переработки винограда .....	185
6.3 Результаты коррекции состояния процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантов при экспериментальном метаболическом синдроме полифенолами винограда различных концентраций.....	188
6.5 Молекулярные изменения при развитии метаболического синдрома у экспериментальных животных и в условиях его коррекции полифенольными продуктами переработки винограда .....	193
ГЛАВА 7. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ ПРОДУКТОВ ПЕРЕРАБОТКИ ВИНОГРАДА В ЛЕЧЕНИИ И ПРОФИЛАКТИКЕ В ГРУППАХ РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ РИСКА РАЗВИТИЯ ГЕМОДИНАМИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА .....	195
7.1 Клиническая характеристика больных на санаторно-курортном этапе лечения .....	195
7.2 Изменения клинических данных у больных с ишемической болезнью сердца и гипертонической болезнью на фоне применения полифенольных продуктов переработки винограда в ходе санаторно-курортного лечения	196
ОБСУЖДЕНИЕ .....	217
ВЫВОДЫ .....	249
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	254
Приложение 1 .....	311
Приложение 2 .....	317
Приложение 3 .....	318

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность исследования.** Метаболический синдром (МС) — это комплекс, включающий абдоминальное ожирение (АО), артериальную гипертензию (АГ), дислипидемию (ДЛП) 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 [115, 302] и продолжает ежегодно возрастать [378]. Также ежегодно возрастает число людей, страдающих ожирением [23]. АО, которое по своей сути является увеличением количества висцеральной жировой ткани, входит в число основных признаков МС [28]. Число людей, страдающих ожирением также ежегодно увеличивается [23]. По данным И. И. Дедова и соавт. [94], в настоящее время не менее 30% трудоспособного населения России имеют избыточную массу тела, из них 25 % страдают ожирением. Наличие ожирения имеет важные последствия для заболеваемости, качества жизни, инвалидизации и смертности и влечет за собой более высокий риск развития сахарного диабета второго типа (СД2), сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), некоторых форм рака, остеоартрита и других видов патологии. Избыточное накопление жировой ткани (ЖТ) при АО сопровождается изменениями в функционировании адипоцитов и распределении жировой ткани в организме [405]. 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. Цитокины, продуцируемые ЖТ, обладают способностью модифицировать продукцию инсулина, изменяют трансдукцию инсулинового сигнала в периферических клетках, активность рецепторов к инсулину, интенсивность липогенеза. Наибольшее значение среди данных цитокинов имеют адипонектин (АН) и лептин (Л). АН, участвует в

регуляции обмена глюкозы и жиров. АН является продуктом гена *ADIPOQ* (расположен на хромосоме 3q27). *ADIPOR1* и *ADIPOR2*- два структурно родственных рецептора были идентифицированы как рецепторы к АН, кодируемые генами, расположенными на 1p36.13-q41 и 12p13.31 хромосомных участках соответственно [73]. АН через свои рецепторы вовлечен в метаболизм жировой ткани, регулирует энергетический гомеостаз и оказывает противовоспалительный и антиатерогенный эффекты [74]. Установлено, что снижение количества адипонектиновых рецепторов наблюдается при инсулинорезистентности [235], в отличие от других повышающихся адипокинов, включая лептин, резистин и фактор некроза опухоли  $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ). Также было установлено, что стимуляция пероксисом-активируемых рецепторов (PPAR) стимулирует возможности АН предохранять экспериментальных животных от ожирения на фоне инсулинорезистентности [240].

Лептин (Л) также является ключевым гормоном или физиологической системой, которая регулирует массу тела. Рецепторы к Л относятся к семейству цитокиновых рецепторов класса 1 и кодируются геном *LEP*. Синтезируемый и секретируемый жировой тканью, Л функционирует как вспомогательный сигнал насыщения для гипоталамуса где он запускает каскад нейроэндокринных реакций, которые приводят к ингибированию орексигенных пептидов [70]. В нейронах гипоталамуса и других тканях он связывается с рецептором Л (LEPR), который активирует экспрессию гена проопиомеланокортина (ПОМК, POMC). Из ПОМК после расщепления освобождаются  $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -меланокортины (МСГ) — проводники гормонального сигнала лептина. МСГ взаимодействуют с меланокортинов (МК3Р и МК4Р) на постсинаптической мембране нейронов, уменьшая чувства голода, активируя использование жиров в энергетическом обмене и снижая избыточное накопление жировых запасов. Эти события регулируют аппетит и обмен веществ, контролируя накопление жировой массы [296]. Уровень Л в крови отражает общее количество запасов энергии в жировой ткани, а это, в свою очередь, направляет центральную нервную систему на регулирование энергетического гомеостаза, нейроэндокринных функций,

метаболической регуляции, роста новорожденных, ряда изменений в детском и половом возрасте. Дефицит Л может быть обусловлен либо мутацией в гене лептина, либо наследственной липоатрофией. Дефицит Л приводит к нарушениям многих важнейших функций, в частности, вызывает репродуктивную недостаточность, ожирение, инсулинорезистентность, сахарный диабет, метаболический синдром и аутоиммунные заболевания [146].

**Степень разработанности темы исследования.** В современных исследованиях большое внимание уделяется не только концентрациям основных адипокинов, но и полиморфизмам генов, ответственных за различные пути их синтеза и функционирования. Большинство опубликованных исследований определили ассоциацию полиморфизмов 45T> G (rs2241766) и +276G> T (rs1501299) в гене *ADIPOQ* с факторами риска развития атеросклероза [172]. Исследование J. F. Lu и соавт. [190] установило, что *ADIPOQ* rs17300539 и rs1501299 связаны с риском ожирения в европейской этнической группе, а rs266729 связан с риском ожирения в азиатской этнической группе. Мутации в генах *LEP*, *LEPR*, *POMC* и *MC4R* нарушают экспрессию указанных веществ, создают дефицит кодируемых белков, увеличивают потребление пищи, нарушают регуляцию липидного обмена и вызывают ожирение [103]. Сообщалось также, что общий полиморфизм G-2548A в 5' – области гена *LEP* оказывает сильное влияние на экспрессию гена Л и секрецию жировой ткани [122, 292].

Изучение вариаций в генах АН и Л может позволить пациентам с большим риском неблагоприятных последствий ожирения быть идентифицированными и, как следствие, применять более целенаправленную терапию. Исследования свидетельствуют, что повышение уровня циркулирующего АН может быть многообещающей терапевтической стратегией в лечении болезней, связанных с избыточным весом и ожирением. Так, агонисты PPAR $\gamma$  тиазолидинидионы (thiazolidinediones (TZDs)), такие как rosiglitazone и pioglitazone приводили к увеличению уровня адипонектина в эксперименте и при клинических испытаниях [287]. Метформин снижал уровень Л в эксперименте [314]. Однако, несмотря на

положительный эффект, отмечается масса негативных последствий применения TZDs [410], метформина [95], а также других препаратов для лечения ожирения, МС и СД2 [141].

Лечение и профилактика МС синтетическими медикаментами имеет множество побочных эффектов, высокую стоимость и недостаточно эффективно в некоторых случаях. Поэтому 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 оксидативного стресса. Большинство исследователей отмечают корреляцию антиоксидантной активности лекарственных растений с содержанием в них полифенолов. Полифенолы – органические соединения ароматического ряда. Флавоноидами называется группа фенольных соединений с двумя ароматическими кольцами, объединенных общим структурным составом С6 - С3 - С6. Натуральные полифенолы могут быть найдены во многих растениях и пищевых продуктах, таких как фрукты, овощи, чай, зерновые, водоросли, лекарственные растения и т. д. [181].

Одним из наиболее экономически важных источников полифенолов является виноград (*Vitis vinifera*). Он культивируется на всех обитаемых континентах в достаточно широком климатическом диапазоне [417]. Виноград является одним из наиболее важных источников полифенолов среди фруктов [260]. Фенольные соединения винограда могут быть условно разделены на 2 группы: фенолокислоты и флавоноиды. Среди последних наибольшее значение имеют антоцианы, катехины и процианиды [260]. Большинство флавоноидов первично локализуется в кожице, в то время как 60–70 % полифенолов сохраняется в косточках [360]. Также установлено, что процессы ферментации/мацерации приводят к извлечению большого количества полифенолов [212]. Однако, более чем 70 % полифенолов винограда остается в жмыхе, который может, следовательно, быть значительным источником полезных веществ [215]. Благотворному влиянию на здоровье флавоноидов винограда было дано название название “французский парадокс”. Этот термин



обозначает эпидемиологически подтвержденную низкую частоту развития ишемической болезни сердца в средиземноморском регионе, несмотря на значительное содержание насыщенных жиров в местной диете [246]. Флавоноиды винограда являются главными причинами этого феномена [279].

В экспериментах *in vitro* было установлено, что флавоноиды могут выступать как в качестве превентивных антиоксидантов и антиоксидантов-разрушителей цепей (утилизаторов супероксид-радикалов, пероксильных, алкоксильных и гидроксильных радикалов, а также способных предотвращать окисление липопротеинов низкой плотности (ЛПНП)). Также было обнаружено, что экстракт жмыха красного винограда подавляет активацию ядерного фактора «каппа-би» (NF-κB) [390].

Полифенольные продукты переработки винограда способны снизить проявления МС и предотвратить развитие ожирения и сахарного диабета 2 типа, действуя как многоцелевые модуляторы с антиоксидантным и противовоспалительным действием [48]. Полифенолы винограда способствуют нормализации уровня регуляторных адипокинов в крови животных с экспериментальным МС. Авторы объясняют эти эффекты активацией АМФ-зависимой протеинкиназы в белой жировой ткани, скелетных мышцах и печени в сочетании с ускорением транспорта глюкозы GLUT4, подавлением синтеза глюкозы и снижением содержания липидов в печени. Увеличение экспрессии GLUT4 или его транслокации в плазматическую мембрану может регулироваться АМФ-зависимой протеинкиназой по инсулиннезависимому механизму [110]. Установлено, что проантоцианидины виноградных косточек снижают концентрацию маркеров воспаления у животных, находящихся на диете, богатой жирами и углеводами. Под влиянием полифенолов снижается уровень TNF-α, IL-6, маркеров макрофагов, повышается экспрессия адипонектина. При этом наблюдается снижение процессов липогенеза в печени, экспрессируется ряд генов, участвующих в гликогенезе, гликолизе и липидном обмене в печени. Экстракты полифенолов из кожуры красных сортов винограда

также могут оказывать влияние на метаболизм липидов у человека и животных, находящихся на диете, богатой жирами и сахарами. Наблюдается снижение содержания триглицеридов в мышцах, повышается экспрессия инсулин-зависимого транспортера глюкозы GLUT4, что снижает инсулинорезистентность и концентрацию глюкозы в крови, экспрессируются ферменты окисления жиров в митохондриях и снижается транспорт жирных кислот и накопление жиров в мышцах [144].

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 [110]. В биологически легко доступной форме и высокой концентрации полифенолы могут применяться в составе виноградных пищевых концентратов, приготовленных по специальным технологиям [108,109].

Программой ВОЗ определена статистически значимая доза ежедневного потребления полифенолов, защищающая от коронарной недостаточности [429], что соответствует 750 мг полифенолов или адекватной дозе 10 мг/кг массы тела человека [92, 109]. По данным мониторинга, содержания фенольных веществ в отечественных винах, концентрация суммарных полифенолов изменялась в пределах 2,14–2,75 г/дм<sup>3</sup> для сухих столовых красных вин и 1,28–2,346 г/дм<sup>3</sup> игристых красных вин, что близко к среднеевропейскому показателю по порядку величин и косвенно свидетельствует о наличии существенного потенциала функциональной активности суммарных полифенолов в отечественных красных виноградных винах [346].

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 и задачи исследования**

**Цель:** 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:**

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 полученных результатов.** 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, гиполипидемический, 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 индексом массы тела (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.

**Методология и методы исследования.** В основу исследования легло патогенетическое обоснование механизмов развития МС и разработка нового лечебно-профилактического комплекса с изучением возможности и целесообразности его применения с целью предупреждения и коррекции проявлений МС.

Методологической основой выполненного диссертационного исследования стали современные подходы естественно-научного направления: интегративный, проблемный, междисциплинарный и системный. При проведении исследования учитывались принципы фундаментальной медицины, основанные на доказательствах с использованием сравнительных методов оценки при формировании экспериментальных и контрольной групп.

Экспериментальное исследование выполнено на белых крысах-самцах линии Wistar с использованием фруктозной модели кормления кормом с 2,5%-м содержанием фруктозы на протяжении 12 недель для индуцирования МС. Для диагностики МС использовались критерии Международной Диабетической Федерации 2005 г.

В работе использованы соматометрические (определение массы тела и окружность живота на уровне середины туловища), биохимические (исследование состояния процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантов), иммуноферментные (определение концентрации С-реактивного белка (СРБ) в плазме крови), гистологические, микроскопические (световая и электронная микроскопия с морфометрическим определением размеров адипоцитов и их ядер – диаметра (мкм) и вычислением ядерно-цитоплазматического отношения), молекулярно-генетические (определение экспрессии полиморфных маркеров генов лептина, *ADIPOQ*, *ADIPOR1* и *ADIPOR2* в крови), а также статистические методы исследования (сравнительный анализ в программе Statistica 10.0 с использованием параметрических и непараметрических методов, а также корреляционный анализ).

**Основные научные положения диссертации, 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.



**Достоверность и апробация результатов исследования.** Полученные результаты имеют высокую степень достоверности, которая подтверждается достаточным объемом однородной выборки; большим объемом лабораторных исследований, выполненных с использованием современных методических приемов и высокоинформативных воспроизводимых методов (биохимическое исследование, иммуноферментный анализ, гистологическое и электронно-микроскопическое исследование, морфометрический анализ) и адекватными критериями для статистической обработки результатов, отвечающими всем требованиям доказательной медицины, а также применением высокотехнологичного оборудования, прошедшего метрологический контроль. 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. [275]. Фруктозная модель МС описана в целом ряде источников, как наиболее соответствующая критериям МС у человека [82]. 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). Исследования выполнены на базе Центра коллективного пользования научным оборудованием «Молекулярная биология» Медицинской академии им. С. И. Георгиевского. Диссертационная работа является частью плановой научно-исследовательской работы кафедры общей и клинической патологической

физиологии Медицинской академии 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).

**Внедрение результатов исследования.** Результаты работы внедрены в учебный процесс на кафедре внутренней медицины №1 Института «Медицинская академия имени С. И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского», кафедре хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии Института «Медицинская академия имени С. И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского»; в лечебную практику клиники «Зубы без боли» ООО «Медэксперт» (Приложение 3, 4). По результатам исследования использования ПППВ в комплексе санаторно-курортного лечения изданы методические рекомендации «Применение энотерапии с использованием насыщенных полифенолами винограда продуктов в комплексном санаторно-курортном лечении больных с сердечно-сосудистой патологией», утвержденные 27.05.2019 г. Минздравом Республики Крым (Приложение 2).

**Апробация результатов исследования.** Материалы диссертации доложены на : IX Международной конференции, посвященной 100-летию со дня рождения академика Н. М. Эмануэля (Москва, 2015); 12-м 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-м 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).

**Публикации.** По материалам диссертационного исследования опубликовано 20 научных работ в специализированной печати, из них – 18 в рецензируемых журналах, входящих в Перечень рецензируемых научных изданий или в международные реферативные базы данных и системы цитирования, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций, и издания, приравненные к ним, в том числе 1 изобретение (RU 2748227 C1.) и 1 методические рекомендации (Приложение 2, 3). 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).

**Ожидаемая медико-социальная и экономическая эффективность от внедрения предложений.** Внедрение результатов исследования должно оптимизировать технологии санаторно-курортного лечения в отношении их положительного влияния на физиологические функции и факторы риска, которые являются общими звеньями патогенеза МС и его гемодинамических осложнений.

**Личный вклад автора в исследование.** Автор лично инициировала проведение исследования, сформулировала цель и задачи исследования, разработала структуру проведения исследования с привлечением необходимого оборудования и лабораторного обеспечения.

Автор принимала непосредственное участие во всех этапах исследования. Автором проведен анализ, морфометрическая и статистическая обработка результатов исследования, сформулированы выводы по результатам исследования, разработаны научные и практические рекомендации. Автором самостоятельно проанализирована отечественная и зарубежная литература по теме диссертации, проведен статистический анализ данных, сформулированы результаты и выводы, а также лично написана рукопись настоящей работы.

**Объем и структура 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, обсуждения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, включающего 436 отечественных и иностранных источников. В диссертации представлены 62 рисунка и микрофотографии, 61 таблица.

## ГЛАВА 1

### ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА, ПОДХОДЫ К ПРОФИЛАКТИКЕ И ЛЕЧЕНИЮ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

#### 1.1 Метаболический синдром как медицинская проблема. Вопросы диагностики, этиопатогенеза и эпидемиологии

Метаболический синдром (МС) — это комплекс, включающий АО, АГ, ДЛП СД2 с единым патогенетическим механизмом развития ИР и ГИ. Впервые на связь АГ с ГГ было указано в 1923 г. шведским исследователем Е. Kylin. В последующем сочетание СД, ДЛП и поражения суставов J. Samus назвал «метаболическим трисиндромом». В последующие годы расширилось количество компонентов, составляющих понятие МС, а также формулировка термина и его диагностические критерии [27, 81]. Первые критерии, предложенные экспертами ВОЗ в 1998 г., определяли главным проявлением МС ИР. В последующие годы, по мере накопления статистических данных и теорий природы МС [58, 237, 388], были последовательно предложены другие системы диагностики данного синдрома. Так, критерии Европейской группы по изучению инсулинорезистентности (EGIR) также опирались на ИР, диагностируемой на основании ГИ [225]. Эти критерии базировались на *глюкоцентрической теории* патогенеза МС, которая опирается на гипергликемию как изначальное звено механизмов развития МС и СД2 [289, 339]. Гипергликемия как следствие/причина ИР, приводит к гликированию белков и последующим нарушениям метаболизма, и развитию сосудистых осложнений. Гликированные белки с измененной конформацией оказываются неспособны выполнять свои функции и не подвергаются физиологической утилизации, он накапливаются в

базальных мембранах сосудов, приводят к пролиферации гладких мышц сосудов, нарушению обмена ионов, дисфункции эндотелия и вызывают сосудистые осложнения МС. Гипергликемия ведет к избыточной продукции инсулина, которая со временем перерастает в ГИ. Избыток инсулина вызывает компенсаторное понижение чувствительности инсулиновых рецепторов и развитие ИР, что приводит к глобальным последствиям в течении метаболических процессов – снижается захват и окисление глюкозы в инсулинзависимых тканях (прежде всего, в мышцах и ЦНС), увеличивается компенсаторных глюконеогенез в печени. При ИР также происходит нарушение липидного обмена, в результате чего развивается ожирение и гиперлептинемия.

В 2001 г. были приняты критерии Национальной образовательной программы по изучению холестерина (NCEP-АТР-III) [225, 238], модифицированные в 2003 г. Американской ассоциацией клинических эндокринологов (ААСЕ). Они базировались на *липоцентрической теории* МС, которая отводит липидам ключевую роль в развитии МС [214].

Было установлено, что абдоминальные адипоциты более чувствительны к адренергической стимуляции и, следовательно, более подвержены липолизу. Это приводит к избытку СЖК в крови [1]. Кроме избыточного липолиза, гиперлипидемия вызывается также инсулинорезистентностью, как указывалось ранее. Избыток СЖК, как и ГИ, вторично снижают чувствительность тканей к инсулину. Белок SREBP-1с (белок, связывающий стеролочувствительный элемент), активируемый инсулином и СЖК, приводит к возрастанию липогенеза в печени [13], но, в силу ограниченных возможностей липоцитов депонировать липиды, возникает угнетение молодых и созревающих форм этих клеток, они накапливают жир и увеличивается в размерах. Это явление, наряду со снижением чувствительности инсулиновых рецепторов, приводит к уменьшению плотности рецепторов на мембранах липоцитов и усугублению ИР и ГИ. С точки зрения *липокиновой теории*, возникшей из липоцентрической после обнаружения эндокринных функций жировой ткани, висцеральная жировая ткань синтезирует ряд сигнальных молекул паракринного и эндокринного действия, участвующих

в патогенезе МС, таких как лептин; ФНО- $\alpha$  (кахексин) [18, 63,119]; интерлейкины-1, 6, 8 (ИЛ-1, 6, 8); ингибитор активатора плазминогена I типа (ИАП-I); белок-стимулятор ацилирования; ангиотензин II; адипсин [367], резистин [176]; белок, родственный протеину агути; трансформирующий фактор роста- $\beta$  (ТФР- $\beta$ ) [418,419]; адипофилин [167]; адипонектин; перилипин [96]. По V. Z.Wall с соавт. [385], при МС липокины синтезируют не только липоциты, но и макрофаги, количество и активность которых в жировой ткани возрастают. По данным J. L. Grün и соавт. [272], активированные макрофаги приводят к эндотелиальной дисфункции. Это сочетается с нарушениями соотношений «коагулянты/антикоагулянты» и способствует сердечно-сосудистым осложнениям МС, а также диабетической ангиопатии [394].

Учитывая задачи данного обзора, следует подробнее остановиться на физиологии и патофизиологии лептина и адипонектина.

Лептин является основным сигналом для гипоталамуса о насыщении и стимулятором специфически-динамического действия пищи. Он повышает тонус симпатической нервной системы, взаимодействуя с гипоталамо-гипофизарно-тироидной осью [130]. Открытие лептина в 1995 г. привело к возникновению нового варианта липокиновой теории, согласно которой у людей, страдающих этим заболеванием, существует либо абсолютное отсутствие, либо нарушения продукции лептина, либо структурные аномалии гормона и/или его рецепторов [70]. Эти причины приводят к развитию абсолютной или относительной лептинорезистентности, с которой современные исследования связывают развитие ИР [117,130]. Выраженность резистентности к лептину и его антагонисту- грелину [90] коррелирует между собой у пациентов с СД2 и ожирением; выраженность резистентности к грелину связана с функциональным состоянием бета-клеток; постпищевой уровень грелина может иметь разнонаправленные изменения у пациентов с СД2 и ожирением, и адекватное его снижение более характерно для больных с ограничительным типом пищевого поведения [145].

Адипонектин обладает противовоспалительным действием, конкурентно ингибируя ФНО- $\alpha$  и угнетая активацию макрофагов. Через инсулиновый рецептор 1-го типа адипонектин ускоряет окисление глюкозы и СЖК в мышцах, а через рецептор 2-го типа – в печени, а также подавляет глюконеогенез [393], его концентрация снижается обратно пропорционально доле абдоминального жира [427]. Адипонектин и ФНО- $\alpha$  являются реципрокными антагонистами [138]. Увеличение количества висцеральной жировой ткани приводит к снижению синтеза адипонектина. Снижение уровня адипонектина в сыворотке крови ассоциировано со снижением чувствительности тканей к инсулину, в то время как повышение уровня адипонектина усиливает окисление жиров и снижает резистентность к инсулину, тем самым обеспечивая эффективную утилизацию энергетических субстратов инсулинчувствительными тканями [28].

Основой большинства последних эпидемиологических исследований служат критерии Международной Федерации СД (IDF) [304] и критерии IIS (Объединенное промежуточное заявление рабочей группы IDF) 2009 [285], на основании которых приняты российские рекомендации, которые включают [64]:

1. абдоминальное ожирение (окружность талии  $> 94$  см для мужчин и  $> 80$  см для женщин) в сочетании как минимум с двумя из следующих четырех факторов;
2. повышение триглицеридов  $> 1,7$  ммоль/л, снижение уровня липопротеидов высокой плотности (ЛПВП)  $< 1,03$  ммоль/л у мужчин и  $< 1,29$  ммоль/л у женщин;
3. повышение артериального давления (АД) – систолическое АД  $> 130$  мм рт. ст. и/или диастолическое АД  $> 85$  мм рт. ст.;
4. повышение глюкозы венозной крови  $> 5,6$  ммоль/л 18 натощак;
5. выявленный ранее сахарный диабет 2 типа или нарушение толерантности к глюкозе.

Эти критерии базируются на накопленных современных знаниях о патогенезе МС. В настоящее время предпринимаются попытки синтеза



предыдущих теорий с результатами длительных клинических наблюдений больших групп пациентов с различными осложнениями МС.

### ***МС как частный случай эндотелиальной дисфункции***

Эндотелий служит одновременно мишенью и медиатором многих болезней, изменения его функции наблюдаются уже на ранних стадиях заболеваний. Дисфункция эндотелия (ДЭ) – это нарушение барьерной, гемостатической, вазотонической, и секреторной его функций [80]. Один из основных факторов регуляции сосудистого тонуса – эндотелин (ЭТ) – в физиологических концентрациях вызывает высвобождение факторов релаксации, а в более высоких – стимулирует вазоконстрикцию [153]. Оксид азота (NO) отвечает за вазодилататорный эффект релаксирующего фактора, выделяемого эндотелием. Вазодилататорное действие NO направлено против вазоконстрикторного эффекта эндотелинов [41]. В целом, ДЭ характеризуется дисбалансом между сосудорасширяющими и сосудосуживающими медиаторами [129] и является основой ремоделирования сосудов и сердца, АГ, нарушений углеводного и жирового обменов, которые, в свою очередь, вновь негативно влияют на сосудистую стенку, замыкая порочный круг [129]. В настоящее время есть две основные точки зрения относительно формирования эндотелиопатий при МС. Первая – при синдроме ИР развивается дисфункция эндотелия сосудов по вышеописанным механизмам. Также нарушается синтез оксида азота в сосудистой стенке, в результате уменьшается сдерживающее его влияние на пролиферацию гладкомышечных клеток и торможение адгезии моноцитов к эндотелию сосудистой стенки, увеличивается перекисное окисление липидов [31]. Противоположное мнение говорит о том, что дисфункция эндотелия является причиной развития ИР. В случае первичного дефекта эндотелиальных клеток трансэндотелиальный транспорт инсулина нарушается, что может способствовать развитию ИР [86]. Однако, до настоящего времени не имеется достаточно данных в пользу первичной или вторичной роли эндотелиопатии в генезе инсулинорезистентности [87]. В ряде работ установлена взаимосвязь

между ожирением и выраженностью нарушений функционального состояния эндотелия. Эндотелиальная дисфункция признана важным звеном в сложном патогенетическом механизме развития атеросклероза – способность эндотелиальных клеток выделять релаксирующие факторы снижается при сохранении или увеличении уровня продукции сосудосуживающих факторов. Описанные ранее механизмы повреждения эндотелия и инсулинорезистентности формируют порочный круг, приводящий к метаболической и кардиоваскулярной патологии [29]. Причинно-следственные связи этих процессов до настоящего времени изучены не до конца, однако очевидна роль ЭД в порочном круге формирования метаболического синдрома, развития и прогрессирования сердечно-сосудистых осложнений.

### ***МС как причина и проявление циркуляторных расстройств***

МС является частой причиной патологии магистрального кровообращения. В Российской Федерации среди больных с АГ 74 % пациентов имеют и МС [111]. Частота регистрации синдрома инсулинорезистентности-гиперинсулинемии (ИР-ГИ) в исследовании Л. А. Соколовой и соавт. [59] у пациентов с АГ составила 36 %. При наличии ИР у пациентов с АГ отмечены более высокие значения среднесуточного САД по данным суточного мониторирования артериального давления, бóльшая частота регистрации и степень выраженности органных изменений — гипертрофия левого желудочка, показателей ДЭ, гиперплазии комплекса интима-медиа, а также изменения липидного профиля —повышение уровня триглицеридов (ТГ), увеличение холестерина (ХС) и ЛПНП, снижение ЛПВП [57,76]. Сочетание артериальной гипертонии с ожирением приводит к значимому увеличению уровня G-CSF как фактора иммунного воспаления сосудистой стенки с его высоким нарастанием при инсулинорезистентности. При метаболических нарушениях выявлено значимое повышение ростового фактора VEGF, как показателя ремоделирования сосудов [76,98, 224]. Исследованиями Б. А. Шелест [149] показано снижение эндотелий-зависимой и эндотелий-независимой вазодилатации плечевой артерии у больных подагрой в сочетании с метаболическим синдромом в

сравнении со здоровыми и больными с метаболическим синдромом без нарушения пуринового обмена. Ожирение и/или артериальная гипертензия усугубляли нарушения функционального состояния эндотелия. Г. А. Яровая и соавт. [55] отмечают активацию калликреин-кининовой и ренин-ангиотензиновой систем, а также активности альфа-протеиназного ингибитора и снижение активности альфа-2- макроглобулина при МС. В литературе имеются также сведения о том, что при СД и МС агрегация эритроцитов, нарушение липидного спектра плазмы крови, дислипидемия и гиперфибриногенемия взаимосвязаны [50, 124].

Принимая во внимание приведенные теории, необходимо также отметить, что существуют другие концепции патогенеза МС, все же перекликающиеся с вышеизложенными. Имеется точка зрения, придающая системному воспалению (СВ) самостоятельную этиологическую роль в возникновении ИР [339]. И. Д. Беспалова и соавт. [128], опираясь на результаты корреляционного анализа, указывающие на корреляцию СВ не с ИМТ, а с ИР, в частности, с уровнем С-пептида как маркера ИР, предполагают первичную роль СВ в развитии МС. С-реактивный белок усиливает подвижность лейкоцитов, инициирует фагоцитоз и связывание комплемента, стимулирует экспрессию молекул адгезии на поверхности эндотелия [193]. Биоактивные липиды – дериваты арахидоновой кислоты – возможно, являются ранним связующим звеном между системным воспалением и МС [128]. Кроме того, гиперактивность NO-синтазы [106] указывает на нарушение окислительно-восстановительного и воспалительного статуса, что характерно для МС. Ю. Ю. Борщев и соавт. [25] установили, что наличие системного воспаления на фоне висцерального ожирения характеризуется контролируемым изменением маркеров воспаления. Н. Н. Мусина и соавт. [99] описали корреляционные связи, отражающие взаимоотношающее влияние системного воспаления и нарушений углеводного обмена.

Развитие МС сопровождается усилением в крови пациентов свободнорадикальных процессов и повышением продуктов ПОЛ. В настоящее

время уже установлена ключевая роль матриксной металлопротеиназы 9 в развитии метаболического синдрома и его осложнений [107]. В крови больных метаболическим синдромом Ю. Р. Ефременко [45] было установлено значительное увеличение как первичных (диеновые и триеновые конъюгаты), так и конечных продуктов пероксидации (основания Шиффа) в плазме крови. Отмечено также снижение активности антиоксидантной системы с характерным повышением продуктов окислительной модификации белков и перекисного окисления липидов при МС [147].

### ***Рецепторно-генетическая теория МС***

С позиций интегративной физиологии МС можно рассматривать как синтропию заболеваний внутренних органов, в основе которой лежат системное воспаление, инсулинорезистентность, липотоксичность и другие процессы, зависящие от активации NF- $\kappa$ B [54, 67, 94, 112, 213, 291, 294, 415, 434]. Такая активация NF- $\kappa$ B отражает функционирование организма в условиях действия нового сочетания факторов внешней среды, когда системы адаптации не успевают эволюционировать [53]. Значительная физиологическая ГИ активировывает многие гены, продукты которых участвуют в развитии воспаления [194].

I. Jialal и соавт. [280], L. Tornatore и соавт. [404], L. Catrysse, G.van Loo [213] указывают на совместную активацию NF- $\kappa$ B, толл-подобных рецепторов TLR2 и TLR4 и увеличение концентрации провоспалительных цитокинов у пациентов с МС. Роль указанных рецепторов в развитии МС в настоящее время подвергается широкому обсуждению. Существуют исследования, проведенные в условиях *in vitro* и связывающие активность TLR4 с развитием ИР [276, 283, 401]. Инсулинорезистентные лица имеют повышенный уровень свободных жирных кислот, которые являются лигандами для провоспалительного TLR4 [139]. N. Akhter и соавт. [333] указывают на связь экспрессии TLR-2 с увеличением уровней ИЛ-6 и TNF- $\alpha$ . R. Panwa и соавт. [334] установили, что гипергликемия индуцирует воспаление макроvasкулярных эндотелиальных клеток аорты и дисфункцию гликокаликса через активацию пути TLR-2/4 через повышение АФК. Н. Е. Муругина и соавт. [118] также отмечали увеличение

продукции эйкозаноидов макрофагами в ответ на стимуляцию толл-подобных рецепторов 4 типа. МС. Н. С. Юбицкая и соавт. [154] указывали на изменение синтеза вазоактивных медиаторов, способствующих снижению эндотелий-зависимой релаксации сосудов, которое происходит на ранних стадиях формирования МС до развития ИР, выразившееся в увеличении уровня эйкозаноидов, обладающих вазоконстрикторными эффектами. Последнее связывает воедино концепции МС как частного случая эндотелиальной дисфункции, кластерную теорию и теорию первичной роли СВ в развитии МС.

### ***Роль генетических полиморфизмов в патогенезе МС***

Изучение наследственной предрасположенности к многофакторным заболеваниям необходимо для их диагностики и выбора оптимальной терапии. Большую практическую ценность представляет исследование полиморфных маркеров в генах-кандидатах, продукты которых вовлечены в патогенез такого многофакторного заболевания, как МС. Существует много неспецифических генов, которые имеют значение в развитии ожирения и МС. Гены, образующие полигенную систему, в отдельности дают слабый эффект, лишь определяют тенденцию к избыточному накоплению жировой ткани, а степень проявления зависит от факторов внешней среды [120]. Для полигенных вариантов ожирения рассматриваются следующие понятия: гены-кандидаты, генные соединения и генные ассоциации. В литературе упоминают более чем о 20 генах-кандидатах (*ACE, ADIPOQ, ADRB2, ADRB3, DRD2, FTO, GNB3, HTR2C, IL6, INS, LDLR, LEP, LEPR, LIPE, MC4R, NR3C1, PPARG, RETN, TNFA, UCP1, UCP2, UCP336, VDR*) [231]. В связи с задачами данного обзора, следует подробнее остановиться на исследовании полиморфизма генов к адипонектину и лептину. Продукт гена *ADIPOQ* (расположен на хромосоме 3q27) – белок адипонектин, вырабатывается клетками белой жировой ткани и участвует в регуляции различных метаболических процессов, включая обмен глюкозы и распад жиров [4]. Низкая концентрация адипонектина в крови ассоциирована со снижением окисления липидов, увеличением концентрации триглицеридов и нарушением потребления глюкозы клетками периферических тканей (такими, как печень, мышцы).

Уменьшение уровня адипонектина в плазме отмечено у людей, страдающих ожирением и СД2, а также в линии мышей ob/ob (мышь с врожденным ожирением и гипергликемией) [60]. Повышение концентрации эндогенного, а также введение экзогенного рекомбинантного адипонектина увеличивает чувствительность клеток к инсулину, а его пониженная концентрация, наоборот, ведет к развитию ИР и ожирения [326]. Согласно базе данных HarMap (URL:<https://harmap.ncbi.nlm>), существует более 100 однонуклеотидных полиморфизмов (single-nucleotide polymorphism – SNP), которые отображают и формируют 2 основных блока гаплотипов внутри локуса адипонектинов. Эти полиморфизмы, включая необычные варианты с частотой минорных аллелей (MAF) < 5 процентов, представлены 21 маркирующим SNP (связь с  $r^2 > 0,8$ ). Согласно базе данных NCBI (URL:<https://www.ncbi.nlm>), в кодирующей области адипонектина имеется 29 SNP, где 20 являются точечными мутациями. Было обнаружено, что увеличение числа SNP, например, rs2241766, rs1501299, rs266729, rs17366743, rs17300539, rs182052, rs822396, rs17846866, rs3774261 и rs822393 в гене адипонектина, в значительной степени связано с патогенезом диабета [166]. Три распространенных SNP *ADIPOQ* (rs266729, rs2241766 и rs1501299) были наиболее широко изучены [198]. Носительство определенных полиморфных вариантов гена *ADIPOQ* меняет активность гена и детерминирует развитие ожирения, инсулинорезистентности, дислипидемии и, как следствие, метаболического синдрома и СД2 [77]. По мнению ряда авторов, однонуклеотидная замена замена Т>С в 111-м кодоне экзона 3 полиморфного локуса rs17366743 гена *ADIPOQ*, в результате чего тирозин меняется на гистамин (Y111H), может нарушать структуру и функцию адипонектина. Кроме того, в ряде исследований выявлены ассоциации аллелей этого локуса с уровнем секреции адипонектина, с гипoadипонектинемией у лиц с нарушенной толерантностью к углеводам [8, 261].

В разных этнических группах мира проведены исследования по определению связи полиморфных локусов гена *ADIPOQ* с СД2 [5,11]. Показана ассоциация аллелей гена *ADIPOQ* (rs17366743) с СД2, ожирением и нарушением

пищевого поведения у жителей Восточной Германии [371]. Полиморфный локус rs17366743 гена *ADIPOQ* является маркером риска развития СД2 и связанных с ним осложнений у жителей Республики Башкортостан [8]. Была показана ассоциация между rs1501299 и развитием ожирения, которое купировалось введением Средиземноморской диеты в испанской популяции [157].

Другой полиморфный маркер G276T (rs1501299) гена *ADIPOQ*, исследованный Ж. Т. Исаковой и соавт. [9], связан с более высоким риском СД в киргизской популяции.

Исследованиями Д. Л. Бровин и соавт. [19] выявлена ассоциация rs2441766 и rs266729 с концентрацией общего и высокомолекулярного адипонектина сыворотки крови у женщин с абдоминальным ожирением и метаболическим синдромом в Санкт-Петербурге.

Н. Каур и соавт. [251] было подтверждено, что полиморфизм *ADIPOQ*-3971A>G (rs822396) и +276G>T (rs1501299) является фактором риска ожирения и МС в североиндийской пенджабской популяции. Полиморфизм +45 T> G был идентифицирован и коррелировал с МС и СД2 в венесуэльской популяции [186]. В японской популяции полиморфные маркеры rs10937273 and rs1648707 гена *ADIPOR* были связаны с риском развития инсулинорезистентности [168].

В то же время следует отметить, что исследования ассоциации с СД2 в нескольких популяциях показали противоречивые результаты [217, 158, 171, 218, 424].

Однако адипонектин в одиночку не может выполнять свои биологические функции; вместо этого белковый гормон действует посредством связывания со своими рецепторами, *ADIPOR1* и *ADIPOR2*. Следовательно, не только генетика адипонектина, но и генетика *ADIPOR1* и *ADIPOR2* важны в патогенезе диабета и других метаболических заболеваний, связанных с адипонектином. Рецептор к адипонектину типа 1 (*ADIPOR1*, расположен на хромосоме 1q32) у человека синтезируется преимущественно в скелетной мускулатуре, тогда как рецептор к адипонектину типа 2 (*ADIPOR2*, расположен на хромосоме 12p13.33) экспрессируется, главным образом, в печени [165]. Tureck L. V. и соавт. [170]

установили зависящее от пола влияние полиморфизма 276G> T на уровни адипонектина и ЛПНП, при этом гетерозиготный генотип (GT) обеспечивал более высокие уровни белка, в то время как редкий гомозиготный генотип (TT) был связан с более высоким уровнем ЛПНП. Отмечена корреляция между экспрессией генов рецепторов адипонектина и чувствительностью к инсулину у человека [158]. Показано, что экспрессия обоих генов снижена в скелетной мускулатуре у больных СД2 [127]. Мутация *ADIPOR2* SNP+795 Г/А приводит к снижению концентрации триглицеридов/ЛПОНП17 у больных МС [256]. Данные исследования С. М Damcott и соавт. [257] свидетельствуют, что два однонуклеотидных полиморфизма гена *ADIPOR1* -rs2275738 и rs2275737 ассоциированы с развитием СД2 в популяции амишей. В русской популяции исследованы отдельные гены-кандидаты: аллель T маркера rs2241766 гена *ADIPOQ* (повышающими риск развития ожирения), маркера rs 16928751 гена *ADIPOR2* (генотип, ассоциированный с риском развития ИР) [21]. Ассоциация однонуклеотидного полиморфизма rs1501299 в гене *ADIPOQ* с массой тела, ИР, уровнем адипокинов в сыворотке крови и МС была изучена D. A. de Luis соавт. [395], и было установлено, что уровень инсулина был выше у носителей T-аллеля, чем у носителей без T-аллеля. Общий уровень адипонектина был ниже у носителей T-аллеля, чем у носителей без T-аллеля. Логистический регрессионный анализ показал, что субъекты с аллелем T были связаны с повышенным риском развития МС.

Имеются данные о влиянии полиморфизмов гена лептина на инсулинорезистентность, развитие ожирения и сопутствующей патологии. Было показано наличие ассоциации полиморфизма R-аллеля гена *Q223R LEP* с увеличением ИМТ, тиреотропином [78, 89]. Был зарегистрирован ряд мутаций гена лептина, влияющих на его экспрессию, одной из наиболее значимых был однонуклеотидный полиморфизм G (-2548) A промоторной области гена (rs7799039) [77]. Аллельный полиморфизм rs1137101 (Gln223Arg) гена *LEP* был связан с развитием СД2: аллель 223gln увеличивает в 1,5 раза, а аллель 223arg снижает в 1,5 раза (p=0,039) риск его развития. Наличие аллеля 223Gln у



пациентов с СД2 способствует развитию более высоких значений индекса массы тела ( $26,29 \pm 0,81$  кг/м<sup>2</sup> против  $30,32 \pm 0,68$  кг/м<sup>2</sup>;  $F=7,51$ ;  $p=0,003$ ) и уровней лептина в крови ( $87,27 \pm 7,52$  нг/мл против  $105,58 \pm 10,25$  нг/мл;  $F=6,59$ ;  $p=0,006$ ). Аллель 223Gln ассоциирован с ожирением при сахарном диабете 2 типа с ИМТ  $>30$  кг/м<sup>2</sup>. Носители аллеля 223gln имеют в 1,8 раза более высокий риск развития ожирения ( $OR=1,811$ ; ДИ= $1,036-3,165$ ;  $p(\chi^2)=0,038$ ) [125]. SNP rs1137101 гена *LEPR* оказывает выраженное влияние на ожирение, что подтверждается исследованиями R. Tabassum и соавт. [255], M. Yang и соавт. [425], которые установили, что наличие аллеля G способствует ожирению, а аллель A снижает риск. Однако, исследование [300] не выявило связи между полиморфизмом *LEPR Q223R* и ожирением, а также с расстройствами, связанными с ожирением. Исследования [297] показали, что гомозиготный генотип G/G по rs7799039 гена *LEP* увеличивает риск ожирения ( $P = 0,013$ , ОШ = $1,003$ , 95 % ДИ:  $1,000-1,007$ ). В последующем были изучены генетические варианты *LEPR* и *LEP*, связанные с изменениями в составе тела в ответ на физические упражнения, и было установлено, что носители A/A гомозиготного генотипа SNP rs7799039 *LEP* имели более высокие значения ИМТ и телесного жира, чем те, которые были носителями аллеля G [258]. Другое исследование полиморфизма гена *LEP* (rs7799039) показало, что женщины с генотипом A/A имеют меньшую массу тела во время беременности, чем те, кто является носителем генотипов G/G или G/A + G/G [345]. При изучении корреляции между лептином в сыворотке и экспрессией его гена, было выявлено, что по генотипу rs7799039 гена *LEP*, гетерозиготный A/G генотип имел значительно более высокие уровни лептина, чем другие генотипы в той же группе [220]. Полиморфизмы *LEP*, rs7799039 и rs2167270, были значительно связаны с уровнями лептина у женщин с ожирением в тайваньской популяции [317]. В арабской популяции также была обнаружена связь полиморфизма rs7799039 гена *LEP* с развитием МС [254]. Среди генов-кандидатов только полиморфизм *LEP* rs7799039 продемонстрировал значимую связь с гипергликемией ( $\chi^2=9,879$ ,  $P=0,008$ ) у взрослых тайских пациентов с психозом, получавших рисперидон; пациенты с

генотипом AA имели самый высокий риск (41,1 %), за которыми следовали пациенты с генотипами AG (20,8 %) и GG (0 %) [189]. Женщины с генотипом AA полиморфизма G2548A сообщили о более высоком потреблении жира и общей энергии и имели более высокое увеличение концентрации ТГ во время беременности, чем женщины с генотипом AG или GG [299].

В то же время существует ряд противоречивых данных о влиянии комбинированных полиморфизмов генов рецепторов адипонектина и лептина. Так, в исследовании Z. Yu и соавт. [253] полиморфизмы генов адипокина, *LEP* и *LEPR* не были связаны с предрасположенностью к ожирению, в то время как полиморфизмы *ADIPOQ* G276T были связаны с более высоким ИМТ. Однако комбинированные полиморфизмы *ADIPOQ* 4522C<T и 276G<T, *LEP* 2548G<A, согласно N. Zayani и соавт. [191], способствуют ожирению. Исследования взаимодействия генов и окружающей среды показали достоверную связь между вариантами *PPAR $\gamma$* , транскрипционным фактором 7 2-го типа, жировой массой и генами ассоциированного с ожирением белка (FTO), диетой западного типа и СД 2 [327]. Полученные данные убедительно свидетельствуют о том, что генетические вариации в локусах *PPAR $\gamma$*  и *ADIPOQ* могут способствовать риску развития СД2 [349]. Полиморфизмы генов *ADIPOQ* (rs1501299 и rs17300539), *LEPR* (rs1137101 и rs1045895), *IRS2* (rs1805092), *GRB14* (rs10195252 и rs3923113) и *PPAR $\gamma$*  (rs1801282) были связаны с избыточным весом и ожирением при неконтролируемом СД2 [252].

Активация *PPAR $\alpha$*  и  $\gamma$  увеличивает поглощение адипоцитами глюкозы и свободных жирных кислот и повышает чувствительность к инсулину, индуцируя экспрессию *ADIPOR1* и *ADIPOR2* [328]. Активация *PPAR $\gamma$*  индуцирует повышение регуляции различных нижестоящих генов-мишеней, участвующих в липогенезе и синтезе жирных кислот. Следует отметить, что существует нехватка исследований полиморфизма генов лептина и генов рецепторов адипонектина, ответственных за ИР и развитие МС и СД.

Учитывая множественность взглядов на природу и механизмы развития МС, следует указать, что в патогенезе МС большое значение имеют причинно-

следственные связи и порочные круги, связанные с взаимным влиянием его компонентов [79]: развитие МС начинается на фоне полигенных наследственных дефектов, переядания и гиподинамии, что вызывает абдоминальное ожирение, приводящее к липотоксичности, повреждению адипоцитов, недостаточности их функций и дефициту адипонектина. Это ведет к избыточной продукции липокинов, дальнейшей активации инсулинорезистентности. Гиперлептинемия способствует увеличению перекисного окисления липидов (ПОЛ), окислительному повреждению гепатоцитов и стеатозу печени. При нарушениях функций гепатоцитов возникает гиперинсулинемия, гипертриглицеридемия, артериальная гипертензия и СД 2, и формируются сердечно-сосудистые и тромботические осложнения [14, 58, 132, 151] вследствие следующих механизмов: ГИ приводит к гиперсимпатикотонии, за счет чего увеличивается сердечный выброс и возникает спазм сосудов. Кроме того, происходит инсулин-зависимая пролиферация гладкомышечных клеток резистивных сосудов, сужение их просвета и повышение общего периферического сопротивления и стимуляция  $\text{Na}^+$ - $\text{H}^+$ -противотранспорта в клеточных мембранах, что увеличивает вход в клетки кальция и рН цитоплазмы [58]. Рост периферического сосудистого сопротивления и кровяного давления повышает чувствительность гладкомышечных клеток сосудов к норадреналину и ангиотензину. Кроме пролиферативных эффектов на гладкие мышцы сосудов, избыток инсулина приводит к повышению реабсорбции натрия в почках. В результате развивается гиперволемия и возрастает содержания  $\text{Na}^+$  и  $\text{Ca}^{2+}$  в стенках сосудов, что еще больше усиливает вазоконстрикцию. Кроме перечисленных эффектов, ГИ вызывает падение содержания глюкозы также в инсулиннезависимых клетках, прежде всего в нейронах. Поэтому, в конечном итоге, МС и его осложнения, такие как АГ, являются следствием патофизиологического ответа целостного организма на гипогликемию, как стрессор, приводящий к повышению продукции гормонов, обладающих контринсулярным действием на уровень глюкозы (глюкокортикоидов, катехоламинов, глюкагона и др.).

Таким образом, изменение взглядов на МС от нозологической единицы до кластера факторов риска не уменьшило интенсивности изучения этого состояния в мире.

### *Эпидемиология МС*

В настоящее время эпидемиологические исследования по оценке распространенности метаболического синдрома выполнялись практически во всех крупных европейских странах [378].

В результате исследования Hoorn, проведенного с 1989 по 2000 гг., было установлено, что МС сопровождается повышением риска ССО с коэффициентом 1,5 [310]. На основании проекта EURALIM [330] был сделан вывод о важности гармонизации получаемых данных больших массивов исследования. В 2002 г. группой DECODE [361] был проведен анализ распространения МС на основе данных 8 европейских центров критериям ВОЗ и EGIR, было установлено, что распространенность МС нарастала с возрастом независимо от используемого критерия от 7 % до 36 % среди мужчин 40–55 лет, у женщин того же возраста от 5 % до 22 % [236]. В Проекте MORGAM были показаны вариации преобладания МС в 10 европейских странах – от 9 до 16 % у мужчин младше 40 лет до 34-45 % у мужчин 60-69 лет. У женщин в соответствующем возрасте преобладание было 5-8 % и 35-46 % [278].

Таким образом, проведенные исследования показали высокую распространенность МС на европейском континенте, с наибольшей распространенностью в Северной Европе.

В Северной Америке также был проведен ряд исследований МС. Третья фаза исследования NHANES (NHANES III) (1988 -1994 г.г.) отметила нарастание распространенности синдрома с возрастом (по критериям NCEP) при суммарной распространенности синдрома 23,7 %. В дальнейшем в США был проведен целый ряд подобных скринингов: San Antonio Heart study (показал, что риск развития СД при наличии МС повышен втрое в сравнении со здоровой популяцией) [402], Pitt Study (установил, что среди афроамериканцев в возрасте от 25 до 50 лет распространенность МС 5 составила 25 %) [188] и самое крупное

исследование 2000 г. [396], отметившее связь между соблюдением врачебных рекомендаций, образом жизни и распространением МС. С 2003 по 2012 г.г. общая распространённость МС в США составила 33 %, со значительным преобладанием лиц женского пола над лицами мужского пола (35,6 % против 30,3 %,  $p < 0,001$ ). При сравнении по расовому/этническому признаку наибольшее распространение МС было обнаружено среди латиноамериканской популяции (35,4 %), затем у неиспаноговорящих европеоидов (33,4 %) и темнокожих американцев (32,7 %) [359].

В Канаде также проводилось исследование оценки распространённости МС [245], которая составила 25,8 %.

Данные эпидемиологических исследований говорят о том, что распространённость МС в Азии существенно выше, чем в европейской популяции. По данным Р. Ranasinghe и соавт. [353], Азиатско-Тихоокеанский регион в настоящее время сталкивается с эпидемическим характером распространения МС. В большинстве стран около 1/5 взрослого населения страдает от МС. Самая высокая распространённость, по данным ряда исследований, оказалась у индийцев (распространённость МС достигает 45,8 %, 57,7 % и 28 % по NCEP-АТРИИ-критериям, IDF и WHO соответственно [355], а самая низкая – у китайской субпопуляции – 24,2 % (24,6 % у мужчин и 23,8 % у женщин) [311]. В Корее у мужчин с возрастом распространённость МС увеличивается с 28,84 % до 30,52 % [420]. Несколько реже МС отмечен во Вьетнаме (16 % взрослых) [309]. В Иране распространённость достигает 25 % (95% CI: 22–29 %) по критериям АТРИИ [356]. Скрининговые исследования факторов риска в Турции также выявили большую распространённость МС по NCEP критериям (56,4 %) [200]. В Японии распространённость МС составляет 27,0 % для мужчин и 10,0 % для женщин в возрасте 20 лет и старше [315].

Ближний Восток и Северная Африка известны высокой частотой распространения МС. Так, в Тунисе регистрируется 45,5 % и 24,3 % пациентов по критериям IDF и АТРИИ, в Омане – до 17 %, ОАЭ – 40,5 % [383], в Катаре – 28 % [350]. В Саудовской Аравии поражена 1/3 популяции [407]. Различия в

распространенности синдрома в странах Азии выражены еще больше, чем среди европейских стран и распространенность ожирения, сахарного диабета и синдрома в целом в азиатских странах постоянно возрастает.

Эпидемиология МС изучена и в других странах: в мексиканской популяции [229], в Бразилии [358], в Австралии [406], в Новой Зеландии [312], на Африканском континенте в Кении [352], Камеруне [305].

В ряде регионов Российской Федерации выполнены эпидемиологические исследования, касающиеся распространенности МС и его осложнений.

Первое российское исследование на случайной выборке взрослого населения в городе Чебоксары (Чувашская Республика, Приволжский Федеральный округ) показало, что 20,6 % лиц в возрасте 30-69 лет имеют МС; у женщин встречается в 2,4 раза чаще; с возрастом число больных увеличивается [64, 304].

По программе ВОЗ MONICA были получены данные по Сибирскому региону России. Использовались критерии Всероссийского Научного Общества Кардиологов (ВНОК). Было установлено, что распространенность АО у лиц 25–45 лет в г. Новосибирске составляла 42,6 % (41 % у мужчин, 44 % у женщин), АГ – 33,5 % (53 % у мужчин, 21 % у женщин), гипертриглицеридемии (ГТГ) – 17,5% (26,3 % у мужчин, 9,6 % у женщин), гипо- холестерин липопротеидов высокой плотности (ХС ЛПВП) – 24,3 % (27,7% у мужчин, 20,5 % у женщин), гипер- холестерин липопротеидов низкой плотности (ХС ЛПНП) – 64,8 %, гипергликемии плазмы крови – 29 % (39,3 % у мужчин, 20,1 % у женщин). При использовании критериев NCEP АТР III (2001) распространенность МС в г.Новосибирске у лиц 25–45 лет составила 17 % (19,9 % у мужчин и 14,5 % у женщин), по критериям IDF (2005) – 27 % (29,5 % у мужчин и 24,5 % у женщин), по критериям IJS (2009) – 30 % (35,8 % у мужчин и 25 % у женщин), по критериям ВНОК (2009) – 29,3 % (33,2 % у мужчин, 26 % у женщин) [116].

Также проводилось крупное исследование в 1995-2001 гг. [114], когда на основании анализа данных 500 пациентов с АГ и МС наиболее частым

коморбидным состоянием при МС было признано сочетание АГ с абдоминальным ожирением, гипертриглицеридемией и гипо- ХС ЛПВП.

Независимая прогностическая роль ожирения была показана в исследовании 2002 г. [152], когда в многофакторной модели были проанализированы ассоциации факторов риска и наличия любого типа ожирения. Тесная связь отмечена между ожирением и повышенными уровнями ТГ и глюкозы, злоупотреблением алкоголя. Наиболее выраженные ассоциации были выявлены между ожирением и АГ среди лиц обоего пола – ОШ: 2,71 и 2,52 у мужчин и женщин, соответственно. Отмечено линейное увеличение с ростом массы тела распространенности АГ и средних значений систолического артериального давления (САД) и диастолического артериального давления (ДАД). Анализ причин летальности при СД в РФ показал, что ведущей причиной явились сердечно-сосудистые заболевания (72,6 %), из них хроническая сердечная недостаточность – 40,4 %, ИМ – 15,4 %, инсульт – 16,8 % [12].

Обследование жителей Санкт-Петербурга, Курска, Калининграда и Оренбурга выполнено в период 2009–2010 гг. по критериям АТР III (2001-2005), IDF 2005 и JIS 2009 г. Распространенность МС, согласно различным критериям, составила: 21,4 % (IDF-2005), 18,8 % (АТР-III2005), 23,9 % (JIS-2009) и 18,4 % (JIS), причем у мужчин отмечена значительно более высокая распространенность МС по сравнению с женщинами [93].

Таким образом, в настоящее время в эпидемиологии метаболического синдрома накоплено много данных по распространенности, как МС в целом, так и отдельных его компонентов.

Не оставляет сомнений необходимость дальнейших изысканий в этом направлении с позиций интегративной физиологии, как это указывается в «дорожной карте» исследований сахарного диабета в Европе [273], глобальном докладе ВОЗ по диабету [33] и позднейших метаанализах [177].

## 1.2 Подходы к профилактике и лечению метаболического синдрома

Главными целями лечения больных МС является снижение МТ, нормализация обмена веществ, достижение оптимального уровня АД, предупреждение сердечно-сосудистых осложнений [64].

Основным в лечении МС являются немедикаментозные мероприятия, прежде всего, формирование здорового образа жизни, который не исключается использования медикаментозных методов лечения. Немедикаментозное лечение является более предпочтительным, доступным и не требует больших материальных затрат, но требует значительных усилий со стороны врачей и самого больного, т. к. такое лечение связано с затратами дополнительного времени и должно проводиться пожизненно [17]. Снижение массы висцерального жира способствует повышению чувствительности тканей к инсулину и снижению АД, значительно уменьшая риск осложнений [173, 227]. При недостаточной эффективности немедикаментозных методов лечения возникает необходимость медикаментозной терапии (лекарственные препараты, снижающие вес [105] – центрального действия, периферического действия и различного действия (гормон роста, андрогены)) или хирургической коррекции массы тела. При выборе программы лечения ожирения, необходимо помнить о высокой степени сердечно-сосудистого риска у больных с МС и учитывать взаимные влияния лекарственных препаратов. При наличии НТГ, отсутствия эффекта от немедикаментозных мероприятий и высокой степени риска развития СД или атеросклероза, показано назначение препаратов, влияющих на чувствительность тканей к инсулину и углеводный обмен периферического действия. При возникновении ДЛП показана гиполипидемическая терапия [64]. Важным условием лечения, направленного на улучшение углеводного и липидного обменов, является достижение целевых уровней глюкозы и липидов, что снижает степень риска развития СД, атеросклероза и ССЗ и повышает продолжительность жизни больных с МС. Также имеет большое значение



терапия АГ, поскольку она вносит определенный вклад в формирование и прогрессирование МС.

### ***Пути коррекции уровня адипонектина и лептина***

Всестороннее понимание взаимодействия генов и окружающей среды при ожирении может привести к огромному прорыву в развивающейся области персонализированной медицины и индивидуальных рекомендаций по образу жизни. Данные исследований этих взаимодействий свидетельствуют о том, что определенные подгруппы людей могут иметь повышенный риск развития ожирения в определенных условиях, но также могут получать больше пользы от изменения образа жизни, лечения или хирургических процедур. Эта информация поможет определить, являются ли общепопуляционные или персонализированные подгрупповые вмешательства наиболее подходящими для борьбы с мировой эпидемией ожирения [365]. Исследования свидетельствуют, что повышение уровня циркулирующего адипонектина различными способами может быть многообещающей терапевтической стратегией в лечении болезней, связанных с избыточным весом и ожирением. Так, агонисты PPAR $\gamma$  тиазолидинидоны (thiazolidinediones (TZDs)), такие как rosiglitazone и pioglitazone приводили к увеличению уровня адипонектина в эксперименте и при клинических испытаниях [323, 410]. Метформин эффективно снижал уровень лептина в эксперименте на крысах с ожирением [314].

Однако, несмотря на положительный эффект, отмечается масса негативных последствий применения TZDs- развитие сердечной недостаточности, остеопороза, рака мочевого пузыря [136]. Альтернативой использованию традиционной фармакотерапии может служить применение фитопрепаратов и увеличение физической активности. Так, отмечается положительное влияние фитохимических препаратов astragaloside II и isoastragaloside I на толерантность к глюкозе и чувствительность к инсулину [369]. В дополнение к фармакотерапии, отмечается положительный эффект аэробных упражнений на уровень адипонектина в плазме крови [380,399].

Результаты большинства клинических испытаний с рекомбинантным лептином человека показали, что его эффективность в восстановлении энергетического баланса и коррекции эндокринопатий, связанных с ожирением, у генетически тучных моделей грызунов распространяется только на лечение тех редких форм ожирения человека, вызванных мутацией в гене LEP. Отказ от лептина и фентермина в Европе, а также от фенфлурамина и сибутримина в клиническом применении в США должно стимулировать новые подходы в разработке средств против ожирения и диабета [223, 266].

### ***Использование продуктов натурального происхождения в профилактике и терапии метаболического синдрома***

Таким образом, лечение и профилактика метаболического синдрома синтетическими медикаментами представляет серьезные трудности ввиду их серьезных побочных эффектов, высокой стоимости, неэффективности в некоторых случаях и недостаточной доступности для многих людей во всем мире. Кроме того, некоторые противодиабетические препараты способны вызывать ожирение [30]. В связи с этим, возрастает интерес к использованию продуктов натурального происхождения для коррекции данной медико-социальной проблемы.

Использование натуральных продуктов как лекарственных средств имеет длительную историю [104, 143, 208, 387]. Согласно докладу ВОЗ, 65–80 % населения Земли проживает в развивающихся странах и нуждается в доступных продуктах народной и альтернативной медицины, ввиду недоступности современных методов лечения [430]. Натуральные средства лечения и профилактики также достаточно популярны и в развитых странах. Так, по данным Zion Market Research [435], объем мирового рынка пищевых добавок в 2020 г. составил 191,1 млрд долларов США, и ожидается, что к 2028 г. он достигнет 307,8 млрд долларов США, увеличившись в среднем примерно на 5,9 % в период с 2021 по 2028 г.г. Около 50 % лекарственных средств, одобренных Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (Food and Drug Administration, FDA), имеют

растительное происхождение [242, 290, 316, 436]. Ключевую роль в лечении сахарного диабета, ожирения и метаболического синдрома в настоящее время как в странах Запада, так и Востока отводят методам и средствам народной медицины [209, 219]. Последние исследования считают антиоксидантную активность главным механизмом действия продуктов натурального происхождения в лечении и профилактике МС [7, 202].

В настоящее время очень популярным термином в социальных и научных источниках является так называемое *функциональное питание* [150, 248]. Хотя понятие "функциональные продукты питания (ФПП)" не определено точно и последовательно, некоторые из его уникальных характеристик включают в себя то, что оно является обычной или повседневной пищей, частью нормальной / обычной диеты, оказывает положительное влияние на целевую функцию (функции) за пределами питательной ценности / основного питания, потенциально снижает риск заболеваний и имеет разрешенные и научно обоснованные требования к здоровью [422]. ФПП и биологически активные добавки (БАД) отличаются формой, в которой недостающие человеку функциональные ингредиенты доставляются в организм – БАД в виде лекарственной формы, а ФПП – в форме традиционного питательного вещества. Кроме того, концентрация действующего вещества в БАД может значительно превышать физиологические потребности, поэтому БАД обычно назначаются курсами и принимают в течение определенного времени. В ФПП концентрации функциональных ингредиентов близки к оптимальным, физиологическим (в пределах 10–50 % средней суточной потребности), и поэтому такие продукты могут приниматься неопределенно долго. Подобные продукты предназначены для постоянного использования в составе обычных рационов, которые могут включать и другие нутриенты, суммарное количество которых не должно превышать суточной физиологической потребности здорового человека [150]. В то же самое время, продукты питания лишь в том случае могут быть отнесены к функциональным, если доказан их позитивный эффект на ту или иную ключевую функцию человека (помимо традиционных питательных эффектов) и получены

веские объективные доказательства наличия этого эффекта [46], например, улучшение физического и психического здоровья и предотвращение или уменьшение частоты заболеваний.

Значительное внимание уделяется самым последним исследованиям и практическим рекомендациям, которые могут быть использованы для разработки и тестирования эффективности потенциально функциональных продуктов питания и ингредиентов. Эффективные функциональные пищевые продукты и нутрицевтики также рекомендуются на всех этапах лечения в качестве дополнения к фармакотерапии нарушений МС [207, 306, 421]. Наиболее распространенные ингредиенты функционального питания – полиненасыщенные жирные кислоты, пробиотики / пребиотики / синбиотики и антиоксиданты [338]. Большинство исследователей отмечают корреляцию антиоксидантной активности лекарственных растений и функциональных пищевых продуктов с содержанием в них полифенолов [155, 325].

### ***Полифенолы и полифенольные продукты в профилактике и терапии метаболического синдрома***

*Полифенолы* – органические соединения ароматического ряда. Флавоноидами называется группа фенольных соединений с двумя ароматическими кольцами, объединенных общим структурным составом С<sub>6</sub> - С<sub>3</sub> - С<sub>6</sub> [65]. В зависимости от степени окисления и гидроксирования пропанового скелета С<sub>6</sub>-С<sub>3</sub>-С<sub>6</sub>, положения фенильного радикала и величины гетероцикла флавоноиды делятся на несколько групп [423] :

I. Собственно флавоноиды (эуфлавоноиды) с боковым фенильным радикалом у С<sub>2</sub>.

II. Изофлавоноиды с фенильным радикалом у С<sub>3</sub>.

III. Неофлавоноиды с фенильным радикалом у С<sub>4</sub>.

IV. Бифлавоноиды

В растениях флавоноидные соединения сравнительно редко встречаются в свободном состоянии. Подавляющее большинство их представлено в виде разнообразных гликозидов. Многообразие флавоноидных гликозидов

обусловлено значительным набором сахаров и возможностями присоединения их в ряде положений, а также тем, что сахара могут иметь различную величину окисных циклов, конфигурацию гликозидных связей порядок сочетаний между ними. Причём такие сложные смеси часто встречаются в одном и том же растительном материале. Натуральные полифенолы могут быть найдены во многих растениях и пищевых продуктах, таких как фрукты, овощи, чай, зерновые, водоросли, лекарственные растения и т. д. [44, 181,182, 183,184,346]. Некоторые исследованные дикорастущие и культурные растения, такие как виноград, оливки, черника, манго и цитрусовые содержат высокие концентрации полифенолов [181,182, 183,184]. Наиболее высокие концентрации полифенолов были найдены в таких растениях, как китайский кедр (*Cedrella sinensis*), вербейник, (*Lysimachia*), вигна китайская (коровий горох (*Vigna sinensis*)), зеленые соевые бобы, лист женьшеня, брокколи [181]. На содержание полифенолов могут влиять такие факторы как генотип растения, время сбора, условия хранения, методы приготовления [239].

Первоначально характеризующиеся как антиоксиданты, в недавних исследованиях полифенолы обозначаются как эпигенетические модификаторы [370]. Полифенолы могут взаимодействовать с эпигеном по-разному, что может изменять экспрессию генов, вызывая ингибирование или активацию. Куркумин, например, может вызывать деметилирование и взаимодействовать с факторами транскрипции [206]; катехины, такие как эпигаллокатехин-3 галлат, также могут снижать механизм метилирования путем ингибирования фермента ДНК-метилтрансферазы и вызывать фосфорилирование остатков серина и тирозина гистоновых белков. Флавоноиды, такие как лютеолин и генистеин [277], могут вызывать ацетилирование гистона H3 и вызывать гиперметилирование генов.

Как правило, эпигенетические механизмы, такие как метилирование, деметилирование ДНК и модификации гистонов, будь то путем фосфорилирования, ацетилирования или других, могут возникать в результате взаимодействия между соединениями, содержащимися в пище, и задействованными генами [329]. Эти изменения воспроизводятся в фенотипе,

который может изменить состояние здоровья и болезни [341]. Известно, что флавоноиды могут эффективно ингибировать транскрипционную активность PPAR $\gamma$ , ингибируя дифференцировку адипоцитов через пониженную регуляцию PPAR $\gamma$  [328]. Было показано, что некоторые флавоноиды, включая катехины [433], геспертин [271], изофлавоны [389], кверцетин [362] и тангеритин [270], оказывают ингибирующее действие на адипогенез при дифференцировке преадипоцитов в адипоциты, сопровождаемое понижением регуляции PPAR $\gamma$ . Полифенолы листьев черники в коррекции нарушений центральной нервной системы у мышей db/db (с двумя мутантными копиями гена лептина, приводящим к развитию ожирения и СД2), что указывает на возможную перспективу включения их в терапевтические продукты для пациентов с СД2 [400]. Полифенол тилирозид усиливает окисление жирных кислот посредством усиления передачи сигналов адипонектина, связанных с активацией как АМФ-активированной протеинкиназы, так и рецептора  $\alpha$ , активируемого пролифератором пероксисом, и улучшает метаболические нарушения, вызванные ожирением, такие как ГИ и гиперлипидемия, хотя он не подавляет увеличение массы тела и накопление висцерального жира у мышей с ожирением и диабетом [411].

### ***Использование полифенолов винограда в профилактике и терапии метаболического синдрома***

Одним из наиболее экономически важных источников полифенолов является виноград (*Vitis vinifera*) [265, 301]. Он культивируется на всех обитаемых континентах в достаточно широком климатическом диапазоне [417]. Виноград является одним из наиболее важных источников полифенолов среди фруктов [47, 215]. Фенольные соединения винограда могут быть условно разделены на 2 группы: фенолокислоты и флавоноиды. Среди последних наибольшее значение имеют антоцианы, катехины и процианиды [262]. Большинство флавоноидов первично локализуется в кожице, в то время как 60–70 % полифенолов сохраняется в косточках [364]. Также установлено, что процессы ферментации/мацерации приводят к извлечению большого количества

полифенолов [282]. Однако, более чем 70 % полифенолов винограда остается в жмыхе, который может, следовательно, быть значительным источником полезных веществ [244]. Фенольные соединения, в том числе и винограда, привлекают большое внимание, поскольку их употребление связано с профилактикой некоторых хронических и дегенеративных заболеваний, таких как сердечно-сосудистые заболевания, СД2, которые являются основными причинами смерти и инвалидности в развитых странах [340]. В последнее время выраженное благотворное влияние на здоровье флавоноидов винограда напрямую связывается с так называемым “французским парадоксом”. Этот термин обозначает эпидемиологические наблюдения относительно низкой частоты развития ишемической болезни сердца в популяции средиземноморского региона, несмотря на значительное содержание насыщенных жиров в местной диете. Традиция регулярного потребления ПППВ считается главным фактором снижения риска развития сердечно-сосудистых заболеваний [246]. Флавоноиды ПППВ являются главными причинами этого феномена [431].

В экспериментах *in vitro* было установлено, что флавоноиды могут выступать как в качестве превентивных антиоксидантов и антиоксидантов-разрушителей цепей (утилизаторов супероксид-радикалов, пероксильных, алкоксильных и гидроксильных радикалов, а также способных предотвращать окисление ЛПНП [216]. Также было обнаружено, что экстракт жмыха красного винограда подавляет активацию воспалительных транскрипционного фактора NF-κB [381].

Имеются доказательства, что ПППВ способны снизить проявления МС и предотвратить развитие ожирения и СД2, действуя как многоцелевые модуляторы с антиоксидантным и противовоспалительным действием [175]. Экстракты полифенолов винограда были проверены на их эффекты по отношению к толерантности к глюкозе и воспалению у мышей с ожирением, вызванным высокожировой диетой. Было обнаружено, что экстракт значительно улучшает толерантность к глюкозе и на длительный срок снижает содержание

маркеров воспаления у мышей с ожирением [162]. Н. А. Северин и соавт. [126], G. F. da Costa и соавт. [428] отмечали значительное положительное влияние полифенолов винограда на уровень глюкозы крови, липидный профиль и артериальное давление при МС. Также исследование Л. В. Коваленко и соавт. [62] отмечало снижение предрасположенности к МС и СД2 в эксперименте с применением полифенолов винограда. Ресвератрол повышает уровень Sirt1, ингибируя эндогенную экспрессию лептина [163] и увеличивая секрецию адипонектина [233].

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 [204]. В биологически легко доступной форме и высокой концентрации полифенолы могут применяться в составе виноградных пищевых концентратов, приготовленных по специальным технологиям [6, 68, 108, 109, 210]. В последние годы на мировом рынке появилось много пищевых добавок и нутрицевтиков на основе винограда. Они включают экстракты кожицы и косточек винограда (в капсулах или порошке), порошок жмыха и антоциановые красители [178, 203, 295]. Программа импортозамещения требует приоритетного развития производства отечественных препаратов, в том числе и различных полифенолосодержащих БАД. Было показано [100], что массовые концентрации фенольных веществ, обнаруженные в соке ягод и виноматериалах из перспективных отечественных сортов винограда Краснодарского края и Крыма, значительно выше таковых у западноевропейских сортов. Уникальные особенности климата указанных регионов приводят к повышению концентрации полезных веществ, в том числе и полифенолов, в продуктах переработки винограда. Так, исследованиями В. М. Сорокина и соавт. [101], Г. П. Зайцева и соавт. [142] была определена концентрация полифенольных компонентов в виноматериалах из винограда сорта Каберне-Совиньон и пищевого концентрата «Эноант». Суммарное содержание полифенолов в «Эноанте» составило 16370 мг/дм<sup>3</sup>, в виноматериалах – 2210 мг/дм<sup>3</sup>, транс-ресвератрол «Эноанта» 5,6 мг/дм<sup>3</sup>,



виноматериалов – 0,5 мг/дм<sup>3</sup>, что является достаточным для создания необходимой терапевтической концентрации продуктов метаболизма полифенольных биологически активных веществ (БАВ) в сыворотке крови [293, 337, 347]. Программой ВОЗ определена статистически значимая доза ежедневного потребления полифенолов, защищающая от коронарной недостаточности [430], что соответствует 750 мг полифенолов или адекватной дозе 10 мг/кг массы тела человека [92, 108].

Несмотря на большое внимание, уделяемое последнее время исследованиям влияния продуктов натурального происхождения на развитие социально значимых заболеваний (таких как МС, СД и ССЗ), целый ряд авторов указывают на недостаточное количество исследований, прежде всего, хронических (как *in vitro*, так и *in vivo*), подтверждающих стойкий позитивный эффект полифенолов винограда при указанной патологии [156, 232]. Кроме того, остаются дискуссионными вопросы их биодоступности [264, 286], взаимодействия с диетой [243] и даже статистической достоверности положительных эффектов при МС [228, 401].

Анализ имеющихся публикаций позволяет заключить, что отвечающие требованиям доказательной медицины данные подтверждают благоприятное влияние растительных экстрактов с высоким содержанием полифенолов при нарушениях углеводного и/или липидного обмена. С позиций современной клинической нутрициологии для целенаправленной диетологической коррекции и/или профилактики метаболических нарушений при СД2 целесообразно использовать специализированные пищевые продукты, содержащие БАВ с доказанными гипогликемическими, гипохолестеринемическими и антиоксидантными свойствами.

В то же время, наблюдается существенный недостаток исследований, в которых был бы проведен систематический анализ хронических 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.

## ГЛАВА 2

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

#### 2.1 Дизайн исследования

##### 2.1.1 Моделирование метаболического синдрома у крыс

Проведено интервенционное, одноцентровое, проспективное, выборочное, контролируемое, рандомизированное исследование без ослепления. Метод рандомизации заключался в том, что экспериментальные и контрольные группы составлялись из животных, эквивалентных по значимым параметрам, указанным далее.

Экспериментальные исследования по изучению биологических эффектов полифенольных продуктов переработки винограда проведены на 60 белых крысах-самцах линии Wistar, массой 180–200 граммов (возраст 10–12 недель), содержащихся в виварии Института «Медицинская академия имени С. И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского». Протокол эксперимента был рассмотрен и одобрен комитетом по биоэтике ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского» (протокол № 1 от 17 января 2018 г.) и соответствует указаниям Директивы Совета Европейских сообществ от 24 ноября 1986 г. (86/609 /ЕСС).

При проведении экспериментальных исследований использовали небольшое число животных в группах в соответствии с принципом reduction (уменьшение количества животных), представленном в «The Principles of Human Experimental Technique» W.M.S. [275]. Нами использовалась модификация модели МС Д. В. Лещенко и соавт. [40] с применением питья с 2,5 % содержанием фруктозы, приготовленного из кристаллической фруктозы «NovaSweet» (Новапродукт АГ, Россия). В изученных нами моделях МС [40,

368] кормление фруктозой продолжалось не более 6 недель. М. В. Решетняк, и соавт. [83] использовали модель с 10 % раствором фруктозы вместо питьевой воды продолжительностью 8 недель и предполагали, что требуется более длительный период кормления для развития признаков МС при более низких концентрациях фруктозы. Учитывая, что количество свободной фруктозы в виде явных и скрытых подсластителей в пищевых продуктах значительно увеличилось за последние 20 лет [313], то, даже без намеренного перекармливания, возникает хроническое регулярное потребление дополнительных, сверх физиологической нормы, доз фруктозы. Поэтому в нашей модели мы поставили целью воссоздать условия подобного многолетнего приема избытка фруктозы, учитывая, что 12 недель жизни крысы эквивалентны 10 годам жизни человека. Эта модель приводит к нарушению углеводного обмена и развитию классических симптомов МС: гипергликемию и нарушение толерантности к глюкозе, гиперлипидемию и повышение АД, а также нарушение регуляции ренин-ангиотензиновой системы [368]. Данная модель приводит к изменениям, которые описаны в целом ряде источников, как наиболее соответствующие критериям МС у человека [82, 230]. Для подтверждения развития МС использовали критерии Международной Диабетической Федерации [304] – абдоминальное ожирение и наличие любых двух факторов из следующих четырех:

- увеличение уровня ТГ больше 1,7 ммоль/л (140 мг/дл) или проведение ТГ- снижающей терапии;
- уровень ЛПВП меньше 1,29 ммоль/л или проведение специфической терапии;
- гипергликемия натощак больше 5,6 ммоль/л (100 мг/дл) или ранее установленный диагноз СД 2;
- АГ (САД > 130 мм рт. ст. или ДАД > 85 мм рт. ст.) или гипотензивная терапия, что соотносится с признаками МС у крыс [313].

Содержание животных в виварии было одинаковым, что является необходимым условием создания структурной группы. Животных содержали в клетках по шесть особей, в помещении с контролируемой температурой ( $20 \pm 2$  C<sup>0</sup>), относительной влажностью ( $60 \pm 5\%$ ) и световым циклом (12 ч свет/темнота) со свободным доступом к пище и воде. На протяжении 14 дней до начала эксперимента был выдержан период акклиматизация животных к условиям содержания. Животные всех групп получали в течение 12 недель стандартную пищу, которая на 60–65 % состояла из сухого корма (зерно, овсяные хлопья, хлеб, сухари) и на 35–40 % – из сочного корма (морковь, листья капусты, салата и т.п.); в сутки каждая крыса потребляла 20–25 г пищи. Стандартизация меню проводилась в соответствии с ГОСТ-Р 50258-92 [56]. Животные контрольных и опытных групп употребляли стандартную пищу, Животные были разделены на 6 групп (таблица 2.1):

Таблица 2. 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

1-я контрольная (К1) получала питьевую воду; 2-я контрольная (К2) и все 4 экспериментальные группы – 2,5 % раствор фруктозы в качестве питья. 1-я экспериментальная группа (Э1) дополнительно получала препарат «Фэнокор» с суммарным содержанием полифенолов  $181,53 \text{ г/дм}^3$ , в среднем 0,05 мл препарата на одну крысу вместе с 0,05 мл воды (что составляло в среднем 45 мг/кг массы тела), ежедневно перорально с помощью зонда на протяжении 12 недель.

Животные групп Э2, Э3 и Э4 получали разведения ПППВ из винограда «Каберне-Совиньон» в дозе из расчета 300 мл ПППВ на 70 кг массы тела (по 0,7 мл на животное), ежедневно перорально с помощью зонда начиная с 4-й недели эксперимента. 2-я экспериментальная (Э2) получала ПППВ с суммарным содержанием полифенолов 0,5 г/дм<sup>3</sup> (что составляло в среднем 1,75 мг/кг массы тела); 3-я экспериментальная (Э3) – ПППВ с суммарным содержанием полифенолов 1 г/дм<sup>3</sup> (что составляло в среднем 3,5 мг/кг массы тела) и 4-я экспериментальная (Э4) – ПППВ с суммарным содержанием полифенолов 2.5 г/дм<sup>3</sup> (что составляло в среднем 8,75 мг/кг массы тела).

### **2.1.2 Исследование патогенетической коррекции проявлений метаболического синдрома с использованием полифенольных продуктов переработки винограда в эксперименте**

У контрольных и опытных групп животных определяли в динамике (раз в две недели) массу тела и окружность живота на уровне середины туловища для оценки степени абдоминального ожирения и сравнения с контрольной группой. Взятие крови для подтверждения МС осуществляли через 12 недель от начала эксперимента (в эти строки осуществляли эвтаназию). Эвтаназия животных проводилась путем декапитации под эфирным наркозом. После эвтаназии проводили исследование состояния процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантов, морфологические исследования висцеральной жировой ткани, тканей миокарда и печени.

### **2.1.3 Клиническое исследования использования полифенольных продуктов переработки винограда в комплексе санаторно-курортного лечения больных**

Для исследований 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. Была отобрана группа с гемодинамическими нарушениями (ИБС и ГБ), подтвержденными ранее в лечебных учреждениях. Структура группы пациентов с ИБС: 34 (44,7 %) мужчин и 42 (55,3 %) женщины, медиана возраста пациентов составила 61,0 год [46,0; 77,0]. Структура группы пациентов с ГБ: 105 (73,4 %) мужчины и 38 (26,6%) женщин, медиана возраста пациентов составила 57,5 года [37,0; 75,0].

Исследования проводили на основании разработанной и утвержденной «Программы и алгоритма проведения клинических исследований по изучению влияния суммарного комплекса полифенолов, входящих в состав продуктов переработки красного винограда, на функциональное состояние кардиореспираторной системы при санаторно-курортном лечении больных ишемической болезнью сердца (ИБС) и гипертонической болезнью (ГБ)». Все больные получали идентичный комплекс базового санаторно-курортного лечения и все необходимые лекарственные препараты, в соответствии с утвержденными протоколами базисной терапии на этапе санаторно-курортного лечения. Протокол исследования был одобрен локальным этическим комитетом ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского» (протокол № 11 от 19.05.2016 г.). Критериями включения пациентов в исследование были : 1) возраст от 30 до 80 лет; 2) документированная ишемическая болезнь сердца или гипертоническая болезнь; 3) установленный анамнез заболевания : предпочтение от 2 до 15 лет; 4) для больных с ИБС (стенокардией) наличие стабильной стенокардии напряжения не более III ФК: верификация по данным тредмил-теста, согласно рекомендациям Канадской ассоциации кардиологов, ХСН не более IIА ст. по Василенко–Стражеско, ФК ХСН от I до III.5), подписанное информированное согласие на участие в исследовании. Критериями, исключающими участие в исследовании, были:

сахарный диабет, системные заболевания соединительной ткани, наличие воспалительных заболеваний органов и тканей, инфекций, травм, хирургических вмешательств (перенесли в ближайшие 3 месяца), острой сердечно-сосудистой патологии (острый инфаркт миокарда, острое нарушение мозгового кровообращения), хронических заболеваний на стадии декомпенсации, злоупотребление алкоголем.

Структура группы пациентов с ИБС: 34 (44,7 %) мужчин и 42 (55,3 %) женщины, медиана возраста пациентов составила 61,0 год [46,0; 77,0]. На санаторно-курортном этапе диагноз ИБС подтверждали на основании анамнестических данных, клинической картины, лабораторных данных (холестерин общий (ХС), липопротеины низкой плотности) и инструментальных исследований (ЭКГ, тредмил-тест) с указанием I–IV функциональных классов (ФК) по классификации Канадской ассоциации кардиологов. Длительность течения ишемической болезни сердца у исследуемого контингента колебалась в пределах от 2 до 12 лет, медиана длительности ИБС к моменту поступления пациентов в санаторий составила 5,0 лет. У 47-ми пациентов с ИБС была выявлена стабильная стенокардия, без инфаркта миокарда в анамнезе; средний ФК стенокардии составил  $1,98 \pm 0,6$ . Среди пациентов с ИБС 24 человека имели ГБ в качестве сопутствующего заболевания.

Структура группы пациентов с ГБ: 105 (73,4 %) мужчины и 38 (26,6 %) женщин, медиана возраста пациентов составила 57,5 года [37,0; 75,0]. На санаторно-курортном этапе диагноз ГБ подтверждали на основании анамнестических данных, клинической картины, наличия поражений органов-мишеней и данных мониторинга артериального давления. Среди пациентов с ГБ 23 человека имели ИБС в качестве сопутствующего заболевания. Стаж заболевания по группе больных с ГБ составил в среднем  $7,2 \pm 1,6$  года. В группу исследования вошли пациенты с артериальной гипертензией 1–2-й степени. САД составило  $156,5 \pm 16$  мм рт. ст., ДАД –  $94,5 \pm 9$  мм рт. ст.



Клиническая характеристика и анализ анамнестических данных больных, составивших группы исследования, представлены в таблицах 2. 2 и 2.3.

Таблица 2. 2 – Клинические характеристики больных групп исследования

Параметры	Группа больных ИБС	Группа больных ГБ
Стабильная стенокардия	47	
Функциональный класс		
I	9	
II	30	
III	8	
Постинфарктный кардиосклероз (перенесенный острый инфаркт миокарда в анамнезе)	29	
Степень АГ		
I		50
II		93
Стадия АГ		
I		66
II		61
III		16
Риск ССО		
Средний		38
Высокий		59
Очень высокий		46
Недостаточность кровообращения		

Продолжение таблицы 2.2		
I	34	65
IIa	42	39
Функциональный класс		
I	34	65
II	29	29
III	13	10
Осложнения, фоновые и сопутствующие заболевания:		
ГБ	24	18
ИБС. Стенокардия		5
ИБС. Постинфарктный кардиосклероз	5	3
Постоянная форма мерцательной аритмии	23	26
Ожирение 1-2 ст.	12	10
Атеросклероз сосудов нижних конечностей, перемежающаяся хромота	5	2
Последствия перенесенного инфаркта головного мозга (перенесенный инфаркт головного мозга в анамнезе)	4	5
ХОБЛ: хронический обструктивный бронхит, ремиссия	11	8
ХОБЛ: хронический обструктивный бронхит, ремиссия	8	10
ЖКБ: хронический калькулезный холецистит	6	8
Доброкачественная гиперплазия предстательной железы		
Тревожное расстройство		

Таблица 2. 3 – Данные анамнеза пациентов групп исследования

Данные анамнеза	Группа больных ИБС	Группа больных ГБ
Курение в анамнезе в течение более 15 лет	42	58
Количество выкуриваемых сигарет/день (шт.)	19,0	13,8
Употребление спиртных напитков от 1 до 4-х раз/мес	38	50
Количество спиртных напитков/день (в пересчете на содержание 40 % алкоголя, мл)	36,4	34,2

В группы сравнения вошли 40 человек, из них больные ИБС (n=20) и ГБ (n=20), сопоставимых по возрасту и полу, без нарушений углеводного обмена, которые получали только базовое санаторно-курортное лечение без использования полифенолов в виде продуктов переработки красного винограда. Исходно основные группы и группы сравнения больных с одинаковой патологией существенно не отличались между собой по значимым параметрам в начале курса лечения ( $p < 0,05$ ).

Все больные получали идентичный комплекс базового санаторно-курортного лечения, которое состояло в полноценном применении всех имеющихся в санатории и индивидуально показанных конкретному пациенту немедикаментозных методов лечения – климатотерапия, ЛФК, массаж, бальнеотерапия и аппаратная физиотерапия и т.д. (таблица 2. 4).

Также пациенты получали все необходимые лекарственные препараты, в т.ч. противотромботические, гипотензивные препараты, нитраты, бета-адреноблокаторы, ингибиторы АПФ, антагонисты кальция, липотропные и другие средства, в соответствии с утвержденными протоколами базисной терапии на этапе санаторно-курортного лечения.

Таблица 2. 4 – Анализ комплекса, полученного базового санаторно-курортного лечения пациентов групп исследования

Полученное базовое санаторно-курортное лечение, количество процедур (М)	Группа больных ИБС	Группа больных ГБ
Воздушные ванны	12,8	14,4
Солнечные ванны	9,5	8,8
Морские купания	8,3	10,7
ЛФК	12,5	11,8
Массаж	9,6	9,4
Ингаляции и аэротерапия	2,1	0,8
Ванны	4,7	3,2
Лазеротерапия	2,8	0
Электрофорез, гальванизация	0,6	0,1
Ароматерапия и фитотерапия	10,2	12,3
Другие методы лечения	3,3	0,4

Больным исследуемых групп в комплексную терапию дополнительно включали прием полифенолов в виде продуктов переработки красного винограда с расчетом 10 мг суммарных полифенолов на 1 кг массы тела (таблица 2.5). Назначение полифенолов больным в основных группах осуществлялось строго индивидуально, как по показаниям, так и по дозам. Для выбора типа используемых продуктов переработки красного винограда больные заполняли 2 предложенные анкеты-опросника и, в зависимости от результатов ответов на вопросы теста на приверженность, было выполнено распределение на подгруппы и рекомендовано использование экстракта полифенолов или вина столового красного «Здоровье».

Таблица 2. 5 – Группы больных с ИБС и ГБ для оценки влияния суммарного комплекса полифенолов, входящих в состав продуктов переработки красного винограда, на функциональное состояние кардио-респираторной системы при санаторно-курортном лечении

Группы больных с применением продуктов переработки винограда	Нозологические формы	
	ИБС	ГБ
Контроль	20	20
Винные напитки	39	72
Экспериментальный образец экстракта полифенолов винограда	37	71
Всего:	96	163

В качестве препаратов выбора ампело- и энотерапии методикой было предусмотрено использование следующих продуктов:

- «Вино столовое красное «Здоровье». СТО 00831617-002-2015.ТУ «Напиток винный «Здоровье» ТИ 9171-003-00831617-2015» (ВСК) с содержанием суммарных полифенолов не менее 2,5 мг/мл в дозе 3,6 мл/кг в сутки, разделенной на два приема (обед/ужин) в течение 2 недель;

или

- «Экстракт полифенолов винограда. СТО 00831617-001-2015.ТУ» (ЭПВ) с содержанием суммарных полифенолов не менее 20 мг/мл, который применяли в дозе 0,45 мл/кг в сутки, разделенной на два приема (обед/ужин) в течение 2 недель.

Обследование больных с ИБС и ГБ проводили в начале и в конце срока лечения в соответствии со стандартной схемой. Исследование функционального состояния сердечно-сосудистой и дыхательной систем проводилось на диагностическом комплексе ДХ-НТ Поли-СПЕКТР+ (ООО "Спектрмед-

Украина", Харьков) с блоком снятия электрокардиографических, спирографических, реографических, электроэнцефалографических сигналов. Состояние больных оценивали с учетом определения следующих параметров:

- оценка жалоб и объективного состояния пациентов с анализом динамики АД, ЧСС, динамометрии кисти левой и правой руки, проба Генча (осуществлялись в соответствии со стандартными методиками). Клинические параметры включали балльную оценку следующих показателей : самочувствие (плохое – 1, удовлетворительное – 2, хорошее – 3, очень хорошее – 4); степень выраженности жалоб : нет – 0, слабо – 1, умеренно – 2, сильно – 3, резко – 4; подсчет общего количества всех жалоб и сумма баллов всех жалоб.

- Артериальное давление, как САД, так и ДАД измеряли по методу Н. С. Короткова в положении больного сидя после 10–15 минут отдыха, используя сфигмоманометр.

- оценка ЭКГ и ее динамики. Регистрацию ЭКГ проводили по стандартной схеме двенадцати отведений. ЭКГ снималась в положении лежа, амплитуда калибровочного сигнала составляла 10 мм, скорость движения ленты – 25 мм/с.

- функциональные нагрузочные тесты. Тест на определение работоспособности PWC170 проводился по методике В. Н. Литвинова и соавт. [71]: испытуемому предлагается пройти расстояние 600 м за как можно более короткий промежуток времени (не бегом). Значения PWC170 вычисляются по формуле:  $PWC170 \text{ (кгм/мин)} = A + K/t$ ,

где  $t$  – время прохождения дистанции,  $A$  и  $K$  – расчетные коэффициенты ( $A = -9,56$ ;  $K = 3516,54$ ).

По результатам теста к группе работоспособных относятся мужчины с результатом теста 900 кгм/мин и выше, а женщин с показаниями 750 кгм/мин и выше.

К группе с умеренным ограничением работоспособности относятся мужчины с результатом теста 600-899 кгм/мин и женщины с показанием теста 515 – 749 кгм/мин.

К группе со значительным ограничением работоспособности относятся мужчины с результатом теста 306-599 кгм/мин и женщины с показаниями 306-514 кгм/мин.

- исследования гемодинамической функции сердца проводили с определением следующих показателей: ударный объем крови (УОК), частота сердечных сокращений (ЧСС), минутный объем крови (МОК), общее периферическое сосудистое сопротивление (ОПСС), которые определяли методом тетраполярной реографии.

- оценка функции внешнего дыхания включала измерение следующих параметров: частота дыхания (ЧДД), дыхательный объем (ДО), минутный объем дыхания (МОД), форсированная жизненная емкость легких (ФЖЕЛ), жизненная емкость легких (ЖЕЛ), максимальная объемная скорость выдоха на уровне 25 %, 50 % и 75 % форсированной жизненной емкости легких (МОС25%, МОС50%, МОС75%). Клинически оценивали: характер дыхания (везикулярное – 0, усиленное – 1, жесткое – 2, амфорическое – 3); перкуторный звук над областью легких (тупой -2; укороченный -1; легочный – 0; тимпанический +1; коробочный +2); хрипы в легких (нет 0, сухие 1, свистящие 2, крепитирующие 3, влажные 4).

- лабораторные исследования крови включали изучение следующих параметров:

Общий анализ крови проводили с использованием гематологического анализатора «Micros-60» (Horiba ABX, Франция) с определением содержания эритроцитов, лейкоцитов и гемоглобина, СОЭ и цветового показателя). Проводили подсчет базофилов, эозинофилов, палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, моноцитов и лимфоцитов в мазках крови, окрашенных по Романовскому. Тип неспецифической адаптационной реакции организма определялся по соотношению лимфоцитов к сегментоядерным нейтрофилам в соответствии с критерием определения неспецифических адаптационных реакций по лейкоцитарной формуле у человека. При стресс-реакции – не более 0,3; реакции тренировки от 0,31 до 0,5; реакции спокойной

активации от 0,51 до 0,7; реакции повышенной активации от 0,71 до 0,9; реакции переактивации – более 0,9.

Уровень глюкозы в крови определяли с использованием глюкометра.

Биохимический анализ крови включал определение С-реактивного белка иммунотурбидиметрическим методом, липидограммы с определением липидов, холестерина общего, холестерина в  $\alpha$ -липопротеидах, расчета коэффициента атерогенности по формуле ХС-ЛПВП/ЛПВП, фибриногена и общего билирубина.

Исследование процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантов включало определение диеновых конъюгатов (ДК), ТБК-активных продуктов (ТБК-АП), каталазы и церулоплазмينا.

Определение антиокислительного потенциала включало исследование каталазоподобной (КПА) активности на основе регистрации остаточного количества перекиси водорода после ее инкубации с биологическим материалом при рН 7,4 и 25°C путем определения образования окрашенного комплекса с солями молибдена. Уровень церулоплазмينا исследовали модифицированным методом Ревина (подробнее изложено в разделе 2.2.2).

Для проведения лабораторных исследований у пациентов в начале и в конце курса осуществляли взятие крови; утром, натощак, из локтевой вены, не ранее, чем через 12 часов после последнего приема пищи. После взятия крови выделяли сыворотку, которую отбирали в отдельную пробирку (маркировали с указанием ФИО пациента и даты) в количестве не менее 2 мл и замораживали при температуре -10–15 °С.

В дополнение к значениям исследованных параметров в начале и конце курса лечения, рассчитывали показатели их динамики по следующей формуле: Динамика параметра = (Значение параметра в начале курса лечения) – (Значение параметра в конце курса лечения). При выписке осуществляли общую оценку эффективности санаторно-курортного лечения с применением критериев: значительное улучшение, улучшение, без улучшения и ухудшение; в заключение проводили короткий тест при выписке с анализом наличия или отсутствия у



пациента феномена уменьшения желания употреблять крепкие алкогольные напитки.

Для оценки степени психоэмоционального напряжения нами применялся опросник “Ваше самочувствие”, включающий в себя серию тестов экспресс-диагностики MONICA Psychosocial Optional Study [211].

#### **2.1.4 Исследование полиморфных маркеров генов лептина, *ADIPOQ*, *ADIPOR1* и *ADIPOR2* в Республике Крым**

Было проведено непрерывное одноцентровое поисковое исследование случай-контроль, выполненное одновременно на образцах пациентов с СД2 и здоровых жителей Республики Крым. Исследовались следующие полиморфные маркеры: *LEP* G (-2548) A (rs7799039); *ADIPOQ* G (276) T (rs1501299) и +45 T/G (rs2241766); *ADIPOR1* 102 T/G (rs2275737) и (-106 T/Crs 2275738); *ADIPOR2* +219 A/T(rs11061971) и +795 G/A(rs16928751). Выбор данных вариантов полиморфизмов был обусловлен данными различных метаанализов, указывающими на связь полиморфизмов с ключевыми симптомами и последствиями СД2 и МС. Так, известно, что следующие полиморфизмы в гене *ADIPOQ* в значительной степени связаны с патогенезом диабета – rs2241766, rs1501299, rs266729, rs17366743, rs17300539, rs182052, rs822396, rs17846866, rs3774261 и rs822393[166]. Также определена ассоциация полиморфизмов C 45T> G +276G> T (rs1501299) в гене *ADIPOQ* с риском ожирения в европейской этнической группе [252], тогда как полиморфизм *ADIPOQ* rs2241766 (+45T> G), генотип GG коррелирует с прогрессированием диабетической нефропатии в азиатской популяции [169]. Случаи СД2 были более частыми среди гомозигот *ADIPOR1* CC rs2275737 [424], что, по данным ряда исследований [199,201,382], способствует развитию ожирения, как ключевого механизма МС, в различных этнических группах. В литературе также показано, что для полиморфного маркера rs11061971 гена *ADIPOR2* имеется зависимость с риском развития СД 2

типа в русской популяции [4]. В исследовании EPIC-Heidelberg было обнаружено, что генотип лептина AA (G (-2548) A, rs7799039) ассоциирован с развитием ожирения [259].

В исследование было включено 100 пациентов с установленным диагнозом СД 2 типа и 100 условно здоровых субъектов, соответствовавших критериям включения.

*Критерии включения пациентов:*

- Мужчина или женщина в возрасте  $\geq 52,0$  лет и  $\leq 70,0$  лет;
- Пациенты с подтвержденным диагнозом СД2 (целевой уровень HbA1c  $< 7,0\%$ , целевой уровень глюкозы в плазме крови натощак  $< 7,0$  ммоль/л, (через 2 часа после еды  $< 9,0$  ммоль/л) и скоростью клубочковой фильтрации в соответствии с Сотрудничеством по эпидемиологии хронических заболеваний почек (СКД–ЕП)  $80$  мл/мин/ $1,73$  м<sup>2</sup>) и наличием МС;
- ИМТ более  $30$  кг/м<sup>2</sup>
- Готовность добровольно участвовать в исследовании и подписать форму информированного согласия.

*Критерии исключения пациентов:*

- Мужчина или женщина в возрасте  $\leq 52,0$  лет и  $\geq 70,0$  лет;
- Нестабильный СД2 (целевой уровень HbA1c  $> 7,0\%$ , целевой уровень глюкозы в плазме крови натощак  $> 7,0$  ммоль/л, (через 2 часа после еды  $> 9,0$  ммоль/л) и скорость клубочковой фильтрации в соответствии с Сотрудничеством по эпидемиологии хронических заболеваний почек (СКД–ЕП)  $< 80$  мл/мин/ $1,73$  м<sup>2</sup>);
- Хроническое заболевание почек, сердечная недостаточность, дисфункция печени и злокачественная опухоль;
- Неспособность или нежелание участвовать в исследовании или подписывать форму информированного согласия.

*Критерии включения для субъектов контроля:*

- Здоровые мужчины или женщины в возрасте  $\geq 52,0$  лет и  $\leq 70,0$  лет;
- Лица с ИМТ менее  $30$  кг/м<sup>2</sup>;

- Готовность добровольно участвовать в исследовании и подписать форму информированного согласия.

Диагноз МС верифицировали при наличии не менее трех компонентов : 1-го основного – абдоминальное ожирение и 2-х дополнительных, согласно критериям IDF, 2005 [39] : увеличение уровня ТГ больше 1,7 ммоль/л или проведение ТГ - снижающей терапии; уровень ЛПВП меньше 1,03 ммоль/л для мужчин и меньше 1,29 ммоль/л для женщин или проведение специфической терапии; гипергликемия натощак – больше 5,6 ммоль/л или ранее установленный диагноз СД 2 типа; АГ (САД > 130 мм рт. ст. или ДАД > 85 мм рт. ст.) или гипотензивная терапия. Для верификации избыточной массы тела использовали пороговые величины ИМТ  $\geq 25,0$  кг/м<sup>2</sup> и ожирения  $\geq 30$  кг/м<sup>2</sup>. Исследование проводилось в соответствии с руководящими принципами Хельсинкской декларации 1975 г. (пересмотрено в 2013 г.) и одобрено Комитетом по этике Крымского федерального университета им. В. И. Вернадского (Протокол № 8 от 17 января 2018 г.). Информированное согласие было получено от всех участников исследования.

## **2.2 Методы исследования**

### **2.2.1 Методики биологического тестирования *in vitro* антиоксидантной активности полифенольных продуктов переработки винограда**

При проведении исследований использовали концентраты полифенолов из винограда сортов "Каберне-Совиньон", "Саперави", "Мерло", произведенные в Крыму и на Кубани, полученные от производителей, урожая 2014 г. Хранили концентраты при температуре, не превышающей плюс 16 °С, и относительной влажности 65–80 %, пищевые концентраты полифенолов винограда – при температуре плюс 5– плюс 20 °С и относительной влажности воздуха 65–80 %.

Качественный и количественный состав полифенолов определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием хроматографической системы "Agilent Technologies 1100" ("Agilent", США) с

диодно-матричным детектором. Для разделения веществ использовали хроматографическую колонку Zorbax SB-C18 размером 2,1×150 мм, заполненную силикагелем с привитой октадецилсилильной фазой с размером частиц сорбента 3,5 мкм. Анализ проводили в градиентном режиме.

Состав элюента: раствор А – метанол, раствор В – 0,6 % водный раствор трифторуксусной кислоты.

Состав элюента в ходе анализа изменялся по следующей схеме (по содержанию компонента В): 0 мин – 8 %; 0–8 мин – 8–38 %; 8–24 мин – 38–100%; 24–30 мин – 100 %; скорость потока элюента – 0,25 мл/мин. Объем вводимой пробы – 1 мкл. Хроматограммы регистрировали при следующих длинах волн: 280 нм для галловой кислоты, (+)-D-катехина, (-)-эпикатехина и процианидинов, 313 нм для производных оксикоричных кислот, 371 нм для кверцетина и 525 нм для антоцианов. Идентификацию веществ производили путем сравнения их спектральных характеристик времени удерживания с аналогичными характеристиками стандартов. Спектральные характеристики отдельных веществ получали с использованием данных литературы [247, 321].

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.

В качестве стандартов использовали галловую кислоту, кофейную кислоту, (+)-D-катехин, хлорид мальвидин-3-О-глюкозида, кверцетин дигидрат, изокверцитрин ("Fluka Chemie AG", Швейцария) и (-)-эпикатехин, сиреневую кислоту ("SigmaAldrich", Швейцария).

Массовую концентрацию фенольных веществ определяли колориметрическим методом, основанным на том, что реактив Фолина-Чокальтеу при добавлении в исследуемый продукт окисляет фенольные группы,

восстанавливаясь при этом в соединение голубого цвета. Интенсивность окраски пропорциональна концентрации фенольных веществ.

Исследуемый концентрат полифенолов винограда разбавляли в 100 раз. В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> помещали 1 см<sup>3</sup> исследуемого раствора, добавляли 1 см<sup>3</sup> реактива Фолина-Чокальтеу, 10 см<sup>3</sup> раствора карбоната натрия. Доводили дистиллированной водой до метки при температуре плюс 20±0,5 °С и перемешивали. Через 40 мин измеряли оптическую плотность растворов в кювете 10 мм при длине волны 670 нм против контрольного раствора на колориметре фотоэлектрическом "КФК-2" (ЗОМЗ, РФ). Значение массовой концентрации фенольных веществ в мг/дм<sup>3</sup> по галловой кислоте определяли по градуировочной кривой [113].

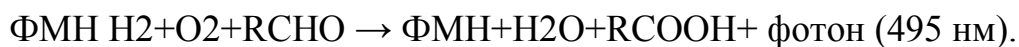
За окончательный результат принимали среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, допускаемое расхождение между которыми не превышало (для диапазона измерений 3000–20000 мг/дм<sup>3</sup>) 33 мг/дм<sup>3</sup>. Предел погрешности при доверительной вероятности  $p=0,95$  для диапазона измерения 3000–20000 мг/дм<sup>3</sup> составлял ±39 мг/дм<sup>3</sup>. Определения проводили в трех повторностях.

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 [35].

Антиоксидантную активность образцов исследовали также на биологической модели люминесцентных бактерий, которые представляют собой разнородную группу микроорганизмов, объединенных по способности излучать видимый свет. Большинство представителей этой группы являются морскими бактериями, которые обитают практически во всех акваториях мирового океана.

Бактериальная биолюминесценция представляет собой ферментативный процесс, сопровождающийся потреблением кислорода и выделением света. В общем виде химизм реакции генерации свечения может быть представлен как

окисление восстановленного флавиномононуклеотида (ФМН Н<sub>2</sub>) до ФМН с одновременным окислением длинноцепочечного алифатического альдегида (RCHO) до соответствующей жирной кислоты (RCOOH):



Традиционно светящиеся морские бактерии широко используются для биотестирования, в частности, для оценки биотоксичности. Принцип биолюминесцентных тестов заключается в инкубировании люминесцирующих бактерий в анализируемых средах, содержащих вещество или смеси веществ, способных оказать влияние на физиологическое состояние бактериальных клеток. Соответственно, возможными реакциями являются отсутствие изменения уровня свечения, его повышение или снижение, в последнем случае обычно интерпретируемое как развитие токсического эффекта. При этом в случае исследования образцов неизвестного состава, регистрируемый отклик неспецифичен, так как отражает реакцию на всю совокупность присутствующих в пробе химических веществ [38, 102, 388, 392].

В данной работе люминесцентные бактерии были использованы для биотестирования антиоксидантных свойств виноматериалов. При этом биолюминесцентная реакция бактерий с участием фермента люциферазы рассматривалась как модельная окислительная система и ее ингибирование как результат антиокислительного действия [51, 205]. Учитывая, что бактерии реагируют изменением свечения на самые различные факторы, в том числе биоцидные, одновременно с антиоксидантной активностью тест показывал и наличие антибактериальных свойств виноматериалов, что можно считать дополнительным преимуществом такого подхода. Для проведения биолюминесцентного анализа антиоксидантной активности использовали светящиеся бактерии *Photobacterium leiognathi* Sh1 из коллекции Медицинской академии Крымского федерального университета [52]. Биотестирование проводили по методикам оценки острого и хронического действий образцов на биолюминесценцию тест-бактерий (Рисунок 2.1А, Б).



Рисунок 2. 1 – Методики биологического тестирования острого (А) и хронического (Б) действия с использованием светящихся бактерий

Подготовку бактериальных культур для биотестирования антиоксидантной активности проводили, как описано ранее [52]. Для определения острого действия образцов (см. Рисунок 2. 1А) в кюветах люминометра смешивали 0,8–0,9 мл тестируемого виноматериала в 3 % NaCl, 100 мкл фосфатного буферного раствора, рН 7,0 и 50-200 мкл бактериальной суспензии до конечной концентрации  $5 \times 10^5$  кл/мл. Изменение интенсивности биоломинесценции регистрировали в течение 30 мин с использованием билюминометра "БЛМ 8801" (СКТБ "Наука", РФ) с самописцем. Интенсивность действия выражали в виде значений биоломинесценции при определенной концентрации образцов (мг/мл, для растворов индивидуальных веществ) или их разведения (V/V, для растворов неизвестного состава).

На первом этапе для испытания люминесцентных бактерий в качестве модели для изучения антиоксидантной активности изучали воздействие двух модельных антиоксидантов: галловой кислоты (нефлавоноидное фенольное соединение) и кверцетина (флавоноид) на интенсивность бактериальной люминесценции. В качестве водорастворимой формы кверцетина использовали фармацевтический

препарат корвитин (ПАО НПЦ "Борщаговский ХФЗ", Украина), представляющий собой комплекс кверцетина с поливинилпирролидоном.

Хроническое действие определяли, как влияние тестируемого объекта на рост и биолюминесценцию *P. leiognathi* Sh1. Для этого после измерения острого воздействия в пробы дополнительно вносили 20-50 мкл стерильной питательной среды для светящихся бактерий ("Himedia", Индия, с добавлением NaCl до конечной концентрации 3 %) и помещали их в термостат при температуре 30 °С. После инкубации в течение 18 ч измеряли интенсивность биолюминесценции, как описано выше (см. Рисунок 2. 1Б).

### **2.2.2 Методики определения состояния процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантов**

Известным является факт изменения профиля матричных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов в развитии и прогрессировании атеросклероза, АГ, сахарного диабета, ожирения, МС и ССЗ [274]. Нами, в качестве диагностической стратегии, было выбрано определение неспецифических протеиназ – трипсино-(ТПА) и эластазоподобной активности (ЭПА), активности  $\alpha$ -1-антитрипсина (АТА) и их тканевых ингибиторов – кислотостабильных ингибиторов (КСИ) энзиматическими методами в крови крыс [69].

В качестве дополнительных маркеров повреждения при экспериментальном МС выступали продукты перекисного окисления липидов и антиоксиданты. Изучение антиоксидантного гомеостаза включало оценку церулоплазмينا (ЦП) – основного сывороточного антиоксиданта [22], супероксиддисмутазы (СОД) – внутриклеточного фермента [134], а также определение каталазоподобной (КПА) и пероксидазной (ПА) активности.

#### ***Определение продуктов перекисного окисления липидов и антиоксидантов***

Компоненты системы свободно-радикального окисления липидов и антиоксидантов определяли комплексом методов, позволяющих оценить



основные звенья этого процесса. Первичные продукты ПОЛ исследовали путем экстракции смесью гептан-изопропанол [332]. Для экстракции брали 0,4 мл сыворотки. После энергичного встряхивания смесь расслаивали добавлением 0,02 н HCl и в гептановом слое измеряли оптическую плотность. При длине 232 нм определяли уровень ДК, а при 273 нм уровень диенкетонов. Результаты выражали в единицах оптической плотности (Е) на 1 мл или 1 мг липидов. Липиды определяли фосфорно-ванилиновым методом.

Уровень ТБК-АП оценивали по цветной реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК) в присутствии ионов  $Fe^{3+}$  [75]. В пробирку с 0,05 мл сыворотки крови и 0,5-1,0 мл БАС добавляли 0,2 мл 0,27 % раствора  $FeCl_3$  и через 10 минут доводили до 1,8 мл 0,2 М глициновым буфером (рН 3,6). После добавления 1,55 мл 0,8 % раствора ТБК смесь кипятили на водяной бане 15 мин, охлаждали, добавляли 1 мл 20 % ТХУ, 2 мл хлороформа, тщательно встряхивали и центрифугировали 15 мин при 3000 об/мин. Верхний слой колориметрировали при 532 нм и выражали результаты в нМолях МДА, содержащегося в 1 мл или 1 мг липидов сыворотки.

ЦП определяли модифицированным методом Ревина, основанном на окислении р-фенилендиамина при участии церулоплазмينا с остановкой реакции раствором фтористого натрия и измерением оптической плотности при 540 нм [133]. Результаты выражали в мг на литр биологического материала.

СОД определяли в модельной системе образования супероксидных анионов при взаимодействии НАДН и феназинметасульфата (ФМС). Способность СОД конкурировать за супероксидные анионы выявлялась по степени ингибирования восстановления НСТ до гидразинтетразолия. Для определения 0,04-0,06 мл супернатанта гемолизата или другого экспериментального материала, предварительно очищенного от мешающих определению компонентов смесью этанол-хлороформ, смешивали с 2 мл 0,01 % раствора НСТ, 0,1 мл 0,07 % раствора ФМС и 0,15 М фосфатным буфером (рН 7,8) до объема 3,85 мл. Реакция запускалась добавлением 0,15 мл 0,25 % раствора НАДН и пробы инкубировались при плюс 25 °С в течение 10 мин. Величину оптической плотности измеряли при 540 нм.

Результаты выражали в условных единицах, принимая 50 % ингибирование восстановления НСТ за 1 условную единицу.

Принцип определения КПА основан на инкубации биологического материала с перекисью водорода и последующей регистрацией остаточного количества перекиси водорода после реакции образования окрашенного комплекса с солями молибдена. 0,1 мл биологического материала доводили 0,05 м Трис- HCl буфером (рН 7,4) до 1,0 мл, прибавляли 2 мл 0,03 %  $H_2O_2$  и инкубировали в ТПС при 25 °С в течении 10 – 20 мин. После инкубации вносили 2 мл 4 % раствора аммония. В контрольную пробу биологический материал добавляли после инкубации, непосредственно перед добавлением молибдата аммония. Интенсивность жёлтой окраски измеряли на спектрофотометре при 410 нм против контроля на реактивы (трис-буфер +  $H_2O_2$  + молибдат). Результаты выражали в мМ на 1 г Нв.

Принцип определения ПА основан на измерении убыли оптической плотности раствора индиготетрасульфоната калия (ИТСК) в процессе его окисления в присутствии перекиси водорода и пероксидазы. Готовили холостую проба, которая содержит 1,0 мл буфера + 1,0 ИТСК + 0,5 мл  $H_2O$  и 0,5 мл гемолизата + 3 мл  $H_2SO_4$ . Экстинкция холостой пробы должна быть на спектрофотометре при 596 нм больше 0,400, а на фотоэлектроколориметре при желтом светофильтре (№ 7) больше 0,350.

В пробирки, находящиеся в термостате при плюс 25 °С, наливали все исходные реактивы. В опытную и контрольную пробирку наливали по 1,0 мл буфера + 1,0 мл ИТСК и в опытные по 0,5 мл образца гемолизата. Через 15 мин в первую пробирку вносили 0,5 мл  $H_2O_2$ , одновременно включали секундомер и хорошо перемешивали содержимое пробирки. В остальные опытные и контрольную пробирки перекись водорода добавляли с интервалом в 20 сек. После 2 мин инкубации реакцию останавливали добавлением 3 мл  $H_2SO_4$  в той же последовательности, сразу вынимая пробирки из термостата. В контрольную пробирку непосредственно перед помещением раствора в кювету спектрофотометра или фотоэлектроколориметра добавляли 0,5 мл гемолизата. Измерения проводили в течение 30 мин после окончания реакции. Опытные,

контрольную и холостую пробы колориметрировали в кювете 1 см при желтом светофилтре (№ 7) на ФЭК-56М или при 596 нм на СФ-16 против дистиллированной воды. Результаты выражали в мМ на 1 г Нб.

***Определение неспецифических протеиназ и их ингибиторов в сыворотке крови***

ТПА сыворотки крови измеряли спектрофотометрическим методом, основанным на измерении скорости отщепления р-нитроанилина (р-НА) от синтетического субстрата N-бензоил-L-аргинина-р-нитроанилина (БАПНА) [398]. Для его осуществления брали 0,25 мл сыворотки крови. Объем доводили до 0,5 мл 0,05 М фосфатным буфером (рН-7,8) и после преинкубации в течение 5 мин добавляли 2 мл раствора БАПНА в концентрации 0,4 г/л. Пробы инкубировали при 37 °С в течение 30 мин. Реакцию останавливали добавлением 0,5 мл 0,5 н раствора НСL. Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре при длине волны 410 нм против контрольной пробы. Расчет проводили, исходя из прироста оптической плотности в пробе за одну мин и выражали в мкМолях р-НА, освобожденного 1 мл сыворотки за одну мин.

Измерение ЭПА сыворотки осуществляли по гидролизу синтетического субстрата N-т-бок-аланил-п-нитрофенилового эфира (БАНФЭ) (Reanal) [42]. Для этого в термостатированной кювете спектрофотометра (плюс 25 °С) смешивали 0,01 мл сыворотки с 0,05 Na-фосфатным буфером (рН -6,5) до конечного объема пробы 2,9 мл. Через 15 мин к пробе добавляли 0,1 мл 0,01 М раствора БАНФЭ в ацетонитриле. Прирост оптической плотности измеряли при 347,5 нм и результаты выражали в нМолях гидролизованного субстрата 1 мл за одну мин.

Определение АТА основано на торможении расщепления трипсином белковых и низкомолекулярных субстратов БАПНА, N- $\alpha$ -бензоил-L-аргинин-этилового эфира (БАЭЭ). Данные методики дают возможность судить о количестве  $\alpha$ 1-АТ, т. к. на долю этого ингибитора приходится до 90 % общей антитриптической активности сыворотки крови и антитриптическая активность  $\alpha$ 2-МГ при этом не измеряется. Принципиальный подход к определению  $\alpha$ 2-МГ

основан на том, что он образует с трипсином комплекс, способный расщеплять низкомолекулярные субстраты практически с той же скоростью, что и свободный трипсин, при чем эта энзиматическая активность не тормозится  $\alpha 1$ -АТ и ингибитором трипсинат из бобов сои (СИТ). В кюветах спектрофотометра готовили 2 пробы – опытную и контрольную. Опытная проба содержит 1,8 мл 0,05 М трис-НСl буфера, рН 8,0, 0,1 мл разведенной 1:50 сыворотки крови и 0,1 мл раствора трипсина (10 мкг). Контрольная проба содержит 1,9 мл трис-НСl буфера и 0,1 мл раствора трипсина (10 мкг). Обе пробы выдерживали в термостатированных кюветах спектрофотометра в течение 5 мин при плюс 25°С. Затем добавляли в каждую пробу по 1,0 мл раствора БАЭЭ, быстро перемешивали и измеряли прирост оптической плотности при 253 нм ( $\Delta E_{253}$ ) против пробы, содержащей только реактивы (2 мл трис-НСl буфера + 1,0 мл раствора БАЭЭ). Отсчеты делали каждую минуту в течение 5 мин. Активность  $\alpha 1$ -АТ и  $\alpha 2$ -МГ выражали числом условных ингибиторных единиц (ИЕ) в мл сыворотки крови, принимая за 1 ИЕ такое количество сыворотки (плазмы) крови, которая тормозит ( $\alpha 1$ -АТ) или связывает ( $\alpha 2$ -МГ) активность 1Е трипсина, т.е. расщепление 1мкмоль БАЭЭ за 1 мин.

Определение уровня КСИ производится по величине антитриптической активности 5 % ТХУ-экстракта биологической жидкости (БЖ). Для получения 5 % ТХУ-экстракта к 4 мл БЖ добавляют 0,45 мл 50 % ТХУ (конечная концентрация ТХУ в пробе – 5 %). БЖ перед добавлением ТХУ разводят в 2 раза изотоническим раствором NaCl. Пробу, содержащую 5 % ТХУ, выдерживают в течение 10 мин при плюс 5°С и гомогенизируют при 0°С. Гомогенат центрифугируют в течение 15 мин при 5000 об/мин. После нейтрализации полученного 5 % ТХУ-экстракта 0,5 М NaOH в нем определяют концентрацию белка, последнюю выражают в миллиграммах на 1 мл 5 % ТХУ-экстракта.

### 2.2.3 Определение экспрессии полиморфных маркеров генов лептина, *ADIPOQ*, *ADIPOR1* и *ADIPOR2* в крови

Геномную ДНК выделяли из цельной крови пациентов с использованием фенол-хлороформного метода, с оценкой чистоты выделенной ДНК по соотношению A260/A280. Определение однонуклеотидного полиморфизма исследуемых маркеров определяли методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР) на термоциклере Biorad CFX96 (США) с использованием наборов для ПЦР в реальном времени методом аллельной дискриминации с гидролизуемыми флуоресцентными зондами TaqMan. Условия ПЦР, последовательности праймеров, флуоресцентных зондов приведены в Таблица 2. 6.

Таблица 2. 6 – Последовательности праймеров и зондов [4, 258]

Маркер	Праймеры 5`-3`	Зонды 5`-3`	Температура отжига, °C
<i>LEP</i> -G(-2548)A (rs7799039)	cctgtaattttcccatgagaa c tgcaacatctcagcacttag	cgtgccccgacagggttgcgctgatcggcac g cgtgccccgacagggttgcactgatcggcac g	95
<i>ADIPOQ</i> G(276)T (rs1501299)	caggtaagaatggttctg agaggaatcagaatatgaa	atataaactatatgaaggcattcattattaacta a atataaactatatgaagtcattcattattaacta a	58
<i>ADIPOQ</i> +45 T/G (rs2241766)	ggagctggttctactgcta ctcctttctcacccttctc	ctctgccccgggcatgaccag ctctgccccgggcatgaccag	65

Генотипирование проводили методом ПЦР в реальном времени методом аллельной дискриминации с использованием гидролизуемых зондов TaqMan (Таблица 2.6). Гомозиготные варианты генотипа были установлены с воспроизводимой разницей в пороговых циклах в два или более (около 50 % всех образцов были исследованы два или более раз для достоверной идентификации результатов).

Исследование генотипа проводилось вслепую, без информации о фенотипических особенностях, в виде серии анонимных номеров исследований с последующим независимым анализом взаимосвязи между результатами генотипирования и особенностями клинической картины. Праймеры и флуоресцентные зонды синтезированы в компании "Синтол" (Россия).

В реакционной смеси 70 mM ТрисHCl, pH 8,8, 16,6 mM сульфат аммония, 250 Нм флуоресцентных зондов, 1,5 ед. TaqДНК-полимеразы, олигонуклеотидные праймеры (Синтол), 50–100 нг геномной ДНК. 40 циклов. Используемые в зондах флуоресцентные красители – FAM (карбоксихлорофлуоресцеин) и HEX (гексахлорофлуоресцеин), тушитель флуоресценции – BHQ-1.

**Расчет частот аллельных вариантов** проводился по методу Пирсона с вычислением величины  $\chi^2$  по формуле:

$$\chi^2 = \frac{(\text{Наблюдаемая частота} - \text{Ожидаемая частота})^2}{\text{Ожидаемая частота}}$$

---

**Ожидаемая частота**

**Ожидаемая частота встречаемости аллелей** рассчитывалась (на примере аллелей А и В), исходя из закона распределения Харди-Вайнберга по формулам:

$$\text{Ожидаемая частота аллели А} = (\text{Частота аллели А})^2$$

$$\text{Ожидаемая частота аллели В} = (\text{Частота аллели В})^2$$

Ожидаемая частота аллельного сочетания  $AB = 2 \times (\text{Частота аллели } A) \times (\text{Частота аллели } B)$ .

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).

#### **2.2.4 Иммуноферментный анализ воспалительных и метаболических маркеров**

Определение концентрации свободных TLR 4, GLUT 4, PPAR $\gamma$ , а также содержание СРБ в плазме крови выполнялось с помощью тест-системы «CUSABIO BIOTECH Co., Ltd» (США) в соответствии с инструкциями производителя. Концентрации GLUT 4, TLR4, PPAR $\gamma$  определялись в нг/мл, СРБ – в мг/мл, диапазон детекции – 0,625–40 нг/мл, чувствительность – 0,146 нг/мл, время анализа 1–5 ч., объем образца 50-100 мкл, длина волны детекции 450 нм. Концентрацию TLR 4, GLUT 4, PPAR $\gamma$ , а также содержание СРБ в плазме крови оценивали в конце эксперимента – на 12-й неделе перед забоем во всех группах животных. Для ИФА использовалось микропланшетный анализатор Multiskan FC, микропланшетный промыватель W600, термощейкер для микропланшетов PST - 60HL, вспомогательное оборудование, необходимое для проведения твердофазного иммуноферментного анализа.

#### **2.2.5 Морфологические и морфометрические исследования**

*Световая микроскопия.* Пробоподготовку для общей морфологии проводили по стандартной методике [85]. Для препаровки использовали вырезную станцию LEEC ltd. Взятие тканей для гистологического исследования производилось путем выделения участков тканей размером 1×1×0,5 см. Выделенные участки тканей фиксировались в 10 %-м нейтральном формалине с

добавлением 0,1 М натрий-фосфатного буферного раствора (pH 7,4) в течение 10 дней с заменой фиксирующей жидкости дважды путем промывания в воде в течение 24-х часов для удаления фиксатора. Далее проводилась дегидратация препаратов с помощью этилового спирта при постепенном повышении его концентрации: 50 %–60 %–70 %–80 %–96 %–100 %. После этого фрагменты помещались в ксилол с целью просветления, затем помещались в насыщенный ксилолом раствор парафина при температуре плюс 37°C, затем перекладывались в чистый парафин при температуре плюс 56°C. Далее препараты заливались смесью парафина и пчелиного воска в процессоре LOGOS (Mielstone, Италия) по протоколу overnight согласно рекомендации производителя и изготавливались парафиновые блоки. Для заключения в парафин и изготовления блоков использовали заливочную станцию Leica EG 1150 H (Leica, Германия). 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 100<sup>×</sup> и 400<sup>×</sup>.

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 1000<sup>×</sup> с иммерсионным объективом микроскопа Leica DM2000, проводили анализ структуры тканей, а на изображениях срезов жировой ткани – подсчеты размеров адипоцитов и диаметра их ядер – (мкм) и вычисляли ядерно-цитоплазматическое отношение (у.е.). Для морфометрии адипоцитов в каждой группе животных определяли размеры 50 жировых клеток в каждом препарате. Группировали исследуемые адипоциты в 3 основные группы: < 70 μm (малые размеры), 70–120 μm (средние размеры) и > 120 μm (большие размеры) [386]. Использовали лицензионную компьютерную программу Image J 1,46 [217].



*Электронная микроскопия.* Препараты для электронной микроскопии готовились по следующей методике: для фиксации фрагменты органов (размер 1×1×1 мм) помещались в 2,5 % раствор глутаральдегида на 1 час с добавлением натрий-фосфатного буферного раствора (0,1 М, рН 7,4) при температуре воздуха плюс 4°C. Затем фиксатор трижды (через 10, 20 и 30 мин) отмывался с помощью охлажденного (плюс 4°C) натрий-фосфатного буфера (0,1 М, рН 7,4). Затем препараты дополнительно фиксировались с помощью охлажденного (плюс 4°C) 1% раствора оксида осмия (VIII OsO<sub>4</sub>) в течение 1 часа. После этого образцы обезвоживались с использованием этилового спирта в нарастающей концентрации по следующему алгоритму: 25 % спирт в течение 5-10 мин; 30 % спирт в течение 5-10 мин; 50 % спирт в течение 5-10 мин; 70 % в течение 2-х часов; 96 % спирт – 2 подхода по 25 мин каждый, 100 % спирт – 2 подхода по 25 мин каждый. Экспозиция в ацетоне («ХЧ», промежуточная среда) проводилась дважды по 25 мин. Образцы инфильтрировались смесью ацетон-смола в соотношении 1:1 в течение 1 часа на открытом воздухе, затем заливались в смолы с добавлением равных количеств смесей А и Б (Таблица 2. 7), а также DMP-30 из расчета 0,15 мл на 5 мл смеси [85]. Препараты помещались в термостат и подвергались полимеризации по следующей схеме: при температуре плюс 37°C в течение 12 часов, при температуре плюс 45°C – 12 часов, при температуре плюс 56°C – 12 часов.

Таблица 2. 7 – Состав смесей смол (мл) для приготовления препаратов в электронной микроскопии

Смесь А	Эпон-812	62 мл
	DDSA	100 мл
Смесь Б	Эпон-812	100 мл
	MNA	89 мл

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». Все изображения были сделаны с объективом N\_Plan 40x или N Plan 10 SL и камерой Leica DFC 495.

### 2.2.6 Методы статистической обработки результатов

*Принципы расчета размера выборки:* при статистической обработке данных использовали следующие критерии: One-Way ANOVA и t-критерий Стьюдента. Перед началом эксперимента проводился анализ выборки на однородность и оценка состоятельности перед включением в исследование. При данном анализе была определена однородность выборки в каждой подгруппе по исходным показателям веса, возраста и уровня глюкозы. Проверка нормальности распределения данных в выборках исследовалась специализированным разделом «проверка нормальности» приложения статистической программы StatPlus. При анализе на нормальность наблюдалось нормальное распределение данных, отклонений не наблюдалось.

*Методы статистического анализа данных:*

Статистический анализ полученных данных обрабатывался с помощью программы Statistica 10.0. Количественные данные представлялись в стандартных приложениях MS Word Excel. Приводимые параметры представлены в формате:  $M$ , а также  $Me$  ( $Q_{25\%}$ ;  $Q_{75\%}$ ), где  $Me$  – медиана,  $Q_{25\%}$  и  $Q_{75\%}$  – квартили. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием методов вариационной статистики, непараметрического T-критерия Вилкоксона и U-критерия Манн-Уитни. Различия считали достоверными при  $p < 0,05$ . Для определения нормального распределения использовался коэффициент нормальности Колмогорова-Смирнова и Лиллиефорса. Для анализа корреляции данных использовался ранговый коэффициент корреляции r-Спирмена. При положительном значении определялась

прямая взаимосвязь – зависимость между определяемыми величинами расценивалась как прямо-пропорциональная, при получении отрицательного результата – как обратно-пропорциональная.

По степени выраженности взаимосвязи признаков полученные значения интерпретировались следующим образом (Таблица 2. 8):

Таблица 2. 8 – Интерпретация корреляционных значений по степени выраженности взаимосвязи

Значение	Интерпретация
0 - 0,3	очень слабая
0,3 - 0,5	слабая
0,5 - 0,7	средняя
0,7 – 0,9	высокая
0,9 – 1	очень высокая

Анализ распределения частот аллелей и генотипов проводили с использованием таблиц сопряженности и критерия хи-квадрат ( $\chi^2$ ).

## ГЛАВА 3

## ПРОЯВЛЕНИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА У ЖИВОТНЫХ С ФРУКТОЗНОЙ МОДЕЛЬЮ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА

## 3.1 Степень и характер соматометрических изменений и морфологических изменений органов-мишеней при моделировании метаболического синдрома у экспериментальных животных

Экспериментальными исследованиями на модели МС у крыс было установлено следующее. У крыс из второй контрольной (К2) группы, с моделированным МС без коррекции, развились характерные для МС изменения. Масса тела составляла 300 г, превышая контрольные цифры на 40% ( $p < 0,05$ ). Увеличение массы тела происходило преимущественно за счет абдоминальной жировой клетчатки, что подтверждалось увеличением ее массы на 21% и увеличением окружности живота на 62% от контрольных цифр ( $p < 0,05$ ) (Таблица 3. 1).

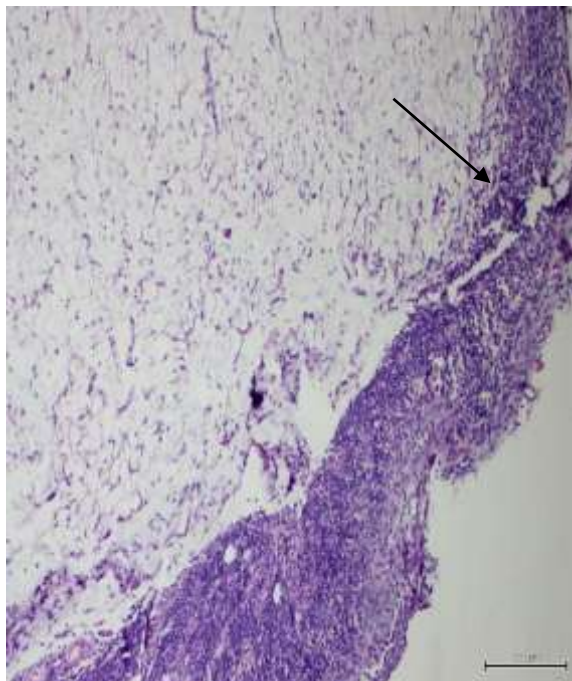
Таблица 3.1 – Сравнительный анализ соматометрических показателей у крыс интактной группы и с моделируемым МС по окончании эксперимента, данные представлены в виде Me (Q1, Q3)

Группа	Масса тела, г	Окружность живота, см	Масса абдоминальной жировой клетчатки, г
К1	179,5(178,5, 185)	12(12,13)	35(33,33)
К2	300(300, 329,5)*	19,4(18,5, 20,5)*	42,5 (35,40)*

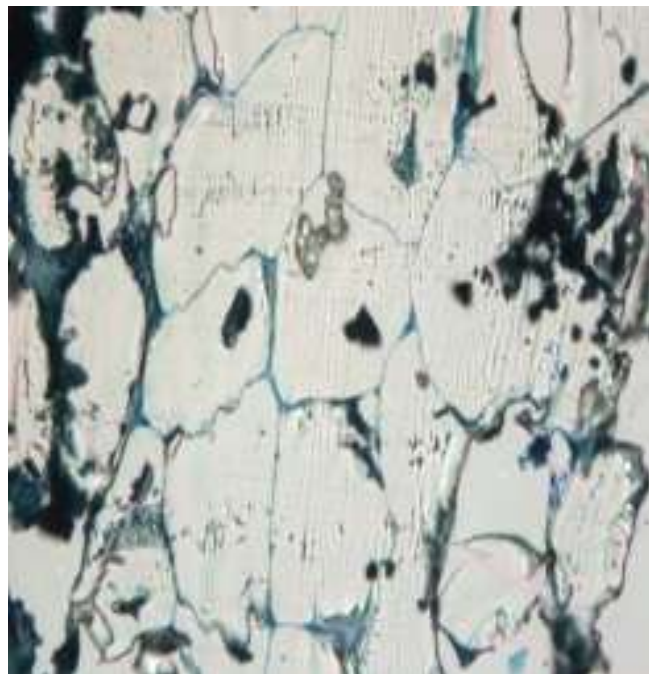
Примечание: \*  $p < 0,05$  по сравнению с группой К1.

В жировой клетчатке наблюдаются умеренно выраженные гемодинамические расстройства, в виде отека межлоскутной ткани и полнокровия сосудов. Обнаруживаются крупные массивные лимфоплазмодитарные агрегаты в

межуточной ткани, располагающиеся в ряде наблюдений периваскулярно, а также слабовыраженный интерстициальный фиброз (Рисунок 3. 1 А, В).



А



В

Рисунок 3.1 – А. Парафиновый срез. Массивная лимфоплазмочитарная инфильтрация с формирующейся фиброзной тканью (указано стрелками) в жировой ткани крыс с моделируемым метаболическим синдромом. Окраска: гематоксилин-эозин. Ув. 10×10

В. Полутонкий срез. Округлые, гипертрофированные, бедные цитоплазмой клетки. Толуидиновый синий. Ув. 400×.

При микроскопическом исследовании *печени* крыс из второй контрольной (K2) группы выявляются изменения дистрофически-деструктивного характера в виде мелкокапельной жировой и гидропической дистрофии гепатоцитов (Рисунок 3. 2, 3.3), а также наличие признаков некробиотических изменений, в виде сморщивания клеток, конденсации хроматина и очаговых центрoлoбулярных некрозов. Также весьма важным гистологическим признаком развившегося стеатогепатита является воспалительная лимфоплазмoцитарная инфильтрация, с примесью нейтрофильных лейкоцитов, которая имеет преимущественно очаговый периваскулярный (Рисунок 3. 3), реже диффузный характер (Рисунок 3. 4).

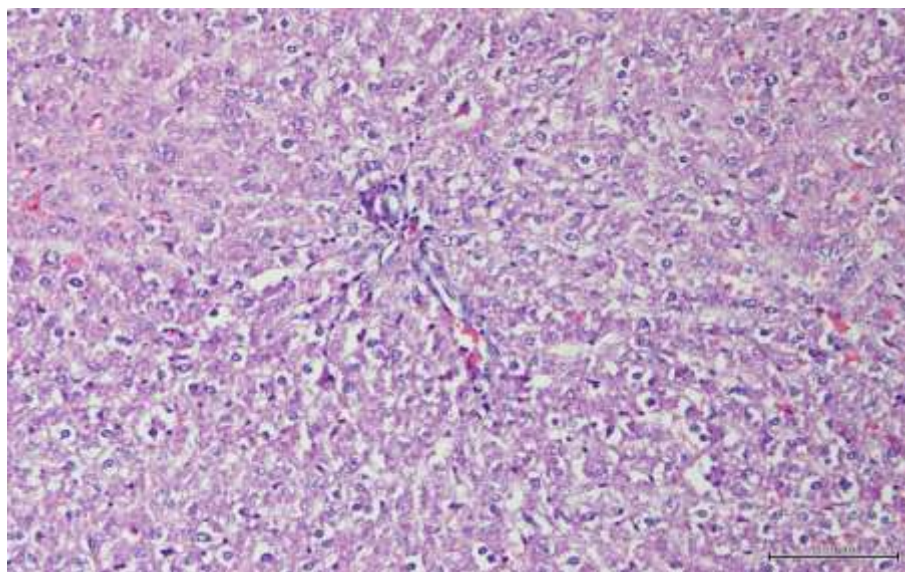
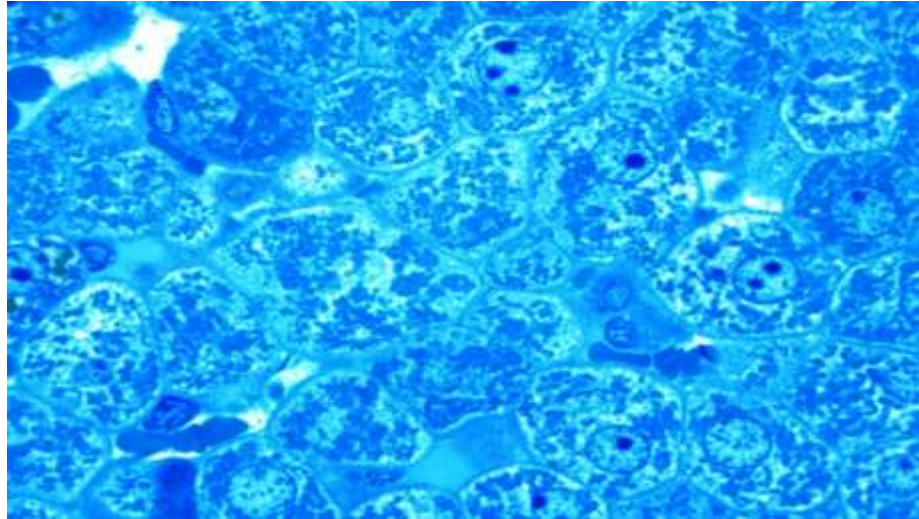
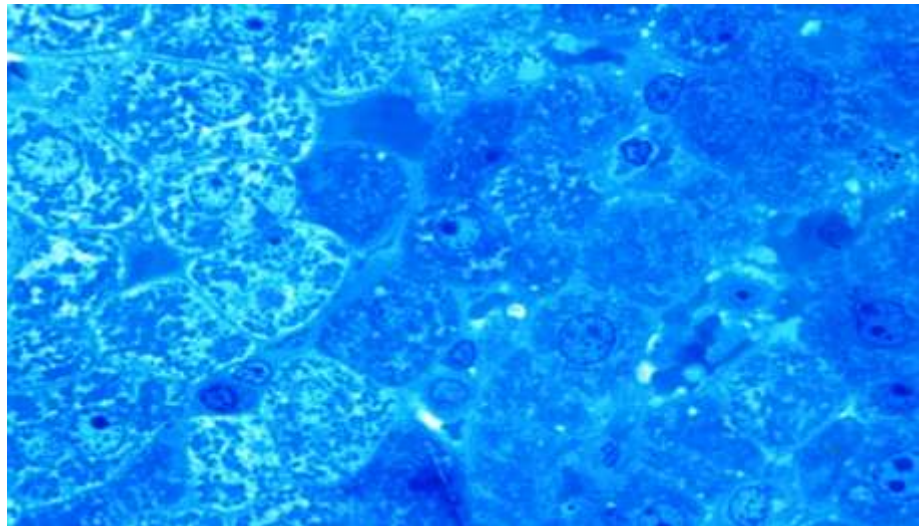


Рисунок 3.2. Гидропическая дистрофия гепатоцитов при моделируемом метаболическом синдроме. Окраска гематоксилин-эозин. Ув. 10×20.





А



В

Рисунок 3.3 – А В Полутонкий срез. Нарушения цитоархитектоники печеночной ткани. Толуидиновый синий. Ув. 100 ×

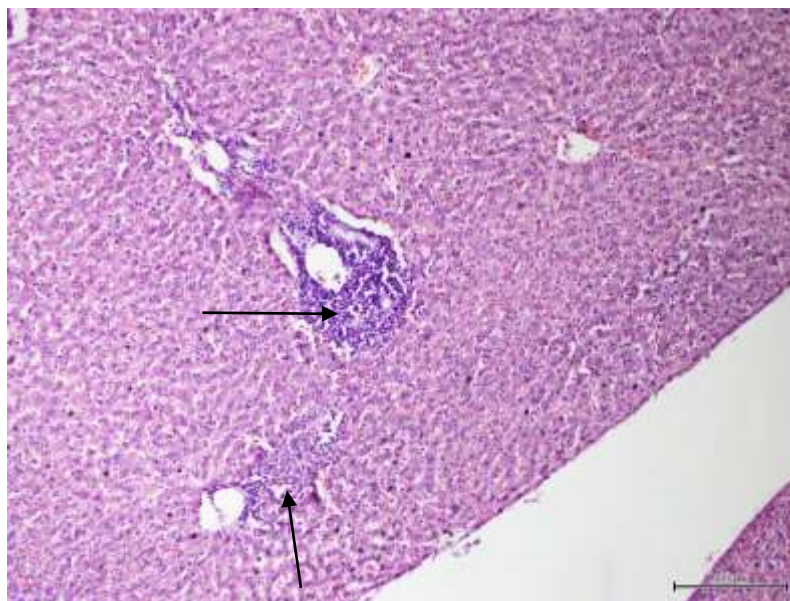


Рисунок 3. 4 – Перипортальные воспалительные инфильтраты при моделируемом метаболическом синдроме (указаны стрелками). Окраска гематоксилин-эозин. Ув. 10×10.

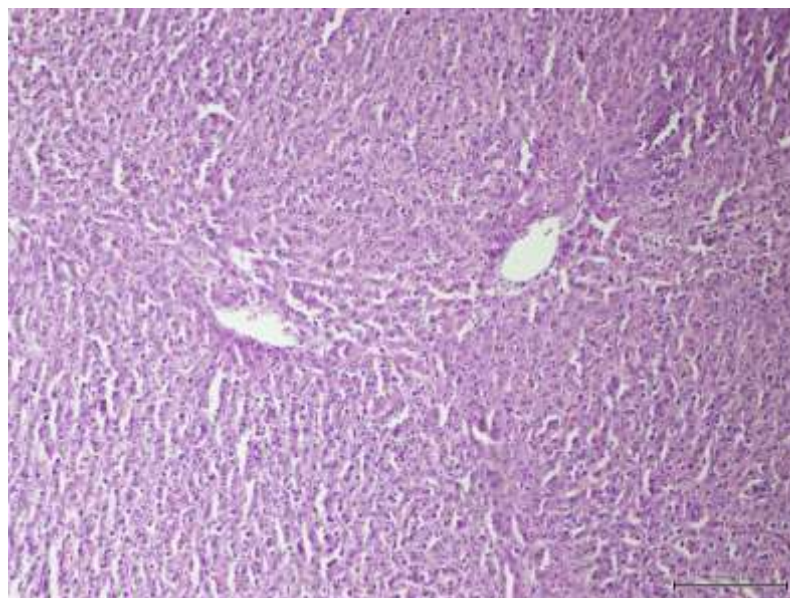


Рисунок 3.5 – Интралобулярная круглоклеточная инфильтрация при моделируемом метаболическом синдроме. Окраска гематоксилин-эозин. Ув. 10×10

Кроме того, имеют место признаки расстройства кровообращения в виде отека, расширения перисинусоидальных пространств с нарушением балочного



строения, полнокрывия синусоидов и центральных вен со сладжированием эритроцитов, очаговыми петехиальными кровоизлияниями (Рисунок 3.5, 3.6).

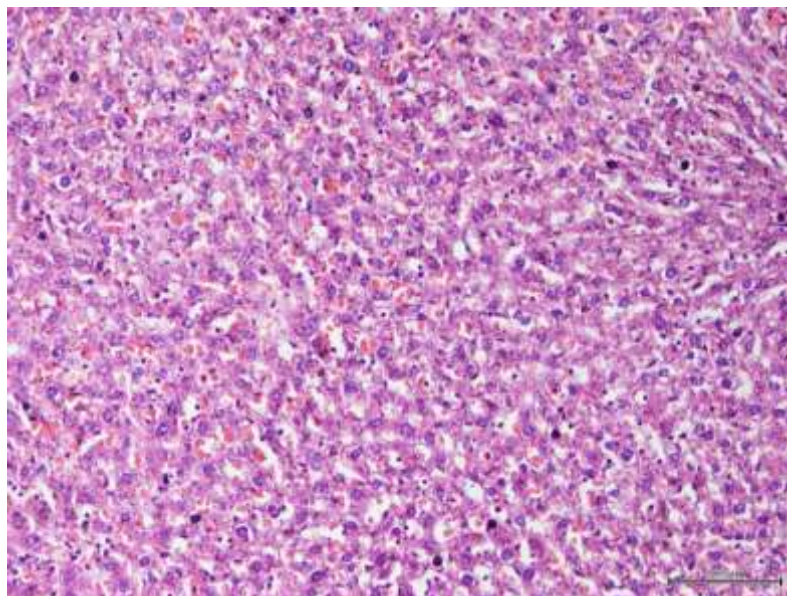


Рисунок 3. 6 – Полнокровие синусоидов и расширение перисинусоидальных пространств при моделируемом метаболическом синдроме. Окраска гематоксилин-эозин. Ув. 10×20

На полутонких срезах (Рисунок 3.3 А) цитоархитектоника паренхимы печени нарушена. Радиальная направленность печеночных пластинок и синусоидных капилляров изменена по сравнению с контролем. Также варьируют форма и размеры печеночных долек. Встречаются очаги некротических и апоптозных изменений. В составе промежуточной зоны ацинуса клетки паренхимы представлены, в основном, крупными светлыми гепатоцитами. Гепатоциты не имеют выраженных признаков гидропической и жировой дистрофии. Клетки приобрели более округлую (овальную) форму, что приводит к нарушению латеральных контактов. Цитоплазма заполнена базофильной зернистостью, четко видимой на фоне просветленной цитоплазмы. Большинство ядер гепатоцитов увеличены и заполнены эухроматином. В некоторых случаях визуализируются 1–2 ядрышка

(Рисунок 3.3 В). На ультратонких срезах (Рисунок 3.7) у части гепатоцитов цитоплазма их васкулярного полюса имеет большую степень просветления и вакуоли различных размеров, а в митохондриях отмечаются участки просветления и разнонаправленности расположения крист.

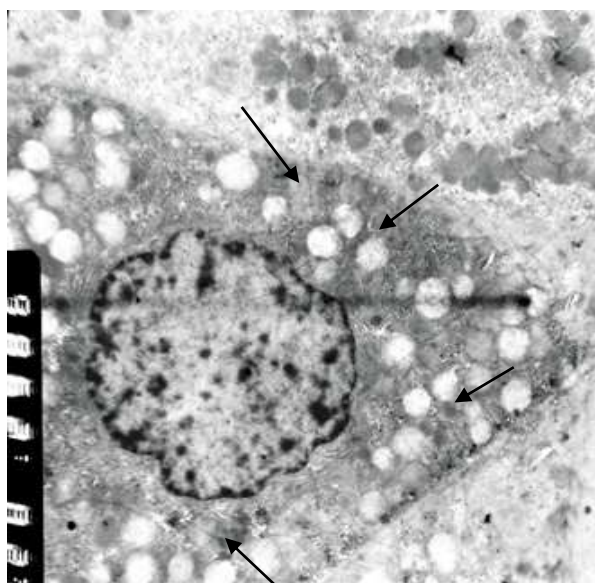
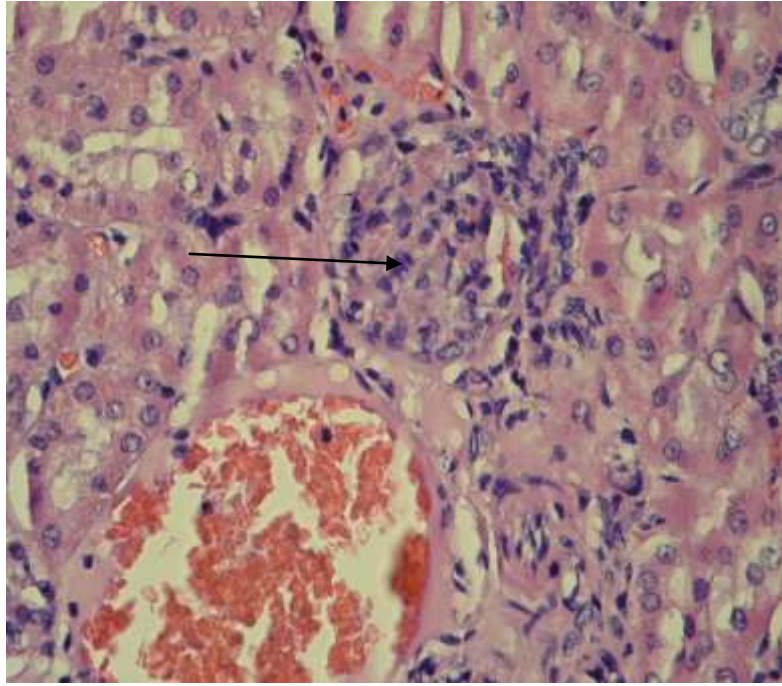
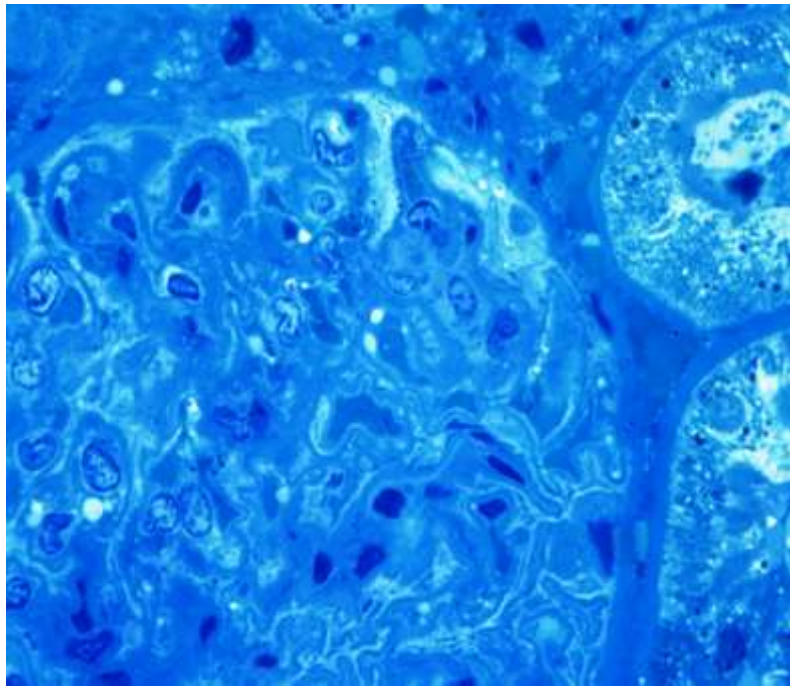


Рисунок 3.7 – Ультраструктура гепатоцитов при моделированном МС. Вакуолизация цитоплазмы (указано стрелками). Контрастирование тетраоксидом осмия и цитратом свинца по Рейнольдсу. Ув. 4000<sup>×</sup>

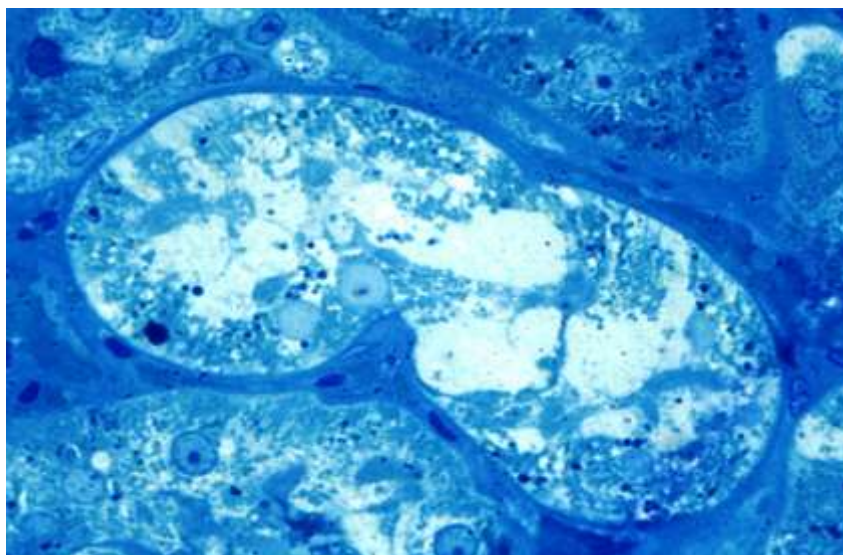
При микроскопическом исследовании ткани **почки** крыс из второй контрольной (К2) группы в некоторых гломерулах отмечается повышение клеточности, связанное с пролиферацией эндотелиоцитов (Рисунок 3. 8).



A



B



С

Рисунок 3.8 – А. Гиперклеточность почечного клубочка (указано стрелкой) в ткани почки с моделированным метаболическим синдромом. Окраска гематоксилин-эозин. Ув. 10×40

В. С. Полутонкий срез. Повышение клеточности гломерул. Тoluидиновый синий. Ув. 100 ×

Такие изменения выявляются крайне редко во всем почечном тельце, чаще они имели очаговый характер. В ряде наблюдение обнаруживается атрофия канальцев и слабовыраженный интерстициальный фиброз (Рисунок 3. 9).



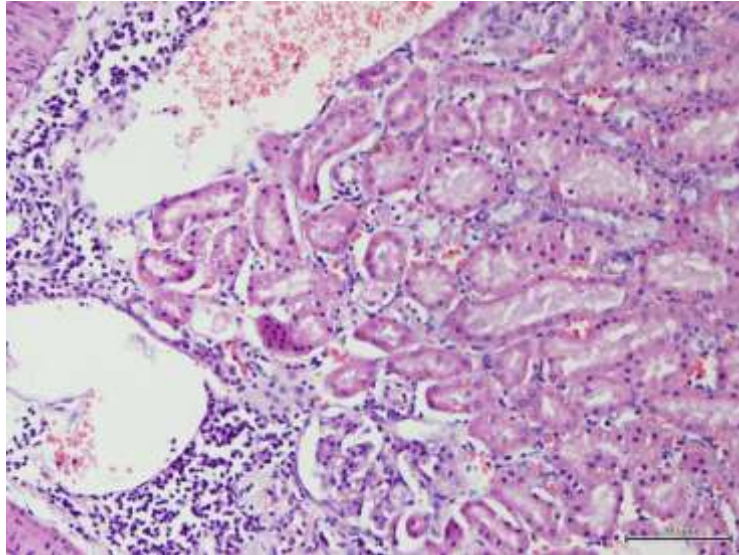
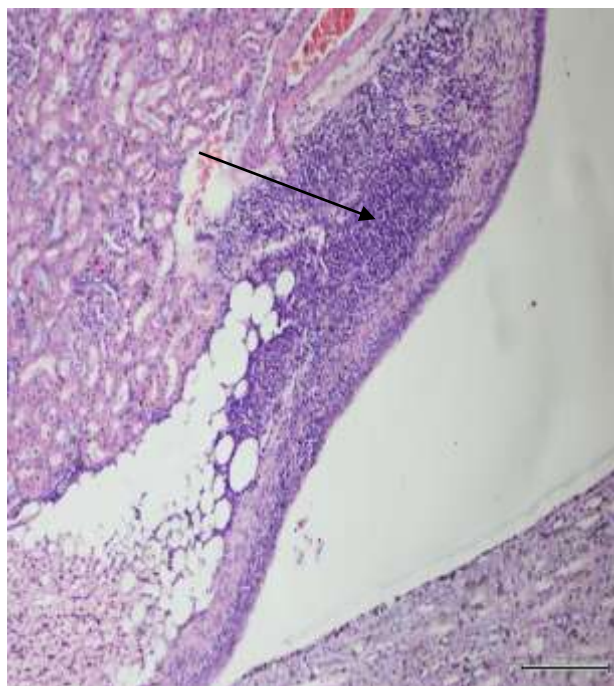
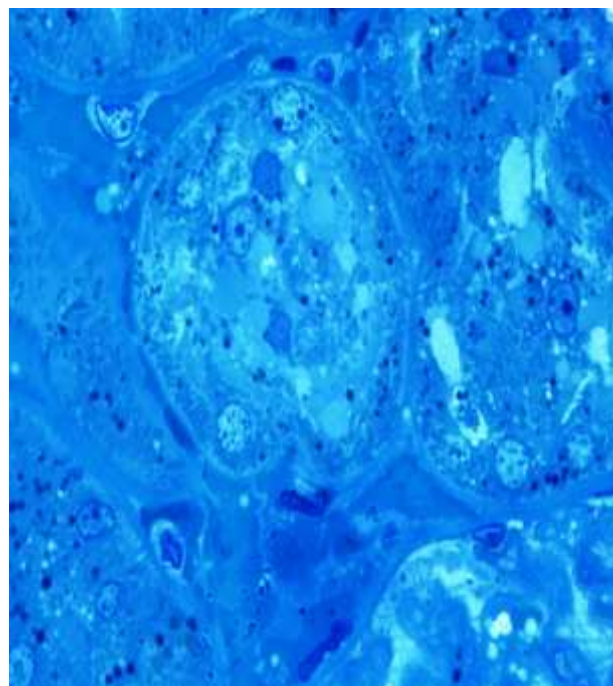


Рисунок 3.9 – Очаговая атрофия канальцев в ткани почки с моделированным метаболическим синдромом. Окраска гематоксилин-эозин. Ув. 10×20

В ряде случаев отмечается утолщение сосудистой стенки с развитием артериолярного фиброза и гиалиноза. В паранефральной клетчатке обнаруживаются массивные лимфоидные инфильтраты (Рисунок 3.10).



А



В

Рисунок 3.10 – А. Массивная лимфоцитарная инфильтрация паранефральной жировой клетчатки почки (указано стрелкой) с моделированным метаболическим синдромом. Окраска гематоксилин-эозин. Ув.  $10 \times 10$

В. Полутонкий срез. неправильная форма почечных телец и вариабельность их размеров. Толуидиновый синий. Ув.  $40 \times$

Очаговые лимфоидные инфильтраты обнаруживаются также в интерстиции почки, периваскулярно, в единичных случаях вокруг почечных клубочков. В ряде наблюдений инфильтрация имеет диффузный характер (Рисунок 3.11).

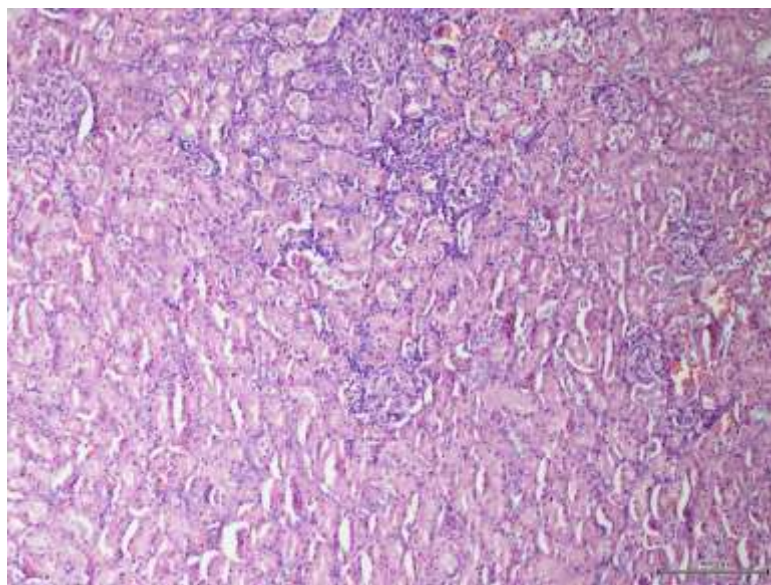


Рисунок 3.11 – Диффузная круглоклеточная инфильтрация интерстиция почки с моделированным метаболическим синдромом. Окраска гематоксилин-эозин. Ув. 10×10

На полутонких срезах (Рисунок 3. 10 В) организация основных структурно-функциональных компонентов коркового вещества почки нарушена. Почечные тельца имеют неправильную форму. Размеры их сильно варьируют. Все клубочки имеют признаки патологических изменений. Почечные тельца окружены утолщенной базальной мембраной с неровным извилистым ходом. Деструктивные изменения затрагивают все, без исключения, компоненты клубочка. Капилляры обладают морфологической неоднородностью. На фоне расширенных, увеличенных сосудов отмечается часть капилляров с уменьшенным или полностью редуцированным просветом. В просвете «открытых» капилляров выявляется плазма крови и незначительное количество эритроцитов. Плотность капсулы Шумлянско-Боумена увеличена, с признаками отека или уплотнения. Подоциты и мезангиальные клетки характеризуются деструктивными и некротическими изменениями (Рисунок 3.10 В), что наблюдается и на ультратонких срезах (Рисунок 3. 12).

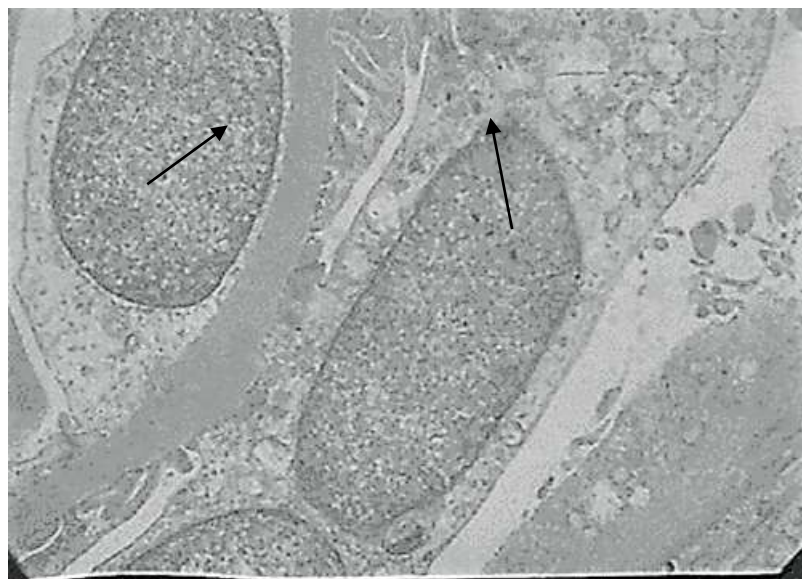


Рисунок 3.12 – Ультратонкий срез. Фрагмент клубочка почки с моделированным МС. Деструктивные и некротические изменения в подоцитах и мезангиальных клетках (указано стрелками). Контрастирование тетраоксидом осмия и цитратом свинца по Рейнольдсу. Ув.4000 $\times$

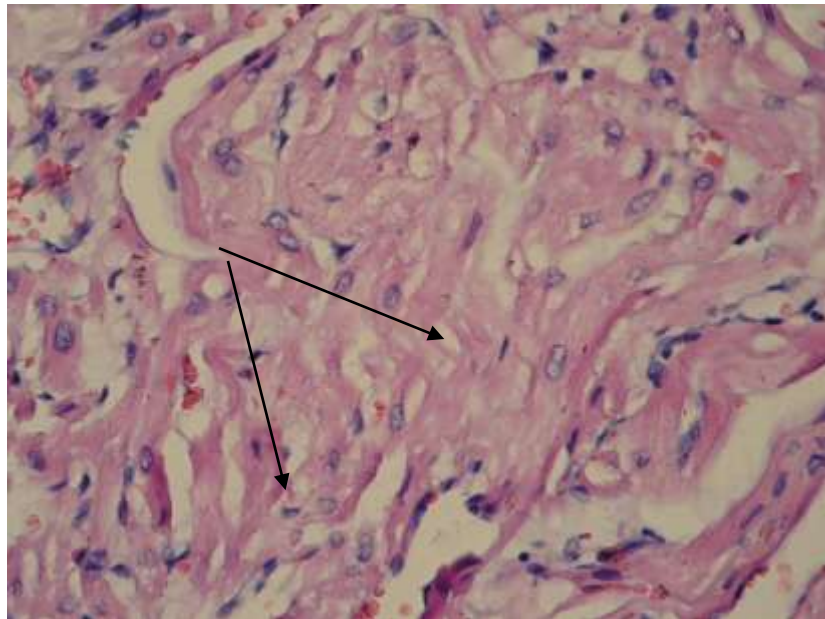
Со стороны проксимальных и дистальных канальцев коркового вещества также отмечаются атрофические и дистрофические изменения разной степени проявления. В эпителиоцитах канальцев хорошо визуализируются умеренные и выраженные признаки гидропической, баллонной дистрофии. Большая часть канальцев с признаками ярко выраженных изменений: набухание, просветление, разрушение эпителиоцитов, десквамация в просвет канальца (Рисунок 3.9).

Сосудистый компонент интерстициальной соединительной ткани характеризуется стазом и сладжем эритроцитов (формирование монетных столбиков) (Рисунок 3.10А).

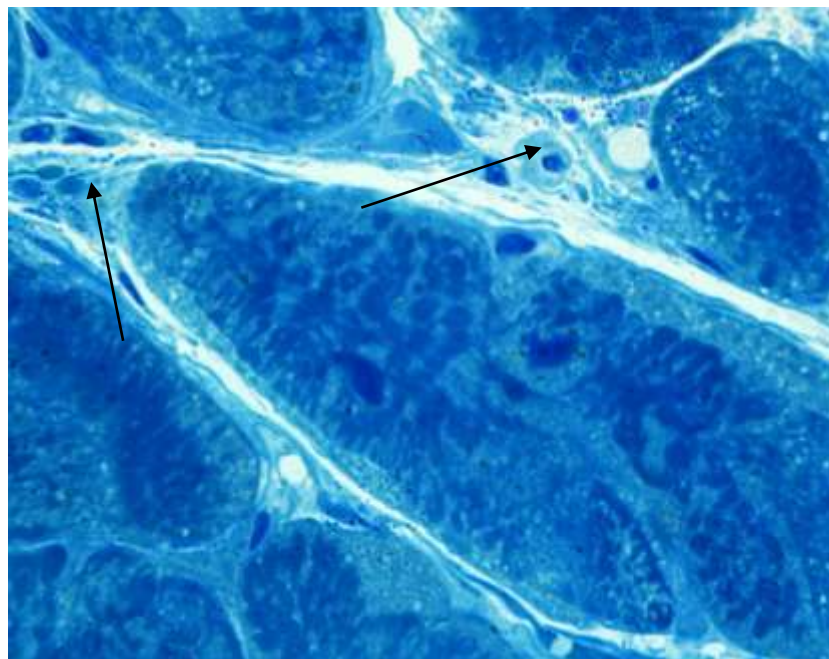
При микроскопическом исследовании ткани *сердца* крыс из второй контрольной (К2) группы на фоне умеренно выраженного расстройства гемодинамики, в виде отека межлунечной ткани, полнокровия сосудов и очаговых петехиальных кровоизлияний, отмечаются очаговое истончение и разволокнение



мышечных волокон и слабовыраженный интерстициальный фиброз (Рисунок 3. 13А, В).



А



В

Рисунок 3. 13 – А. Разволокнение и расщепление мышечных волокон (указано стрелками) на фоне расстройства кровообращения в группе с моделированным метаболическим синдромом. Окраска гематоксилин-эозин. Ув.10×40

В Полутонкий срез. Интерстициальный фиброз миокарда (указано стрелками). Толуидиновый синий. Ув. 100 ×

Отмечается вращение жировой клетчатки между кардиомиоцитами (Рисунок 3.14).

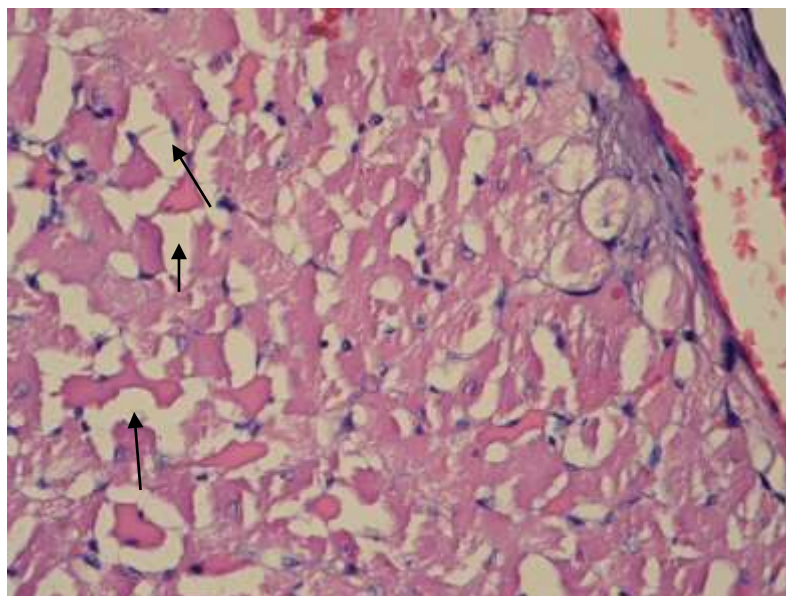


Рисунок 3.14 – Дистрофия кардиомиоцитов и вращение жировой клетчатки между ними (указано стрелками) в группе с моделированным метаболическим синдромом. Окраска гематоксилин-эозин. Ув.10×40

В области эпикарда вокруг крупных сосудов отмечается скопление белого жира в виде групп крупных полигональных клеток с наличием единственной вакуоли и ядром на периферии клетки. В жировой клетчатке обнаруживаются очаговые лимфоплазмочитарные инфильтраты.

Электронно-микроскопическое исследование миокарда крыс при метаболическом синдроме позволило выявить деструктивные и дистрофические нарушения, ведущим проявлением которых явились изменения в кардиомиоцитах, интерстиции и микроциркуляторном русле. Стенка капилляров истончена, базальная мембрана разрыхлена. Эндотелиоциты подвержены отеку, резкому набуханию, в некоторых участках выступают в просвет капилляра, суживая его (Рисунок 3.15).

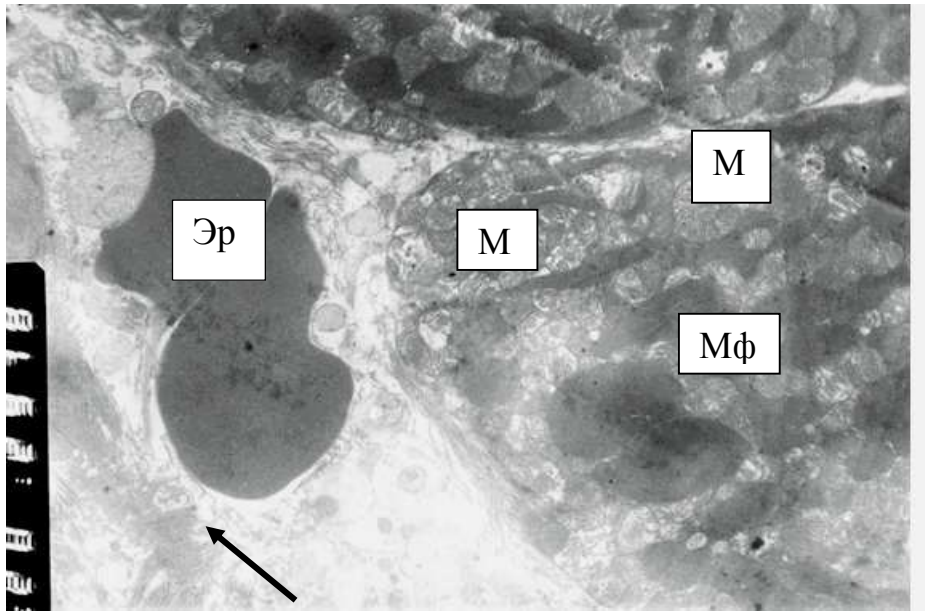


Рисунок 3.15 – Ультраструктура миокарда крысы с метаболическим синдромом. Сладж эритроцитов (Эр), коллагеновые волокна в разных направлениях в интерстиции (стрелка), полиморфизм митохондрий (М), фрагментация миофибрилл (Мф) в кардиомиоцитах. Ультратонкий срез. Контрастирование тетраоксидом осмия и цитратом свинца по Рейнольдсу. Ув. 8000 ×

В цитоплазме эндотелиоцитов выявляются немногочисленные рибосомы и полисомы, одиночные митохондрии. В ряде участков обнаруживаются спущенные эндотелиоциты.

Данные изменения свидетельствуют о глубоких повреждениях сосудистой стенки. В сосудах наблюдаются стазы и сладжи эритроцитов (Рисунок 3. 15). Со стороны интерстиция отмечается отечность перикапиллярного пространства, содержащего разволокненные, иногда фрагментированные пучки коллагеновых волокон, идущих в разных направлениях и гранулы различного размера и электронной плотности (Рисунок 3.16).

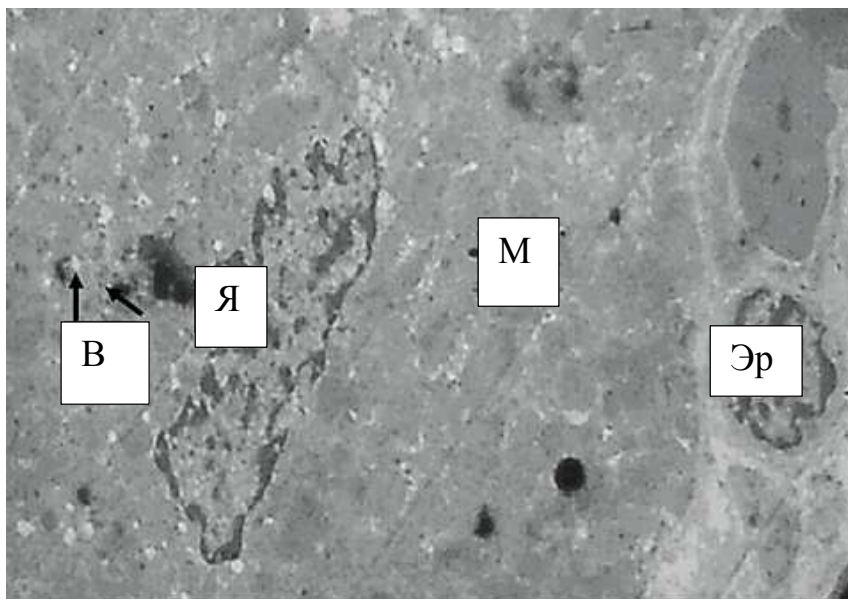


Рисунок 3.16 – Ультраструктура фрагмента миокарда крысы с моделированным МС. Отек эндотелиоцита, сладж эритроцитов (Эр). Ядро кардиомиоцита (Я) с инвагинациями кариолеммы, в саркоплазме выявляются мелкие вакуоли (В), умеренно набухшие митохондрии (М) с электронноплотным матриксом. Ультратонкий срез. Контрастирование тетраоксидом осмия и цитратом свинца по Рейнольдсу. Ув. 8000 ×

Среди немногочисленных клеточных элементов периваскулярного пространства чаще встречаются фибробласты, которые имеют признаки активного белкового синтеза : преобладание эухроматина, большое количество ядерных пор, ядрышки, прилежащие к кариолемме, незначительно расширенные цистерны гранулярной эндоплазматической сети, многочисленные рибосомы и полисомы.

Среди форменных элементов крови в интерстиции чаще встречаются эозинофилы, что указывает на интенсивный интерстициальный отек, сопряженный с изменением проницаемости сосудов. Ультраструктура кардиомиоцитов характеризуется деструктивными изменениями, которые сопровождаются признаками мелковакуолярной гидропической дистрофии.

Ядра клеток имеют овальную, вытянутую форму, инвагинации кариолеммы разной глубины, что свидетельствует как о повышении функциональной активности кардиомиоцитов, так и о начинающихся процессах гибели клеток. Гетерохроматин представлен, преимущественно, маргинальным и кариосомами. Ядрышки видны как малые остаточные скопления материала со средней электронной плотностью. Перинуклеарное пространство неравномерно расширено и местами продолжается в небольшие цистерны саркоплазматической сети или мелкие вакуоли саркоплазмы (Рисунок 3.16).

Расширение цистерн саркоплазматической сети свидетельствует о кальциевой перегрузке клеток, а появление вакуолей и гипертрофированных диктиосом комплекса Гольджи указывает на последующее развитие отека кардиомиоцитов.

Саркоплазма содержит большое количество митохондрий, наблюдается вариабельность их форм и размеров – наряду с округлыми митохондриями имеются вытянутые формы, среди крупных органелл располагаются группы мелких митохондрий. Также имеются изменения внутренней организации митохондрий – деформации и разрывы крист, нарушение их упорядоченности, расширение межкристных пространств, просветление матрикса митохондрий, гомогенизация матрикса, исчезновение наружной мембраны органелл (Рисунок 3.15, 3.16). Такие изменения ультраструктуры митохондрий ведут к прогрессирующему энергодефициту в кардиомиоцитах, богатых этими органеллами, что неизбежно вызывает нарушение сократительной способности миофибрилл.

Пучки миофибрилл истончены и потеряли параллельную ориентацию, также отмечаются разволокнение и локальный лизис миофибрилл. В некоторых кардиомиоцитах наблюдается резко выраженная фрагментация мышечных волокон в виде разрывов целых групп миофибрилл. Фрагменты имеют неправильную многоугольную форму в виде контрактурных полос. В ряде случаев изменения миофибрилл сочетают в себе участки уплотнения за счет

гиперсокращения и нарушения их целостности за счет диссоциации отдельных мышечных волокон или их групп (Рисунок 3.16).

Таким образом, на ультраструктурном уровне метаболический синдром характеризуется дистрофическими и деструктивными изменениями во всех структурах миокарда.

### **3.2 Степень и характер изменения морфометрических характеристик жировой ткани при моделировании метаболического синдрома у экспериментальных животных**

*Размеры адипоцитов* абдоминальной жировой клетчатки у животных с МС превосходили таковые у контрольной группы в 2,1 раза ( $p < 0,05$ ) (Таблица 3.2). Соотношение размеров малые/большие клетки равнялось 0,41, тогда как пропорция в контрольной группе составляла 32,33 (Таблица 3.2, Рисунок 3.17).



Таблица 3. 2 – Сравнительный анализ морфометрических параметров у интактных животных и при моделированном МС, данные представлены в виде Me (Q1, Q3)

Группа	Размеры адипоцитов, мкм	Размеры ядер, мкм	Соотношение размеров цитоплазма/ядро, у.е.	Соотношение содержания малых и больших адипоцитов (в у.е.)
К1	46,2(41,15, 47,2)	1,53(1,3, 1,7)	29,42(25,17, 35,63)	32,33
К2	95,03(63,87, 71,38)*	1,62(0,78, 2,74)	55,98(28,39, 40,99)*	0,41

Примечание : Звездочками показана достоверность различий ( $p < 0,05$ ); \* – по отношению к группе животных, не получавших препараты(К1), \*\*- по отношению к контрольным животным с моделированным МС(К2)

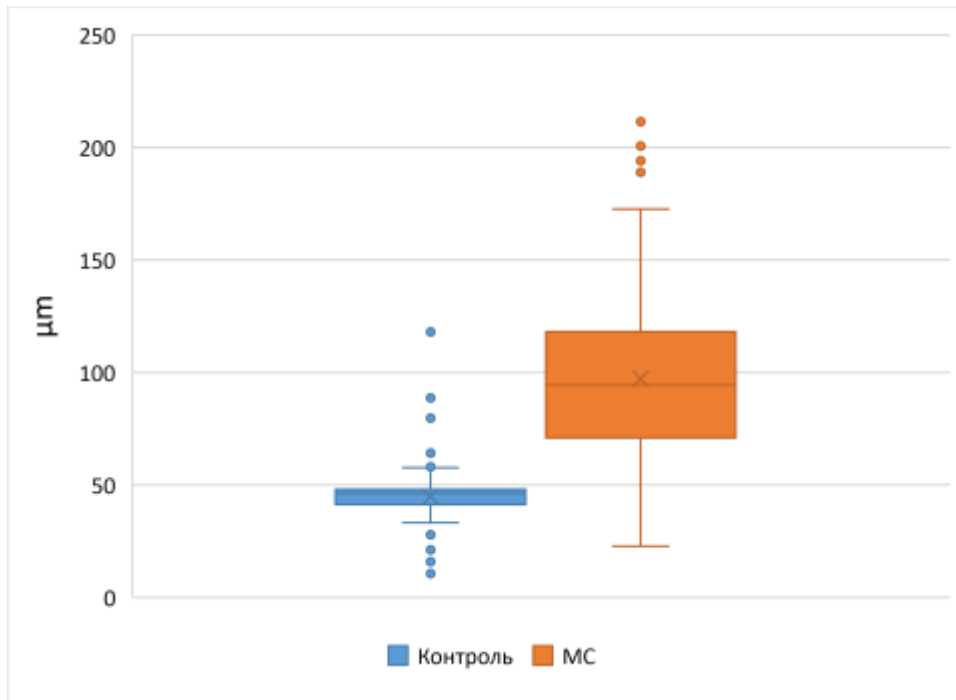


Рисунок 3. 17 – Распределение размеров адипоцитов у животных при моделированном МС в сравнении с показателями контрольной группы

Также изменениям подвергались *размеры ядер адипоцитов*. При МС 45% клеток имели ядра с увеличенными, по сравнению с контролем размерами (Рисунок 3.18).



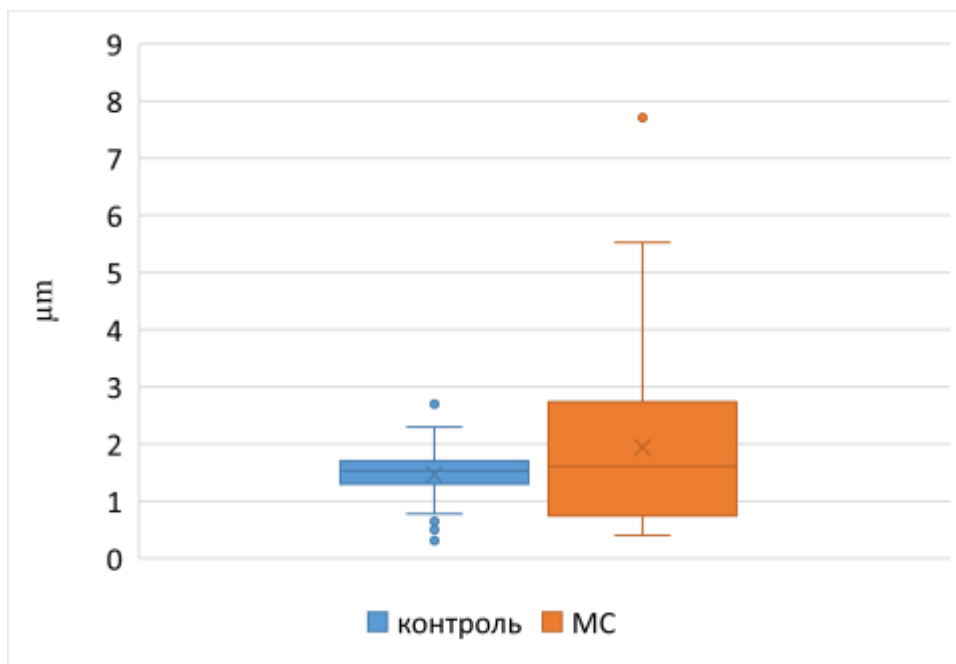


Рисунок 3. 18 – Распределение размеров ядер адипоцитов у животных при моделированном МС в сравнении с показателями контрольной группы.

При МС наблюдалась сильная вариабельность соотношения цитоплазма/ядро (коэффициент вариации 93,76 % > 70 %), но 51 % клеток находились в интервале 4,12–69 мкм (Рисунок 3. 19).

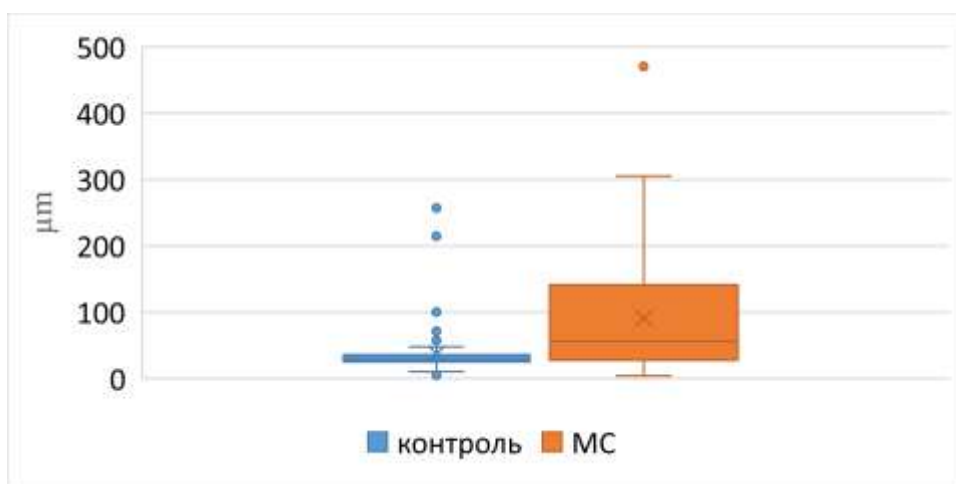


Рисунок 3.19 – Распределение соотношения цитоплазма/ядро у адипоцитов при моделированном МС в сравнении с показателями контрольной группы

### 3.3 Состояние процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантов при экспериментальном метаболическом синдроме

При моделируемом МС типичные изменения в морфологии органов-мишеней (дистрофия и атрофия в сочетании с воспалительными изменениями) проходили на фоне выраженного абдоминального ожирения, сопровождавшегося нарушением про- и антиоксидантного баланса в крови (Таблица 3.3).

Таблица 3.3 – Состояние процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантов у интактных животных и при экспериментальном МС.

Показатели	К1	К 2
СОД	7,76 (5,95; 8,97)	8,79 (6,58; 11,85)*
ЦП	220,5 (214,38; 350,88)	484,75 (415,63; 571,38) *
ТБКА	30,86 (23,14; 34,71)	44,08 (38,29; 54,82) *
ПА	10,99 (8,68; 13,71)	7,81 (2,51;11,16)*
КПА	0,16 (0,11; 0,28)	0,84 (0,75;0,94)*
АТА	55,51 (52,43; 62,22)	20,25 (11,71; 25,25)*
КСИ	7,84 (6,51; 8,92)	7,52(6,19;9,56)
ТПА	0,75 (0,71;0,79)	0,34 (0,22; 0,46) **
ЭПА	2,22 (1,79; 2,49)	0,71 (0,56; 1,01)

Примечания : ТПА – трипсиноподобная активность(мкМ/мл·мин),), КСИ – концентрация кислотостабильных ингибиторов (ИЕ/мл), ЭПА – эластазоподобная активность (мкМ/мл·мин), АТА – активность  $\alpha$ -1-антитрипсина (ИЕ/мл), ТБК-А – концентрация ТБК-активных продуктов (нМ МДА/мг), ЦП – концентрация церулоплазмينا (Мг/мл), СОД – активность супероксиддисмутазы (Ед/мл), КПА – каталазоподобная активность (мМ/гНв), ПА – пероксидазная активность (мМ/л·с). Звездочками показана достоверность различий ( $p < 0,05$ ); \* – по отношению к группе животных, не получавших препараты (К1), \*\* – по отношению к контрольным животным с моделированным МС (К2).

Так, наблюдалось повышение концентрации ТБК-активных продуктов в 1,43 раза по отношению к интактным животным ( $p < 0,05$ ), достоверное снижение ТПА в 2,2 раза, АТА и ЭПА – в 3 раза ( $p < 0,05$ ). Концентрация ЦП была выше нормы в 2,2 раза ( $p < 0,05$ ), ПА снижалась в 1,4 раза ( $p < 0,05$ ), а КПА повышалась в 5,3 раза по отношению к интактной группе ( $p < 0,05$ ).

На 12-й неделе эксперимента была зарегистрирована гипергликемия. Среднее значение уровня глюкозы крови крыс при моделировании МС достигло 12,9 ммоль/л, что превышало на 57 % ( $p < 0,01$ ) средний уровень глюкозы в группе интактных животных, хотя и не превышало норму для данного вида животных [339].

Характерным признаком МС является также дислипидемия, также зарегистрированная у экспериментальных животных с моделью МС. Содержание общего холестерина у животных с моделируемым МС превышало на 43 %, а триглицеридов – на 61 % соответствующие показатели интактных животных; содержание ЛПВП при моделируемом МС было ниже контрольных значений на 47% (Таблица 3.4).

Таблица 3.4 – Изменения в углеводном и липидном обмене у интактных животных и при развитии экспериментального МС

Показатели	К1	К 2
Глюкоза (ммоль/л)	5,33(4,4;6,2)	12,9(9,6;17,1)**
ОХС(ммоль/л)	1,39(0,7;2,1)	2,0(0,9;3,55)**
ТГ(ммоль/л)	1,3(0,7;2,9)	2,1(0,8;5,4)**
ЛВП(ммоль/л)	0,9(0,81;1,44)	0,47(0,11;1,9)**

Примечания: Глюкоза – концентрация сывороточной глюкозы (ммоль/л), ОХС – концентрация общего холестерина сыворотки крови (ммоль/л), ТГ – концентрация триглицеридов сыворотки крови(ммоль/л), ЛПВ – концентрация липопротеидов высокой плотности в сыворотке крови(ммоль/л).

Звездочками показана достоверность различий ( $p < 0,05$ ); \* – по отношению к группе животных, не получавших препараты(К1) \*\* – по отношению к контрольным животным с моделированным МС(К2).

### 3.3 Молекулярные изменения при развитии метаболического синдрома у экспериментальных животных

При развитии экспериментального МС была выявлена избыточная экспрессия рецепторов GLUT 4 (в 2,3 раза по сравнению с группой интактных животных) (Таблица 3.5).

Таблица 3.5 – Изменение молекулярных маркеров при развитии экспериментального МС

Группа	GLUT 4 (нг/мл)	PPAR $\gamma$ (нг/мл)	TLR4 (нг/мл)	СРБ (мкг/мл)
К1	0,011(0,009;0,02)	2,95(1,59;3,74)	0,86(0,45;2,5)	0,79(0,1;1,36)
К2	0,025(0,01;0,025)*	3,04(1,64;5,02)	3,99(1,47;6,38) *	1,83(1,02;2,69)*

Звездочками показана достоверность различий ( $p < 0,05$ ); \* – по отношению к группе животных, не получавших препараты(К1) \*\* – по отношению к контрольным животным с моделированным МС(К2).

При анализе состояния рецепторов PPAR $\gamma$  наблюдалась тенденция к повышенной экспрессии внутриядерных рецепторов PPAR $\gamma$  в группе без коррекции МС (на 3% по сравнению с контролем) (Таблица 3.5).

Развитие МС также сопровождалось развитием системной воспалительной реакции, связанной с усилением экспрессии TLR 4 и СРБ (Таблица 3.5). Так,

концентрация TLR 4 в группе с МС без коррекции возросла в 4,6 раза, а СРБ – в 2,2 раза отношению к контрольной группе животных ( $p < 0,05$ ).

При определении взаимосвязей биохимических маркеров в группе животных с моделированным МС на 12-й неделе фруктозной диеты были выявлены выраженная положительная корреляция между концентрацией PPAR $\gamma$  и GLUT 4 ( $r=0,84$ ) ( $p < 0,05$ ), GLUT4 и TLR 4 ( $r=0,75$ ) ( $p < 0,05$ ), и средняя положительная корреляция между концентрацией TLR 4 и уровнем СРБ ( $r=0,65$ ). В эти же сроки была выявлена положительная корреляционная зависимость между уровнем TLR 4 и PPAR $\gamma$  ( $r= 0,5$ ) ( $p < 0,05$ ) (Таблица 3.6).

Таблица 3.6 – Корреляционный анализ молекулярных маркеров при МС, представлен ранговый коэффициент Спирмена (r-Спирмена) с указанием p

r-Спирмена	GLUT 4	TLR 4	PPAR $\gamma$	СРБ
GLUT4	-	0,75	0,8*	0,43
TLR 4	0,77	-	0,52*	0,7*
PPAR $\gamma$	0,83*	0,5*	-	-
СРБ	0,43	0,65*	-	-

Примечание: \* –  $p < 0,05$

Анализ зависимостей показателей липидного обмена выявил прямую положительную корреляцию средней степени между ЛПВП и PPAR $\gamma$  ( $r=0,6$ ). Значения PPAR $\gamma$  отрицательно коррелировали с ОХС ( $r=-0,62$ ) и ТГ ( $r=-0,4$ ).

Уровень ОХС отрицательно коррелировал с уровнем TLR 4 ( $r=-0,6$ ), что свидетельствует о наличии средней отрицательной степени взаимосвязи. Также была выявлена сильная отрицательная корреляция между GLUT 4 и ОХС ( $r=-0,74$ ) Уровень СРБ имел слабую степень корреляции с уровнем глюкозы ( $r=0,44$ ) (табли. 3.7).

Таблица 3.7 – Корреляционный анализ молекулярных и биохимических маркеров при МС, представлен ранговый коэффициент Спирмена (r-Спирмена) с указанием p

r-Спирмена	GLUT 4	TLR 4	PPAR $\gamma$	СРБ
Глюкоза	-0,6*	-	-0,7*	0,44
ТГ	-	-	-0,4	-
ОХС	- 0,74*	-0,7	-0,62*	-
ЛПВП	-	-	0,6 *	-

При анализе взаимосвязей показателей углеводного обмена (Таблица 3.7) выявлена отрицательная корреляция средней степени между концентрацией глюкозы и GLUT4 ( $r=-0,6$ ), сильная отрицательная корреляция между глюкозой и PPAR $\gamma$  ( $r=- 0,7$ ), а также слабая положительная корреляция между глюкозой и СРБ (коэффициент Спирмена=0,44).

## ГЛАВА 4

**КЛИНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО  
СИНДРОМА В ГРУППАХ РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ РИСКА РАЗВИТИЯ  
ГЕМОДИНАМИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО  
СИНДРОМА В СВЯЗИ С ПРИСУТСТВИЕМ ПОЛИМОРФНЫХ  
МАРКЕРОВ ГЕНОВ ЛЕПТИНА, *ADIPOQ*, *ADIPOR1* И *ADIPOR2* В  
РЕСПУБЛИКЕ КРЫМ**

**4.1 Распределение генотипов генов лептина, *ADIPOQ*, *ADIPOR1* и *ADIPOR2*  
среди пациентов с метаболическим синдромом**

*Ген лептина*

При исследовании полиморфизма A/G промоторной области гена лептина G(-2548)A (rs7799039) аллель А у пациентов с метаболическим синдромом встречалась с несколько большей частотой, составляя 52,7 % (Таблица 4.1). При анализе частот аллельных сочетаний наиболее часто, в 52,1% встречалось гетерозиготное сочетание GA. Гомозиготные варианты AA и GG встречались у пациентов с МС в 26,6 % и 21,3 %, соответственно (Таблица 4.2).

Таблица 4.1 – Частоты аллельных вариантов промоторной области G(-2548)A гена лептина (rs 7799039) у пациентов с МС

Аллель	Случаи	Частота аллели
<b>G</b>	89	0,4734
<b>A</b>	99	0,5266
<b>Всего</b>	<b>188</b>	<b>1,0000</b>

Таблица 4.2 – Частоты аллельных сочетаний промоторной области G(-2548)A гена лептина (rs 7799039) у пациентов с МС

Аллельное сочетание	Частота встречаемости		$\chi^2$ набл. / ожд.	Достоверность различий	
	Число случаев	Доля			
		Наблюдаемая			Ожидаемая
<b>GG</b>	20	0,2128	0,2241	0,0006	н.д.
<b>GA</b>	49	0,5213	0,4986	0,0010	н.д.
<b>AA</b>	25	0,2659	0,2773	0,0005	н.д.
<b>Всего</b>	<b>94</b>	<b>1,0000</b>	<b>1,0000</b>	<b>0,0021</b>	

Примечание: Различия достоверны с вероятностью \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$

#### *Ген адипонектина*

Среди пациентов с СД наиболее распространенными генотипами были: ТТ (rs2241766) и GT (rs1501299) гена *ADIPOQ* (51,1 и 60,8 %, соответственно). В меньшей степени встречались генотипы TG (rs2241766) и GG (rs1501299) гена *ADIPOQ* (31,8 и 31,6 %, соответственно). При анализе частоты сочетаний аллелей полиморфных вариантов G(276)T гена *ADIPOQ* (rs1501299) среди пациентов с метаболическим синдромом наиболее часто встречалось гетерозиготное сочетание GT с частотой 60,8 % . В 31,6% случаев встречался гомозиготный вариант GG, и наиболее редко – в 7,6% случаев – встречалось гомозиготное сочетание TT (Таблица 4.3, 4.4, 4.5, 4.6).



Таблица 4.3 – Частоты аллельных вариантов T(45)G гена адипонектина (rs 2241766) у пациентов с МС

Аллель	Случаи	Частота аллели
<b>T</b>	126	0,6702
<b>G</b>	62	0,3298
<b>Всего</b>	<b>188</b>	<b>1,0000</b>

Таблица 4.4 – Частоты аллельных сочетаний T(45)G гена адипонектина (rs 2241766) у пациентов с МС

Аллельное сочетание	Частота встречаемости			$\chi^2$ набл. / ожд.	Достоверность различий
	Число случаев	Доля			
		Наблюдаемая	Ожидаемая		
<b>TT</b>	48	0,5106	0,4492	0,0084	н.д.
<b>TG</b>	30	0,3192	0,4420	0,0092	н.д.
<b>GG</b>	16	0,1702	0,1088	0,0347	н.д.
<b>Всего</b>	<b>94</b>	<b>1,0000</b>	<b>1,0000</b>	<b>0,0772</b>	

Примечание: Различия достоверны с вероятностью \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,0,1$

н.д.– недостоверно

Таблица 4.5 – Частоты аллельных вариантов G(276)T гена адипонектина (rs 1501299) у пациентов с МС (“Q9”)

Аллель	Случаи	Частота аллели
<b>G</b>	130	0,6915
<b>T</b>	58	0,3085
<b>Всего</b>	<b>188</b>	<b>1,0000</b>

Таблица 4.6 – Частоты аллельных сочетаний G(276)T гена адипонектина (rs 1501299) у пациентов с МС (“Q9”)

Аллельное сочетание	Частота встречаемости			$\chi^2$ набл./ожд.	Достоверность различий
	Число случаев	Доля			
		Наблюдаемая	Ожидаемая		
<b>GG</b>	42	0,4468	0,4782	0,0021	н.д.
<b>GT</b>	46	0,4894	0,4266	0,0092	н.д.
<b>TT</b>	6	0,0638	0,0952	0,0104	н.д.
<b>Всего</b>	<b>94</b>	<b>1,0000</b>	<b>1,0000</b>	<b>0,0217</b>	

Примечание : Различия достоверны с вероятностью \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , н.д.– недостоверно

### *Ген рецептора адипонектина R1*

При анализе частоты встречаемости аллельных вариантов гена рецептора *ADIPOR1* у пациентов с СД было показано, что наиболее частыми генотипами были TG (rs2275737) – 53,3% и CT (rs2275738) – 50,0%. С меньшей частотой встречались TT (rs2275737) – 27,2 % и CC (rs2275738) – 29,8 % (Таблица 4.7, 4.8, 4.9, 4.10).

Таблица 4.7 – Частоты аллельных вариантов гена рецептора адипонектина (rs 2275737, 12401T>G) у пациентов с МС (“R17”)

Аллель	Случаи	Частота аллели
<b>С</b>	102	0,5484
<b>А</b>	84	0,4516
<b>Всего</b>	<b>186</b>	<b>1,0000</b>

Таблица 4.8 – Частоты аллельных сочетаний гена рецептора адипонектина (rs 2275737, 12401T>G) у пациентов с МС (“R17”)

Аллельное сочетание	Частота встречаемости			$\chi^2$ набл. / ожд.	Достоверность различий
	Число случаев	Доля			
		Наблюдаемая	Ожидаемая	ожд.	
<b>СС</b>	26	0,2796	0,3007	0,0015	н.д.
<b>СА</b>	50	0,5376	0,4953	0,0036	н.д.
<b>АА</b>	17	0,1828	0,2040	0,0022	н.д.
<b>Всего</b>	<b>93</b>	<b>1,0000</b>	<b>1,0000</b>	<b>0,0073</b>	

Примечание: Различия достоверны с вероятностью \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,0,1$

н.д.– недостоверно

Таблица 4.9 – Частоты аллельных вариантов гена рецептора адипонектина (rs 2275738, 12397A>G) у пациентов с МС (“R18”)

Аллель	Случаи	Частота аллели
<b>С</b>	102	0,5484
<b>Т</b>	84	0,4516
<b>Всего</b>	<b>186</b>	<b>1,0000</b>

Таблица 4.10 – Частоты аллельных сочетаний гена рецептора адипонектина (rs 2275738, 12397A>G) у пациентов с МС (“R18”)

Аллельное сочетание	Частота встречаемости			$\chi^2$ набл. / ожд.	Достоверность различий
	Число случаев	Доля			
		Наблюдаемая	Ожидаемая		
<b>СС</b>	27	0,2904	0,3007	0,0004	н.д.
<b>СТ</b>	48	0,5161	0,4953	0,0009	н.д.
<b>ТТ</b>	18	0,1935	0,2040	0,0005	н.д.
<b>Всего</b>	<b>93</b>	<b>1,0000</b>	<b>1,0000</b>	<b>0,0018</b>	

Примечание: Различия достоверны с вероятностью \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,0,1$   
н.д.– недостоверно

### ***Ген рецептора адипонектина R2***

Изучение полиморфизма rs11061971 гена *ADIPOR2* у пациентов с СД показало, что генотипы АА и АТ встречались с частотой 37,6 и 39,8 %, соответственно. Частота встречаемости полиморфных вариантов GG и GA полиморфизма rs16928751 гена *ADIPOR2* была на уровне 75,6 и 20,0 %, соответственно (Таблица 4.11, 4.12, 4.13, 4.14).

Таблица 4.11 – Частоты аллельных вариантов гена рецептора адипонектина (rs 11061971, A>T) у пациентов с МС (“R21”)

Аллель	Случаи	Частота аллели
<b>А</b>	107	0,5691
<b>Т</b>	81	0,4309
<b>Всего</b>	<b>188</b>	<b>1,0000</b>

Таблица 4.12 – Частоты аллельных сочетаний гена рецептора адипонектина (rs 11061971, A>T) у пациентов с МС (“R21”)

Аллельное сочетание	Частота встречаемости			$\chi^2$ набл./ожд.	Достоверность различий
	Число случаев	Доля			
		Наблюдаемая	Ожидаемая		
<b>АА</b>	35	0,3724	0,3239	0,0073	н.д.
<b>АТ</b>	37	0,3936	0,4904	0,0191	н.д.
<b>ТТ</b>	22	0,2340	0,1857	0,0126	н.д.
<b>Всего</b>	<b>94</b>	<b>1,0000</b>	<b>1,0000</b>	<b>0,0390</b>	

Примечание: Различия достоверны с вероятностью \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,0,1$

н.д.– недостоверно

Таблица 4.13 – Частоты аллельных вариантов гена рецептора адипонектина (rs 16928751, 1781033G>A) у пациентов с МС (“R22”)

Аллель	Случаи	Частота аллели
<b>С</b>	154	0,8556
<b>Т</b>	26	0,1444
<b>Всего</b>	<b>180</b>	<b>1,0000</b>

Таблица 4.14 – Частоты аллельных сочетаний гена рецептора адипонектина (rs 16928751, 1781033G>A) у пациентов с МС (“R22”)

Аллельное сочетание	Частота встречаемости		$\chi^2$ набл./ожд.	Достоверность различий	
	Число случаев	Доля			
		Наблюдаемая			Ожидаемая
<b>СС</b>	68	0,7556	0,7321	0,0015	н.д.
<b>СТ</b>	18	0,2000	0,2470	0,0089	н.д.
<b>ТТ</b>	4	0,0444	0,0209	0,0264	н.д.
<b>Всего</b>	<b>90</b>	<b>1,0000</b>	<b>1,0000</b>	<b>0,0368</b>	

Примечание : Различия достоверны с вероятностью \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,0,1$  н.д.– недостоверно

#### 4.2 Частота встречаемости комбинаций между аллельными вариантами генов

При рассмотрении частоты встречаемости *комбинаций между аллельными вариантами генов ADIPOR1 и ADIPOQ* было показано следующее (Таблица 4.15). У пациентов с МС наиболее частыми комбинациями между генами *ADIPOR1* и *ADIPOQ* были AC (rs2275737) / CT (rs2275738) и GT (rs1501299) – 28,6 %, а также AC (rs2275737) / CT (rs2275738) и GG (rs1501299) – 19,7 %.

При рассмотрении частоты встречаемости *комбинаций между аллельными вариантами генов ADIPOR2 (rs11061971) / (rs16928751) и ADIPOQ (rs2241766)* было показано следующее (Таблица 4.16). У пациентов с МС наиболее частыми комбинациями между генами *ADIPOR2* и *ADIPOQ* были AT (rs11061971) / GG (rs16928751) и TT (rs2241766), а также AA (rs11061971) / GG (rs16928751) и TT(rs2241766), составлявшие 17,8 %. Кроме того, комбинация AA (rs11061971) / GG (rs16928751) и GT (rs2241766) встречалась в 10 % исследуемых случаев.

При рассмотрении частоты встречаемости *комбинаций между аллельными вариантами генов ADIPOR2 (rs11061971) / (rs16928751) и ADIPOQ (rs1501299)* было показано следующее (Таблица 4.17). Комбинация AA (rs11061971) / GG (rs16928751) и GT (rs1501299) наблюдалась у 15,5% больных, а комбинации AT (rs11061971) / GG (rs16928751) и GT и GG(rs1501299) – в 14,4 % случаев. Остальные комбинации генов встречались с незначительной частотой.

При рассмотрении частоты встречаемости *комбинаций между аллельными вариантами генов адипонектина (rs7799039) и ADIPOQ (rs2241766)* было показано следующее (Таблица 4.18). Комбинация GA (rs7799039) и TT (rs2241766) встречалась в 27,2 % случаев исследуемого СД2. Также была зарегистрирована достаточная частота (15,2 %) комбинации AA (rs7799039) и TT (rs2241766) и GA (rs7799039) и GT (rs2241766).

При рассмотрении частоты встречаемости *комбинаций между аллельными вариантами генов адипонектина (rs7799039) и ADIPOQ (rs1501299)* было показано следующее (Таблица 4.19). Комбинация GA (rs7799039) и GT (rs1501299) встречалась в 29,7 % случаев исследуемого СД2. Также была зарегистрирована достаточная частота (18,1 %) комбинации GA (rs7799039) и GG (rs1501299) и GA (rs7799039) и AA (rs1501299) -13,8 %.

Таблица 4.15 – Частота распределения комбинаций генотипов гена *ADIPOQ* полиморфизма (rs1501299) и гена *ADIPOR1* полиморфизма (rs2275737) и (rs2275738) у пациентов с МС

<i>ADIPOR1</i> (rs2275737) / (rs2275738)	Всего		<i>ADIPOQ</i> (rs1501299)					
			GT		GG		TT	
	n	%	n	%	n	%	n	%
AC (rs2275737) / CT (rs2275738)	46	50,5	26	28,6	18	19,7	2	2,2
CC (rs2275737) / CC (rs2275738)	24	26,4	13	14,3	10	11,0	1	1,1
AA (rs2275737) / TT (rs2275738)	17	18,7	7	7,7	9	9,9	1	1,1
AC (rs2275737) / CC (rs2275738)	3	3,3	1	1,1	1	1,1	1	1,1
CC (rs2275737) / CT (rs2275738)	1	1,1	0	0	1	1,1	0	0
<b>Всего</b>	<b>91</b>	<b>100</b>	<b>47</b>	<b>51,7</b>	<b>39</b>	<b>42,8</b>	<b>5</b>	<b>5,5</b>



Таблица 4.16 – Частота распределения комбинаций генотипов гена *ADIPOQ* полиморфизма (rs2241766) и гена *ADIPOR1* полиморфизма (rs2275737) и (rs2275738) и у пациентов с МС

<i>ADIPOR1</i> (rs2275737) / (rs2275738)	Всего		<i>ADIPOQ</i> (rs2241766)					
			TT		GT		GG	
	n	%	n	%	n	%	n	%
AC (rs2275737) / CT (rs2275738)	44	49,0	22	24,5	16	17,8	6	6,7
CC (rs2275737) / CC (rs2275738)	24	26,5	13	14,4	8	8,8	3	3,3
AA (rs2275737) / TT (rs2275738)	18	20,1	6	6,7	6	6,7	6	6,7
AC (rs2275737) / CC (rs2275738)	3	3,3	3	3,3	0	0	0	0
CC (rs2275737) / CT (rs2275738)	1	1,1	1	1,1	0	0	0	0
<b>Всего</b>	<b>90</b>	<b>100</b>	<b>45</b>	<b>50,0</b>	<b>30</b>	<b>43,5</b>	<b>15</b>	<b>6,7</b>

Таблица 4.17 – Частота распределения комбинаций генотипов гена *ADIPOQ* полиморфизма (rs2241766) и гена *ADIPOR2* полиморфизма (rs11061971) и (rs16928751) у пациентов с МС

<i>ADIPOR2</i> (rs11061971) / (rs16928751)	Всего		<i>ADIPOQ</i> (rs2241766)					
			TT		GT		GG	
	n	%	n	%	n	%	n	%
AT (rs11061971) / GG (rs16928751)	28	31,2	16	17,8	8	8,9	4	4,5
AT (rs11061971) / GA (rs16928751)	8	7,8	4	4,5	1	1,1	2	2,2
AA (rs11061971) / GG (rs16928751)	28	31,1	16	17,8	9	10,0	3	3,3
TT (rs11061971) / GG (rs16928751)	11	13,3	5	5,5	4	4,5	3	3,3
TT (rs11061971) / AA (rs16928751)	2	2,2	0	0	2	2,2	0	0
TT (rs11061971) / GA (rs16928751)	8	7,8	2	2,2	4	4,5	1	1,1
AA (rs11061971) / GA (rs16928751)	3	3,3	1	1,1	1	1,1	1	1,1
AA (rs11061971) / AA (rs16928751)	1	1,1	0	0	0	0	1	1,1
AT (rs11061971) / AA (rs16928751)	1	2,2	1	1,1	1	1,1	0	0
<b>Всего</b>	<b>90</b>	<b>100</b>	<b>45</b>	<b>50,0</b>	<b>30</b>	<b>33,4</b>	<b>15</b>	<b>16,6</b>

Таблица 4.18 – Частота распределения комбинаций генотипов гена *ADIPOQ* полиморфизма (rs1501299) и гена *ADIPOR2* полиморфизма (rs11061971) и (rs16928751) у пациентов с МС

<i>ADIPOR2</i> (rs11061971) / (rs16928751)	Всего		<i>ADIPOQ</i> (rs1501299)					
			GT		GG		TT	
	n	%	n	%	n	%	n	%
AT (rs11061971) / GG (rs16928751)	28	31,0	13	14,4	13	14,4	2	2,2
AT (rs11061971) / GA (rs16928751)	8	8,9	5	5,6	2	2,2	1	1,1
AA (rs11061971) / GG (rs16928751)	28	31,0	14	15,5	12	13,3	2	2,2
TT (rs11061971) / GG (rs16928751)	11	12,4	7	7,9	3	3,4	1	1,1
TT (rs11061971) / AA (rs16928751)	2	2,2	1	1,1	1	1,1	0	0
TT (rs11061971) / GA (rs16928751)	8	9,0	2	2,2	6	6,8	0	0
AA (rs11061971) / GA (rs16928751)	3	3,3	1	1,1	2	2,2	0	0
AA (rs11061971) / AA (rs16928751)	1	1,1	1	1,1	0	0	0	0
AT (rs11061971) / AA (rs16928751)	1	1,1	1	1,1	0	0	0	0
<b>Всего</b>	<b>90</b>	<b>100</b>	<b>45</b>	<b>50,0</b>	<b>39</b>	<b>43,4</b>	<b>6</b>	<b>6,6</b>

Таблица 4.19 – Частота распределения комбинаций генотипов гена адипонектина (rs7799039) и гена *ADIPOQ* (rs2241766) у пациентов с МС

Адипонектин (rs7799039)	Всего		<i>ADIPOQ</i> (rs2241766)					
			ТТ		GT		GG	
	N	%	n	%	n	%	n	%
GG	19	20,7	9	9,8	10	9,8	1	1,1
GA	47	51,1	25	27,2	14	15,2	8	8,7
AA	26	28,2	14	15,2	5	5,4	7	7,6
Всего	92	100,0	48	52,2	28	30,4	16	17,4

Таблица 4.20 – Частота распределения комбинаций генотипов гена адипонектина (rs7799039) и гена *ADIPOQ* (rs1501299) у пациентов с метаболическим синдромом

Адипонектин (rs7799039)	Всего		<i>ADIPOQ</i> (rs1501299)					
	N	%	GG		GT		TT	
			n	%	n	%	n	%
GG	20	21,2	10	10,6	10	10,6	0	0
GA	49	52,2	17	18,1	28	29,8	4	4,3
AA	25	26,6	13	13,8	10	10,6	2	2,2
Всего	94	100,0	30	42,5	48	51,0	6	6,5

### 4.3 Сравнительный анализ распределения полиморфизмов генов в контрольной группе и в группе с сахарным диабетом 2 типа

У пациентов с МС в промоторной области A/G гена *LEP G* (-2548) A (rs7799039) аллель A был обнаружен с частотой 33,1 % (Таблица 4.21). Анализируя частоты аллельных комбинаций, было установлено, что гетерозиготная комбинация GA была наиболее распространенной – в 50,7 %. Гомозиготные варианты AA и GG были обнаружены у пациентов с МС в 22,7 % и 26,6 % соответственно. Анализ частоты сочетаний этих аллельных вариантов продемонстрировал преобладание гетерозиготной комбинации AA как среди пациентов с МС, так и у здоровых людей (Таблица 4.21, Рисунок 4.1). Генотип AA был обнаружен с большей частотой при МС, в то время как GG был обнаружен в контрольной группе. В то же время частота генотипов AA, AG и GG полиморфизма гена G(-2548)A гена *LEP* среди пациентов с МС не имела различий по сравнению с контрольной группой.

Таблица 4.21 – Гены адипонектина и лептина, аллели рецепторов и частота распределения полиморфизма генотипа у пациентов с СД2 по сравнению с контрольной группой

Гены	Полиморфизмы	Контрольная группа			СД2 пациенты			$\chi^2, p$	ОШ (95% CI)
		Комбинации аллелей	Количество случаев		Комбинации аллелей	Количество случаев			
			Абс.	Пропорции		Абс.	Пропорции		
<i>ADIPOQ</i>	+ 45 T/G rs2241766	TT	87	0,87	TT	105	0,507	30,3 < 0,001	0,1 (0,07–0,31)
		TG	11	0,11	TG	67	0,324	11,8 < 0,001	3,81 (1,79–8,09)
		GG	2	0,02	GG	35	0,169	11,4 < 0,001	10,0 (2,25–44,7)
	+ 276 G/T rs1501299	GG	43	0,43	GG	101	0,489	ns	
		GT	48	0,48	GT	99	0,478	ns	
		TT	9	0,09	TT	7	0,033	ns	
<i>ADIPOR1</i>	–102 T/G rs2275737	TT	33	0,33	TT	58	0,280	ns	
		TG	52	0,52	TG	114	0,551	ns	
		GG	15	0,15	GG	35	0,169	ns	

Продолжение таблицы 4.21									
	-106 T/C rs 2275738	CC	30	0,30	CC	60	0,289	ns	
		CT	54	0,54	CT	108	0,522	ns	
		TT	16	0,16	TT	39	0,189	ns	
<i>ADIPOR2</i>	+ 219 A/T rs11061971	AA	28	0,28	AA	77	0,372	ns	
		AT	24	0,24	AT	80	0,386	3,95, 0,047	1,94 (1,05–3,5)
		TT	48	0,48	TT	50	0,242	11,5, < 0,001	0,34 (0,18–0,62)
	+ 795 G/A rs16928751	GG	78	0,78	GG	157	0,759	ns	
		GA	21	0,21	GA	41	0,198	ns	
		AA	1	0,01	AA	9	0,043	ns	
<i>LEP</i>	rs7799039	GG	31	0,31	GG	20	0,2	ns	
		GA	52	0,52	GA	49	0,49	ns	
		AA	17	0,17	AA	25	0,25	ns	

Условные обозначения: ns- не существенно; ОШ, отношение шансов



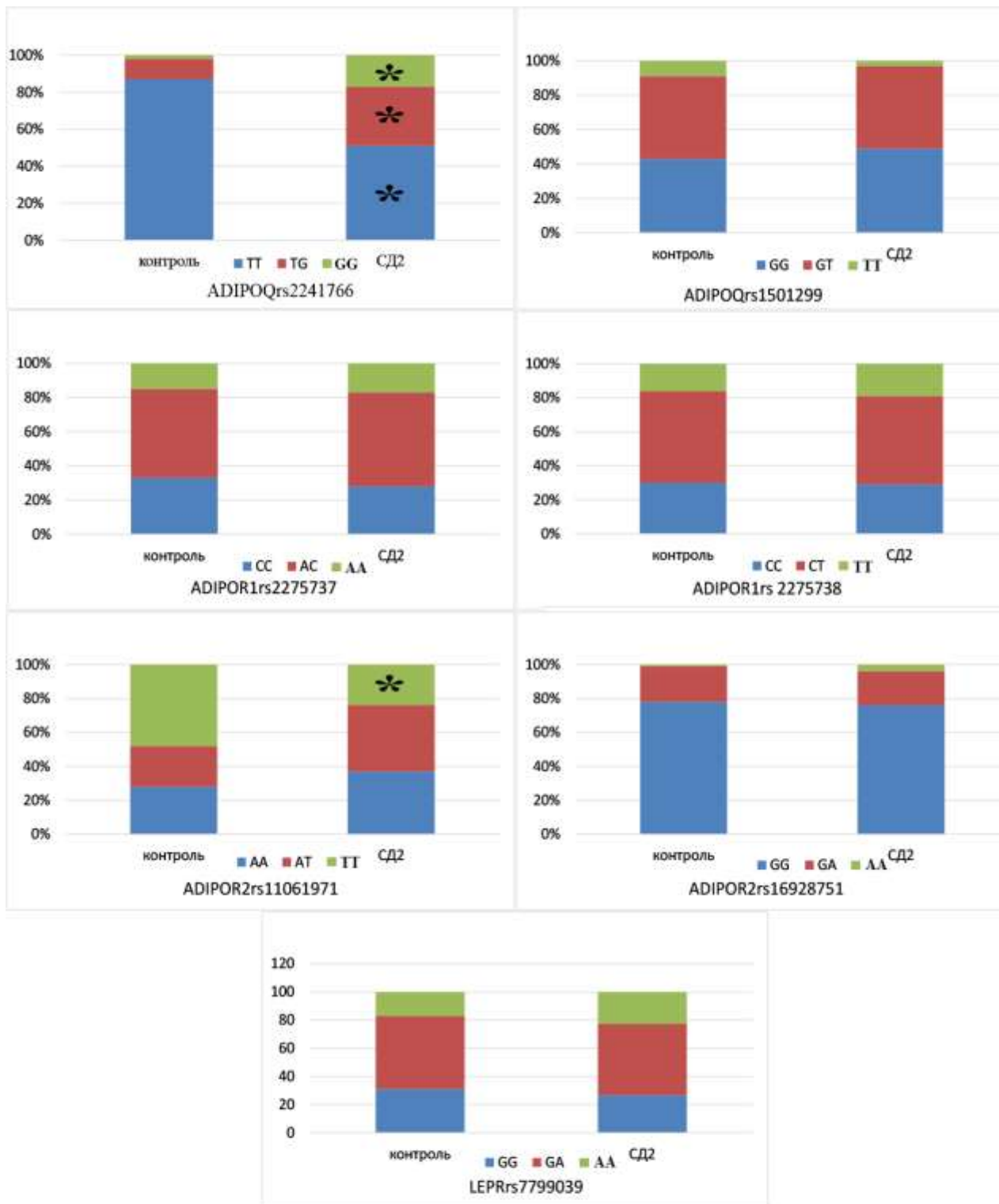


Рисунок 4.1 – Распределение аллелей полиморфизма генотипа у больных сахарным диабетом по сравнению со здоровыми лицами. Примечания: символы генотипов приведены на графиках, \* — p-значение < 0,05

Среди пациентов с СД2 наиболее распространенным генотипом гена *ADIPOQ* был ТТ (rs2241766) (50,7 %), что наблюдалось реже в контрольной группе (87,0%;  $p < 0,001$ ) (Таблица 4.21, Рисунок 4.1). Количество генотипов гена *ADIPOQ* TG и GG + 45 T/G (rs2241766) было значительно ниже, чем в контрольной группе (11,0 % и 2,0 %, соответственно) по сравнению с группой СД2 (32,4 % и 16,9 %, соответственно;  $p < 0,001$ ). Генотипы TG и GG были связаны с риском развития СД2 (ОШ (95% ДИ) = 3,81 (1,79–8,09) и ОШ (95% ДИ) = 10,0 (2,25–44,7). Однако обе комбинации GG и GT + 276 Г/Т (rs1501299) (48,9 % и 47,8 %, соответственно) существенно не отличались по сравнению с контрольной группой (43,0% и 48,0% соответственно). Генотип ТТ (rs1501299) гена *ADIPOQ* в группе пациентов с СД2 был обнаружен в меньшей степени, чем в контрольной группе (3,3 % и 9,0 %, соответственно; Таблица 4.21).

Анализ частоты аллельных вариантов *ADIPOR1* у пациентов с СД2 показал, что наиболее распространенными генотипами являются полиморфизм TG –102 T/G (rs2275737) (55,1%) и полиморфизм СТ – 106 Т/С (rs2275738) (52,2%) (в контроле 52,0 % и 54,0 %, соответственно) (Рисунок 4.1). Генотипы ТТ (rs2275737) и СС (rs2275738) были обнаружены с меньшей частотой в группе пациентов с СД2 (28,0 % и 28,9 %, соответственно; Таблица 4.21), что было меньше, чем в контрольной группе (33,0 % и 30,0 %, соответственно).

Изучение полиморфизма гена *ADIPOR2* + 219 А/Т (rs11061971) у пациентов с СД2 показало, что генотипы АА и АТ имели частоту 37,2 % и 38,6% соответственно (контроль, 28,0 % и 24,0 %;  $\chi^2 = 3,95$ ,  $p = 0,047$ ) (Рисунок 4.1, Таблица 4.21). ОР (95% ДИ) для генотипа гена *ADIPOR2* АТ + 219 А/Т (rs11061971) составил 1,94 (1,05–3,5). Показатель ОШ заставил нас рассматривать этот полиморфизм как фактор риска развития СД2. Частота генотипа *ADIPOR2* ТТ + 219 А/Т (rs11061971) была статистически значимо ниже в группе пациентов с СД2 (24,2 % по сравнению с 48 % в контрольной группе;  $\chi^2 = 11,5$ ,  $p < 0,001$ ), что свидетельствовало о том, что этот полиморфизм защищает от риска развития СД2 (ОШ (95 % ДИ) = 0.34 (0.18–0.62)).

Наиболее распространенной комбинацией вариантов гена *ADIPOR1* была TG -102 T/G (rs2275737)/CT -106 T/C (rs2275738), наблюдаемая у 49,0 % пациентов с СД2 (Рисунок 4.1, Таблица 4.21). Следующими двумя наиболее распространенными комбинациями вариантов гена *ADIPOR1* были TT -102 T/G(rs2275737)/CC -106 T/C (rs2275738), наблюдаемые у 26,5 % пациентов, и GG -102 T/G (rs2275737)/TT -106 T/C (rs2275738), наблюдаемые у 20,1 %; 14,4 % пациентов были носителями как генотипа TT полиморфизма гена *ADIPOQ* + 45 T/G (rs2241766), так и полиморфизма гена *ADIPOR1* GG -102 T/G (rs2275737)/CC -106 T/C (rs2275738).

Частота полиморфизма гена *ADIPOR2* + 795 G/A (rs16928751) полиморфных вариантов GG и GA составила соответственно 75,9 % и 19,8 % в группе пациентов с СД2, что было меньше, чем в контрольной группе (78,0% и 21,0%; (Рисунок 4.1). Наиболее редко наблюдаемым генотипом *ADIPOR2* + 795 G/A (rs16928751) был полиморфный вариант AA, 4,3 % в группе больных сахарным диабетом и 0,01 % в контрольной группе.

При изучении комбинаций полиморфизма гена *ADIPOR2* + 219 A/T (rs11061971) и + 795 G/T (rs16928751) наиболее частыми комбинациями были + 219 A/T (rs11061971)/GG + 795 G/T (rs16928751) (31,2%) и AA + 219 A/T (rs11061971)/GG + 795 G/T (rs16928751) (31,1%) (Рисунок 4.1). Эти комбинации встречались с одинаковой частотой (17,8%) у пациентов с СД2, которые были носителями генотипа *ADIPOQ* гена TT + 45 T/G (rs2241766). Частота комбинации генов *ADIPOR2* +219 A/T (rs11061971)/GG + 795 Г/T (rs16928751) была обнаружена одинаково (14,4 %) у носителей полиморфизма GT и GG *ADIPOQ* + 276 Г/T (rs1501299). Частота комбинации AA + 219 A/T (rs11061971)/GG + 795 Г/T (rs16928751) у носителей GT и GG полиморфизма *ADIPOQ* + 276 Г/T (rs1501299) составила 15,5 % и 13,3 %, соответственно.

#### **4.3 Ассоциация генотипов генов лептина, *ADIPOQ*, *ADIPOR1* и *ADIPOR2* с основными клиническими проявлениями метаболического синдрома**

Было обнаружено, что средний показатель HbA1c у пациентов с СД2 составил 8,45 % (7,15–9,95 %). Уровень глюкозы в крови натощак в этой группе пациентов составлял 9,2 ммоль/л (6,1–11,1 ммоль/л), а концентрация холестерина достигала 5,1 ммоль/л (4,6–7,3 ммоль/л). Средние значения артериального давления составляли систолическое 130,0 мм рт. ст. (110–140 мм рт. ст.) и диастолическое 85,0 мм рт.ст. (80,0–90,0 мм рт. ст.). Средний ИМТ был рассчитан на уровне 33,9 кг/м<sup>2</sup> (26,0–38,7 кг/м<sup>2</sup>). В контрольной группе (Таблица 4.22) были выявлены нормогликемия, нормохолестеринемия и физиологические уровни HbA1c, а также нормотензия.

Таблица 4.22 – Компоненты МС у пациентов с СД2 в отношении полиморфизмов генов адипонектина и лептина и их рецепторов

Генотипы		НbA1c	Глюкоза	Холестерин	АД систолическое	АД диастолическое	ИМТ
Контрольная группа		4,8	5,2	4,6	110	72	24,6
		(4,1–6,0)	(3,6–5,8)	(3,6–6,2)	(90–118)	(65–80)	(21,4–28,9)
<i>ADIPOQ</i>							
+ 45 T/G rs2241766	TT	8,65	9,4	4,9	130	83	33,2
		(6,8–10,2)	(6,3–11,7)	(4,2–7,9)	(110–140)	(80–90)	(26,0–38,7)
	GT	8,6	8,8	5,7	140	85	33,9
		(6,8–10,3)	(6,9–11,0)	(4,8–7,3)	(110–155)	(80–90)	(27,3–40,0)
GG	8,9	10,4	5,4	135	90	33,0	
	(8,4–9,5)	(6,1–12,0)	(4,8–6,7)	(106–150)	(80–101)	(26,7–34,3)	
+ 276 G/T rs1501299	GG	8,5	10,2	5,3	130	85	33,9
		(6,5–9,9)	(6,3–11,6)*	(4,6–7,3)	(110–145)	(80–95)	(29,1–36,3)
	GT	8,6	8,8	5,6	130	90	33,6
		(7,5–10,3)	(6,1–10,7)	(4,8–7,2)	(110–140)	(80–95)	(26,7–41,5)
	TT	9,0	8,4	6,6	130	80	33,9
<i>ADIPOR1</i>							
102 T/G rs2275737	TT	6,6	6,6	5,8	130,0	80	31,9
		(6,1–8,4)	(5,1–9,1)	(4,7–6,8)	(120–150)	(80–85)	(27,8–34,3)

	TG	9,0	9,6	5,6	130	85	34,1
		(7,2–10,5)*	(7,9–11,8)	(4,9–7,3)	(110–140)	(80–90)	(28,8–37,7)
	GG	8,8	9,8	5,1	140	90	36,5
		(8,3–9,9)	(6,9–11,0)	(4,6–6,2)	(116–160)	(87,5–100,5)	(28,4–40,9)
– 106 T/C rs2275738	TT	8,7	10,0	5,3	140	90	34,3
		(7,6–9,9)	(6,2–11,3)*	(4,8–6,7)	(105–160)	(80–101)	(26,7–40,0)
	CT	8,3	9,2	5,4	130	85	34,7
		(6,8–10,0)	(7,3–11,2)	(4,4–7,8)	(110–140)	(80–90)	(31,8–41,5)
	CC	9,0	8,8	6,2*	130	80	28,3
		(6,2–10,2)	(6,3–10,7)	(4,9–7,0)	(120–160)	(80–100)	(26,0–33,9)
<i>ADIPOR2</i>							
+ 219 A/T rs11061971	AA	8,8	9,75	5,7	125	87,5	34,3
		(7,6–9,9)	(7,9–11,3)	(4,8–6,7)	(115–140)	(75–101)	(26,7–40,0)
	AT	8,7	9,8	5,2	130	80	31,2
		(6,5–10,5)	(5,8–11,7)	(4,6–6,4)	(130–155)	(80–90)	(26–36,6)
	TT	7,9	8,3	5,4	135	87,5	34,2
		(6,7–9,0)	(6,9–10,0)	(4,9–6,5)	(123–140)	(80–90)	(30,9–40,8)

Продолжение таблицы 4.22

+ 795 G/A rs16928751	GG	8,4	8,8	4,9*	130	82,5*	32
		(6,8–10,1)	(6,1–11,3)	(4,4–7,3)	(110–140)	(70–90)	(26–34,6)
	GA	8,3	7,9	5,9	130	85	38,7

		(6,2–10,5)	(6,2–11,4)	(5,4–10,5)	(110–130)	(80–104)	(33,5–41,5)*
	AA	7,8	9,5	5,5	140	90	30
	<i>LEP</i>						
rs7799039	GG	8,4(6,8-10,0)*	9,2 (7,8-10,6)*	5,2 (4,2-6,5)	157,5 (140,0-170,0)*	85,0 (80,0-90,0)	33,3 (27,3-34,7)
	GA	8,8 (6,7-10,3)*	9,4 (6,9-11,4)*	5,6 (4,8-7,2)	130,0 (113,0-140,0)	80,0 (80,0-95,5)	33,2 (28,3-40,0)
	AA	8,4 (6,8-9,5)*	8,3 (6,1-11,2)	4,9 (4,8-6,8)	130,0 (110,0-140,0)	90,0 (70,0-90,0)	33,9 (26,0-40,8)

Условные обозначения: HbA1c – гликированный гемоглобин (%), глюкоза – концентрация глюкозы в плазме крови натощак (ммоль/л), ХС – концентрация холестерина в плазме крови натощак (ммоль/л), САД – систолическое артериальное давление (мм рт. ст.), ДАД – диастолическое артериальное давление (мм рт. ст.), ИМТ – индекс массы тела (кг/м<sup>2</sup>), \*p < 0,05

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. (Таблица 4.22, Рисунок 4.2). В то же самое время, наивысшее диастолическое АД регистрировалось в группе генотипа AA (90 мм рт. ст.), тогда как уровень холестерина в этой группе не превышал нормальные показатели. С наибольшим уровнем глюкозы и холестерина ассоциировался генотип GA. Ассоциации между ИМТ и генотипом в данной группе не было выявлено, данный показатель соответствовал ожирению I степени во всех выявленных генотипах полиморфизма G (-2548)A гена лептина (rs7799039).

Анализ ассоциации распределения генотипов полиморфизма T (45) G *гена ADIPOQ (rs2241766)* с клиническими проявлениями у пациентов с метаболическим синдромом показал следующее (Таблица 4.22). У носителей генотипа GT полиморфизма T (45) G гена *ADIPOQ (rs2241766)* были выявлены наивысшие значения систолического артериального давления, аналогичная тенденция была характерна для концентрации холестерина и ИМТ. Для носителей генотипа GG полиморфизма T (45) G гена *ADIPOQ (rs2241766)* были выявлены более высокий уровень глюкозы натощак, гликированного гемоглобина и самыми высокими в группе цифрами диастолического артериального давления.

Анализ ассоциации аллелей и генотипов полиморфизма G (276) T *гена ADIPOQ (rs1501299)* показал наивысший уровень сывороточной глюкозы у носителей генотипа GG (10,2 ммоль/л) (Таблица 4.22, Рисунок 4.2). У носителей генотипа GT нами был выявлен самый высокий в группе уровень диастолического АД (90 мм рт. ст.). У носителей генотипа TT данного полиморфизма наблюдалась самая большая концентрация гликированного гемоглобина (9,0 %) и холестерина (6,6 ммоль/л) ИМТ был наибольшим у генотипов GG и TT и составлял 33,9 кг/м<sup>2</sup>. Следует указать, что не наблюдалось ассоциации между генотипами и цифрами систолического АД у всех исследованных генотипов в данной группе. Установлено, что носители генотипа



GG гена *ADIPOQ* + 276 G/T (rs1501299) имели уровень концентрации глюкозы в крови в 1,16 раза, чем носители GT и TT + 276 G/T (rs1501299) ( $p < 0,05$ ) (Таблица 4.22, Рисунок 4.2 ). Носители генотипа TG -102 T/G гена *ADIPOR1* (rs2275737) имели более высокий уровень HbA1c по сравнению с TT -102 T/G (rs2275737) (в 1,36 раза,  $p < 0,05$ ). Носители генотипа TT -106 T/C гена *ADIPOR1* (rs2275738) имели более высокую концентрацию глюкозы в крови в 1,14 раза, чем носители CC -106 T/C (rs2275738) ( $p < 0,05$ ) и TT -106 T/C (rs2275738) (в 1,1 раза,  $p < 0,05$ ).

Анализ ассоциации генотипов полиморфизма *rs2275737 гена ADIPOR1* и основных клинических проявлений у пациентов с метаболическим синдромом выявил ассоциацию генотипа GG с повышением уровня глюкозы натощак, цифрами систолического и диастолического АД и ИМТ на уровне ожирения 2 степени (Таблица 4.22, Рисунок 4. 2). Следует отметить, что уровень холестерина при данном генотипе стремился к нормальному, в то время как при генотипах TT и TG он оставался умеренно-повышенным. Наиболее значительное достоверное повышение гликированного гемоглобина ( $p < 0,05$ ) чаще встречалось у носителей генотипа TG полиморфизма rs2275737 гена *ADIPOR1*.

Анализ ассоциации генотипов полиморфизма *rs 2275738 гена ADIPOR1* и основных клинических проявлений у пациентов с метаболическим синдромом выявил сочетание генотипа TT с артериальной гипертензией (касательно как систолического, так и диастолического АД) и достоверной гипергликемией выше «почечного порога» ( $p < 0,05$ ) (Таблица 4.22, Рисунок 4.2). Генотип CC ассоциировался с наивысшим уровнем гликированного гемоглобина и холестерина натощак; в то же самое время, ИМТ у носителей данного генотипа укладывался в границы предожирения, тогда как генотипы CT и TT ассоциировались с ожирением 1 степени.

Анализ сочетания генотипов полиморфизма *rs11061971 гена ADIPOR2* с клиническими проявлениями у пациентов с метаболическим синдромом не выявил ассоциации со значительными изменениями ИМТ и диастолического АД (Таблица 4.22, Рисунок 4.2). Группа генотипа AA ассоциировалась с

нормальными цифрами систолического АД, но, в то же самое время, с высоким уровнем гликированного гемоглобина и холестерина. У пациентов с генотипами AA и AT полиморфизма rs11061971 также был выявлен высокий уровень глюкозы, соответствующий почечному порогу.

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 полиморфизма *rs16928751*, самый высокий в исследуемой группе ИМТ – 38,7 кг/м<sup>2</sup> (в рамках ожирения 2 степени ( $p < 0,05$ )) у носителей генотипа GA и с высокое значение АД при генотипе AA полиморфизма rs16928751 гена *ADIPOR2* (Таблица 4.22, Рисунок 4.2).

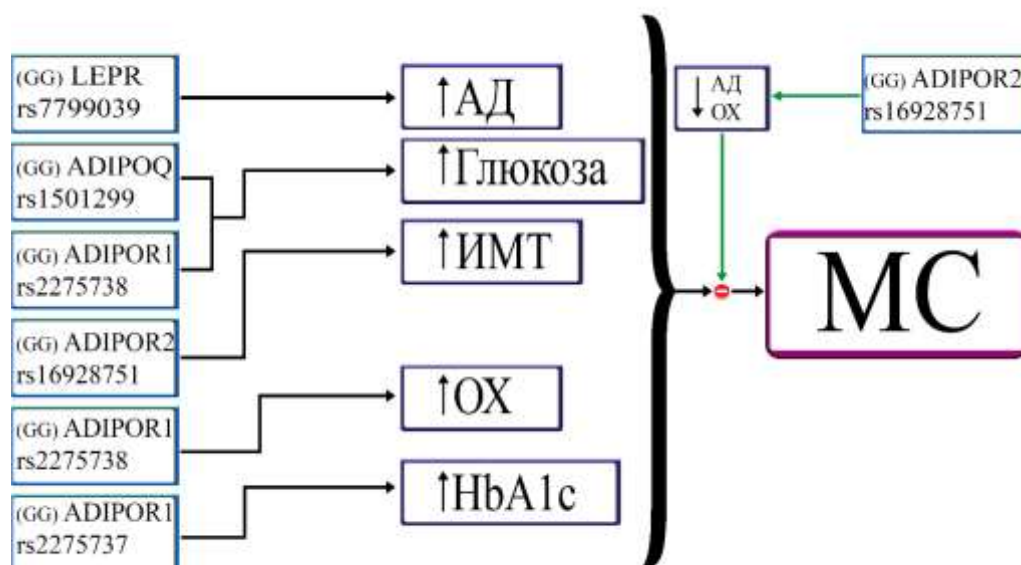


Рисунок 4.2 – Анализ ассоциации генотипов генов лептина, ADIPOQ, ADIPOR1 и ADIPOR2 с основными клиническими проявлениями МС в крымской популяции. Условные обозначения: HbA1c – гликированный гемоглобин (%), глюкоза – концентрация глюкозы в плазме крови натощак (ммоль/л), ХС – концентрация холестерина в плазме крови натощак (ммоль/л), САД – систолическое

артериальное давление (мм рт. ст.), ДАД – диастолическое артериальное давление (мм рт. ст.), ИМТ – индекс массы тела (кг/м<sup>2</sup>)

#### **4.4 Сравнительный анализ ассоциации генотипов генов лептина, *ADIPOQ*, *ADIPOR1* и *ADIPOR2* с основными клиническими проявлениями метаболического синдрома в крымской популяции и основных изученных массивов данных**

Нами было установлено, что в крымской популяции наиболее распространенным генотипом гена *ADIPOQ* (*rs2241766*) среди пациентов с метаболическим синдромом являлся GT. У данного генотипа нами была установлена стойкая ассоциация с артериальной гипертензией и с повышенным ИМТ, что является отличием от европейских и азиатских изученных массивов данных.

Генотип GG полиморфизма G276T в крымской популяции ассоциировался с гипергликемией и повышенным содержанием гликированного гемоглобина, то есть с наибольшим риском развития СД2, как и в русской популяции [165]. В отличие от данных, в которых также прослеживается связь данного генотипа с гипергликемией и повышенным содержанием гликированного гемоглобина, в крымской популяции генотип GG не был связан с гиперхолестеринемией (как в азиатских популяциях) и увеличением ИМТ (как в европейских и российских исследованиях). В то же время, нами установлена ассоциация данного генотипа с повышением диастолического АД, в то время как европейские, так и азиатские исследования не прослеживали связь генотипа GG полиморфизма G276T с повышением систолического АД. Как известно, эндотелиальная дисфункция играет важную роль в патогенезе МС и последующей артериальной гипертензии. Адипонектин модулирует воспалительную реакцию эндотелия *in vitro*, и его концентрация снижается у пациентов с ишемической болезнью сердца и гипертонией. Вопрос о том, связаны ли полиморфизмы гена *ADIPOQ* с

гипертонией, привлекает все большее внимание. Хотя существует много исследований о однонуклеотидном полиморфизме в *ADIPOQ* при гипертонии, три распространенных варианта гена *ADIPOQ*, которыми являются rs2241766 (+45 T > G в экзоне 2), rs1501299 (+276 G > T в интроне 2) и rs266729 (-11377 C > G в проксимальной области промотора), наиболее глубоко изучены [187]. Согласно данным указанного мета-анализа, установлена ассоциация генотипа GG с повышенным риском артериальной гипертензии в европейской популяции. Генетические полиморфизмы *ADIPOQ* rs2241766 (+45T> G), генотип GG, rs1063537, rs2241767 и rs2082940 коррелировали с прогрессированием диабетической нефропатии в азиатской популяции [366]. Патогенез последней, как известно, тесно связан с глюкозотоксичностью, повышением АД и уровня холестерина, что, как указывалось ранее, ассоциируется с указанным генотипом полиморфизма *ADIPOQ* rs2241766 (+45T> G). Также в азиатской популяции установлено, что полиморфизм *ADIPOQ* rs2241766 (+ 45T> G), генотип GG, связан с фенотипами гипертонии и дислипидемии [192]. Аллель варианта G rs2241766 был отрицательно связан с риском метаболически здорового ожирения, а аллель варианта T rs1501299 демонстрировал снижение шансов для метаболически здорового ожирения и метаболически нездорового нормального веса в китайской популяции [159]. Два однонуклеотидных полиморфизма *ADIPOQ* (rs2241766 и rs1501299), согласно исследованиям К. Ghoshal [261], были генетически связаны с риском развития дислипидемии. Полиморфизм rs1501299 был достоверно связан с восприимчивостью к ИБС у жителей Восточной Азии, в то время как полиморфизм rs2241766 – с восприимчивостью к ИБС у жителей Европы, Восточной Азии и Южной Азии [196].

Наш анализ ассоциации генотипов **полиморфизма G (-2548) А гена лептина (rs7799039)** выявил генотип GA как наиболее связанный с развитием МС, так как он ассоциировался с гипергликемией и гиперхолестеринемией. Данная ассоциация является уникальной для крымской популяции, поскольку как в европейских, так и в азиатских исследованиях установлены ассоциации развития СД и МС с другими генотипами полиморфизма G (-2548) А гена

лептина (rs7799039). Полиморфизм *LEP* G2548A в целом, является релевантным маркером МС. Однонуклеотидный анализ показал, что *LEP* 2548AA связан с повышенным ИМТ или ожирением и с более высокой концентрацией лептина [298]. Вариант rs7799039 полиморфизма G (-2548) A гена лептина в исследовании V. Vains и соавт. [201] ассоциировался с повышенным риском развития СД2 в азиатской популяции, а комбинация гаплотипов A-G rs7799039A и rs2167270G в этом же исследовании давала двухкратный риск развития СД2. Исследованием Ferreira-Julio и соавт. [296] установлено, что генотипы AA+GA полиморфизма G(-2548)A гена лептина (rs7799039) при наличии ожирения способствуют снижению уровня ХС ЛПВП и увеличению уровня триглицеридов по сравнению с лицами с нормальным весом. Накопление мутантных аллелей G полиморфизма rs7799039 гена лептина чаще встречается у пациентов с СД2, развившемся на фоне висцерального ожирения и АГ в азербайджанской популяции [15]. Генотип AA (-2548G/A) полиморфизма гена лептина связывают с более высокой частотой гестационной гипертензии [343]. Об этой ассоциации ранее сообщали N. Zayani и соавт. в Тунисе [191], но генотип *LEP* G2548A не наблюдался в качестве фактора риска развития МС в исследованиях из Тайваня [307].

Наиболее распространенный генотип *гена ADIPOQ (rs1501299)* среди пациентов с метаболическим синдромом – GT – ассоциировался в крымской популяции с подъемом диастолического АД, что согласуется с данными европейских и азиатских исследований. Наивысший уровень сывороточной глюкозы наблюдался у носителей генотипа GG, что не прослеживается в изученных метаанализах. Генотип TT данного полиморфизма являлся наиболее диабетогенным, так как при нем наблюдалась самая большая концентрация гликированного гемоглобина и холестерина, и самый высокий ИМТ. В данном случае наблюдается сходство с изученными данными в азиатских популяциях.

Генотип AA полиморфизма rs2275737 *гена ADIPOR1* и генотип TT полиморфизма rs 2275738 *гена ADIPOR1* в крымской популяции наибольшим образом ассоциировался с симптомами СД и МС. В проанализированных

метаанализах генотип *CC* для *ADIPOR1* rs2275737 ассоциировался с риском развития СД<sub>2</sub> в смешанной латиноамериканской популяции [424], а генотипы *AA* и *GG* полиморфизма rs2275738 гена *ADIPOR1* – с повышением индекса НОМА-IR и гестационным СД в русской популяции [16]. Таким образом, установлено существенное отличие вариантов генов, связанных с риском развития СД и МС в крымской популяции.

Ген рецептора к адипонектину 2-го типа, в отличие от 1-го, экспрессируется в основном клетками печени. Это может иметь дополнительное значение в развитии глюкозотолерантности, так как печень является основным депо глюкозы в организме [165]. Анализ генотипов полиморфизма *rs11061971* гена *ADIPOR2* в крымской популяции выявил ассоциацию генотипа *AA* с типичными биохимическими признаками СД (гипергликемия, гиперхолестеринемия и увеличение содержания гликированного гемоглобина). В то же самое время, в русской популяции зафиксирована ассоциация носительства аллеля *A* и снижение риска СД<sub>2</sub>, с то время как аллель *T* повышала указанный риск. Генотип *GG* полиморфизма *rs16928751* гена *ADIPOR2* ассоциировался с ИМТ ожирения 2 степени, то есть, с наибольшим риском МС в крымской популяции. Для полиморфного маркера rs11061971 была обнаружена статистически значимая ассоциация с СД<sub>2</sub> в русской популяции. В то же время, для полиморфного маркера rs16928751 значимых статистических различий обнаружено не было [4]. Аллель +219T rs11061971 и аллель +795A rs16928751 гена *ADIPOR2* были достоверно связаны с более высоким артериальным давлением у больных СД<sub>2</sub> в русской популяции [165]. При анализе ассоциации полиморфного маркера rs11061971 гена *ADIPOR2* обнаружено, что носительство аллеля *A* ассоциировано со снижением риска развития СД<sub>2</sub> в русской популяции, в то время как носительство аллеля *T* повышает риск развития СД<sub>2</sub> [10]. Вариант rs16928751 был связан с уровнем ТГ натошак в европейской популяции лиц с метаболическим синдромом [115]. В целом, нужно отметить недостаток исследований полиморфизма генов *ADIPOR1*, *ADIPOR2* у пациентов с МС.

Несмотря на понимание значительной роли наследственных факторов в формировании МС и СД<sub>2</sub>, генетическая составляющая, ответственная за их

развитие, до сих пор полностью не установлена. Многочисленные мета-анализы популяционных данных не дают однозначного ответа на вопрос о генетических дефектах при МС и СД2.

Очевидно, неоднозначность результатов исследований связана со сложной природой МС и СД2, как многофакторных заболеваний [21]. В крымской популяции подтверждается высокая степень ассоциации изученных полиморфизмов 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.

## ГЛАВА 5

**РЕЗУЛЬТАТЫ БИОЛОГИЧЕСКОГО ТЕСТИРОВАНИЯ IN VITRO  
АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ  
ПРОДУКТОВ ПЕРЕРАБОТКИ ВИНОГРАДА****5.1 Спектральные исследования образцов полифенольных продуктов  
переработки винограда**

Экспериментальные данные по качественному и количественному составу полифенолов винограда, антиоксидантной активности соков, вин и концентратов полифенолов из винограда "Каберне-Совиньон", "Саперави", "Мерло" приведены в таблицах 5.1 и 5.2. Флавоноиды представлены антоцианами в форме гликозидов дельфинидина, мальвидина, цианидина, петунидина, пеонидина, а также кверцетином и его гликозидом, (+)-D-катехином, (-)-эпикатехином. В значительном количестве присутствуют олигомерные процианидины, представляющие собой конденсированные катехиновые единицы (2–6), растворимые в воде, а также полимерные процианидины с количеством катехиновых единиц более 7, не растворимые в воде. Полимерные процианидины составляют основную часть полифенолов вина и концентратов из красных сортов винограда, находятся в продукции в лабильном состоянии; в соке наблюдается полное отсутствие олигомерных и полимерных процианидинов, как известно, обладающих многообразной биологической активностью. Анализ данных по количественному содержанию общих полифенолов в винограде (Таблица 5.1) показывает, что в белых игристых винах массовая концентрация полифенолов колеблется в диапазоне от 0,21 до 0,42 г/л; в розовых 0,31 – 0,44 г/л; в красных 0,84 – 2,35 г/л. Показатель антиоксидантной способности колеблется в диапазоне от 0,51 до 1,42 г/л для тролокса, увеличиваясь с увеличением содержания полифенолов в игристом вине.



Таблица 5.1 – Качественный и количественный состав полифенолов сока, столовых тихих сухих вин, концентратов полифенолов из винограда красных сортов, произведенных в Крыму и на Кубани

Показатели, мг/дм <sup>3</sup>	Опытные образцы сока Института «Магарач»		Вина ГК НПАО «Массандра»			ООО "Фанагория"			ООО "Кубань вино"			ООО "Кубанские вина"			Пищевые концентраты из Каберне-Совиньон ООО «РЕССФУД»		
	Каберне	Мерло	Каберне	Мерло	Саперави	Саперави	Мерло	Каберне	Саперави	Мерло	Каберне-	Саперави	Мерло	Мерло	«Эноант»	«Эноант Премиум»	«Фэнокор»
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
<b>Антоцианы</b>																	
<b>Сумма антоцианов</b>	0,72	26,19	20,30	23,80	23,40	341,90	286,7	292,3	556,2	167,5	133,3	111,7	23,2	66,6	18,90	41,50	0,00
<b>Флавоны</b>																	
Кверцетин-3-О-	0,90	3,66	8,5	15,9	11,5	18,5	15,2	8,9	9,8	36,9	15,7	6,6	5,6	4,6	3,1	3,5	15,4
Кверцетин	-	-	2,8	1,6	1,2	2,8	1,1	0,9	0,7	4,1	0,3	0,5	1,1	0,4	49,6	81,2	10,2
<b>Флаван-3-олы</b>																	
(+)-D-техин	0,07	2,12	34,7	44,8	26,8	31,1	63,6	58,1	58,6	83,5	60,8	38,2	33,3	45,2	177,6	208,5	1752,6
(-)-Эпикатехин	-	-	34,5	47,4	29,7	43,8	58,2	49,9	71,2	78,8	52,9	31,4	40,9	45,1	118,4	127,3	1374,2
<b>Оксикоричные кислоты</b>																	
Кафтаровая кислота	49,76	104,35	45,6	58,0	44,3	24,1	59,8	49,2	69,6	52,7	29,9	36,9	53,5	34,4	11,7	16,9	-
Каутаровая кислота	-	-	7,5	10,0	7,4	2,4	5,7	6,8	11,8	5,4	3,5	3,4	2,8	2,5	1,8	2,4	-
<b>Оксибензойные кислоты</b>																	
Галловая кислота	-	0,23	39,3	42,6	33,8	58,2	41,8	45,0	63,0	67,8	78,1	64,7	65,3	71,5	341,1	465,2	1119,2
Сиреневая кислота	1,68	7,70	7,0	5,3	9,0	6,6	1,9	4,5	4,3	4,0	8,4	5,2	4,7	4,7	22,6	26,2	-

Продолжение таблицы 5.1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Проантоцианидины																	
Олигомерные проантоцианидины	-	-	187	222	200	227	215	188	212	222	221	166	143	164	603	1614	4598
Полимерные проантоцианидины	-	-	3045	3723	3525	2476	1650	1749	2380	2072	2068	2411	2007	1805	28155	38436	172662
Интегральные показатели, г/дм <sup>3</sup>																	
Сумма фенольных веществ ВЭЖХ, г/дм <sup>3</sup>	0,062	0,163	3,43	4,20	3,91	3,23	2,40	2,45	3,44	2,79	2,67	2,88	2,38	2,24	29,50	41,01	181,53
Массовая концентрация фенольных веществ по Фолину-Чокальтеу, г/дм <sup>3</sup>	0,293	0,455	2,36	2,75	2,38	2,14	2,23	2,25	2,69	2,49	2,37	2,59	2,28	2,50	18,51	21,81	82,69
Антиоксидантная активность г/дм <sup>3</sup> , в пересчете на Тролокс	0,079	0,198	4,35	4,56	4,25	3,86	3,75	3,84	4,13	3,85	3,89	3,94	3,81	3,86	24,72	36,48	196,22

Таблица 5.2 – Качественный и количественный состав, антиоксидантная активность розовых и красных игристых вин

Наименование показателя	Розовые игристые вина				Красные игристые вина				
	Вино игристое полусладкое розовое “Золотая Балка”	Вино игристое полусладкое розовое “Мускатное Игристое”	Российское шампанское выдержанное розовое “Новый Свет”	Вино игристое выдержанное брют розовое “Премиум Розовое”	Вино игристое полусладкое красное “Золотая Балка”	Вино игристое полусладкое красное “Крымское” ТМ” Севастопольское игристое”	Вино игристое выдержанное брют красное “Новый свет” Крымское игристое”15	Вино игристое выдержанное полусладкое красное “Новый свет” Крымское игристое”	Вино игристое выдержанное полусладкое красное “Премиум Каберне” Абрау-Дюрсо
Антоцианы мг/дм <sup>3</sup>									
Сумма антоцианов	1,4	2,2	0,6	0	49,1	4,9	10,1	8,2	2,7
Флавоны, мг/дм <sup>3</sup>									
Кверцетин-3-О-глюкозид	0,7	2,4	0,3	2,1	6,9	3,0	1,5	1,7	3,4
Кверцетин	0,1	0,1	-	0,2	0,3	0,5	0,2	0,4	1,2
Флаван-3-олы, мг/дм <sup>3</sup>									
(+) D -катехин	5,1	4,6	10,1	18,1	29,2	15,4	20,0	16,1	18,1
(-) Эпикатехин	7,7	10,5	6,8	2,5	34,5	18,9	16,2	15,7	8,4
Оксикоричные кислоты, мг/дм <sup>3</sup>									
Кафтаровая кислота	28,1	68,8	18,6	12,1	75,4	41,9	36,1	35,7	6,0
Каутаровя кислота	1,8	1,5	2,1	1,6	2,9	2,2	5,0	4,7	1,4
Оксибензойные кислоты, мг/дм <sup>3</sup>									
Галловая кислота	17,7	11,1	13,3	6,4	34,9	40,5	33,6	34,9	66,8
Сиреневая кислота	1,8	1,1	10,1	-	5,7	4,5	3,0	3,2	2,4
Проантоцианидины, мг/дм <sup>3</sup>									
Олигомерные	144,0	116,7	46,0	76,0	185,7	151,0	109,0	104,0	105,0
Полимерные	470,7	240,0	240,0	309,0	2555,2	2353,6	1243,0	1412,0	3021,0
Интегральные показатели, г/дм <sup>3</sup>									
Сумма фенольных веществ по ВЭЖХ	0,68	0,68	0,31	0,40	2,68	2,64	1,41	1,57	3,2
Сумма фенольных веществ по Фолину-Чокальтеу	0,41	0,41	0,41	0,31	1,77	1,66	1,28	1,41	2,30
Антиоксидантная активность в пересчете на тролокс	0,53	0,54	0,64	0,58	0,93	0,87	0,84	0,86	1,42

Среди нефлавоноидных полифенолов идентифицированы оксибензойные (галловая, сиреневая) и оксикоричные (кафтаровая, каутаровая) кислоты, относительное содержание которых в сумме полифенолов максимально в соке, минимально в концентратах. Сумма фенольных веществ в образцах продукции, найденная по данным ВЭЖХ и колориметрически (по реактиву Фолина-Чокальтеу), в пересчете на галловую кислоту систематически различается, что, по-видимому, связано с большей чувствительностью методики ВЭЖХ.

Оценка антиоксидантной активности *in vitro* амперометрическим методом по ГОСТ Р 54037 показала, что величина антиоксидантной активности в единицах тролокса возрастает по мере увеличения концентрации полифенолов в продукции (см. Таблица 5.1, 5.2). При этом данные таблиц 5.1 и 5.2 по величинам антиоксидантной активности и массовой концентрации фенольных веществ аппроксимируются уравнением с коэффициентом корреляции  $R=0,9952$ :

$$Y=0,53627+0,1395X+0,080439X^2-0,00064708X^3, (1),$$

где :  $Y$  - антиоксидантная активность, г/дм<sup>3</sup> в пересчете на тролокс;  $X$  - массовая концентрация фенольных веществ по Фолину-Чокальтеу, г/дм<sup>3</sup>.

Уравнение справедливо в пределах варьирования 1,0 – 82,67 г/дм<sup>3</sup> по фенольным веществам и 0,76 – 196,22 г/дм<sup>3</sup> антиоксидантной активности. Уравнение, обобщающее величины антиоксидантной активности в широком диапазоне изменения концентрации полифенолов для сока, вина и концентратов из красных сортов винограда "Каберне-Совиньон", "Саперави", "Мерло", позволяет косвенно оценить биологическую активность продукции при наличии банка данных, полученных для этой продукции *in vivo*.

Для проведения спектральных исследований нами были отобраны 9 образцов виноматериалов и концентратов, обладающих наибольшим содержанием полифенолов и наивысшей антиоксидантной активностью.

Для спектральных исследований экспериментально подбирали разведения, позволяющие получить объективные данные (Таблица 5.3).

Таблица 5.3 – Разведение образцов для спектральных исследований

<b>Образцы</b>	<b>Объем пробы</b>	<b>мкл образца</b>	<b>Разведение</b>
Мерло	1500	30	50
Саперави	1500	30	50
Каберне	1500	30	50
«Эноант-премиум»	1500	3	500
«Фэнокор»	1500	1	1500
«Эноант»	1500	3	500
Каберне 1,73	1500	30	50
Каберне 4,33	1500	30	50
Каберне 8,58	1500	30	50

Спектры в УФ области показали наличие одинакового пика поглощения при 278 – 279 нм, который соответствует суммарному поглощению фенольных и полифенольных соединений вин (Рисунок 5.1). В спектрах образцов 4, 5, 6 (виноградные концентраты Эноанты и «Фэнокор») наблюдалось более резкое падение оптической плотности, чем в остальных виноматериалах.

Спектры исследуемых образцов в видимой области при разведениях 1:20, представлены на Рисунок 5.2. Отмечено, что виноматериалы одинакового происхождения и способа обработки, обладали сходной формой спектров и близкими максимумами поглощения. Так, для вин крымского происхождения (1, 2, 3), пик поглощения наблюдался при 510 нм, в то время как для вин Краснодарского края максимальное поглощение происходило при 520 – 525 нм.

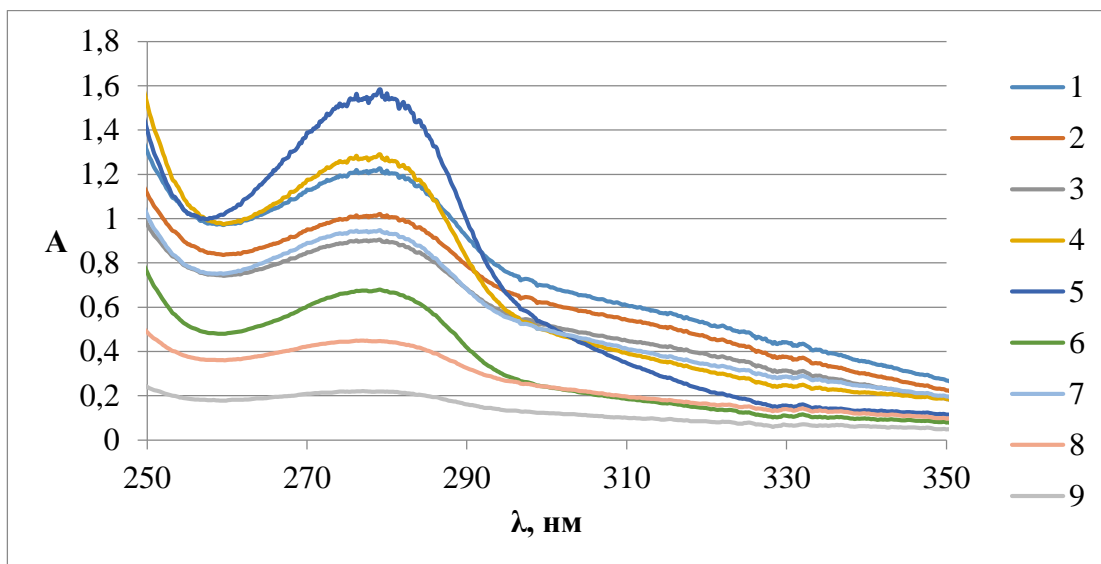


Рисунок 5.1 – УФ-спектры исследуемых образцов

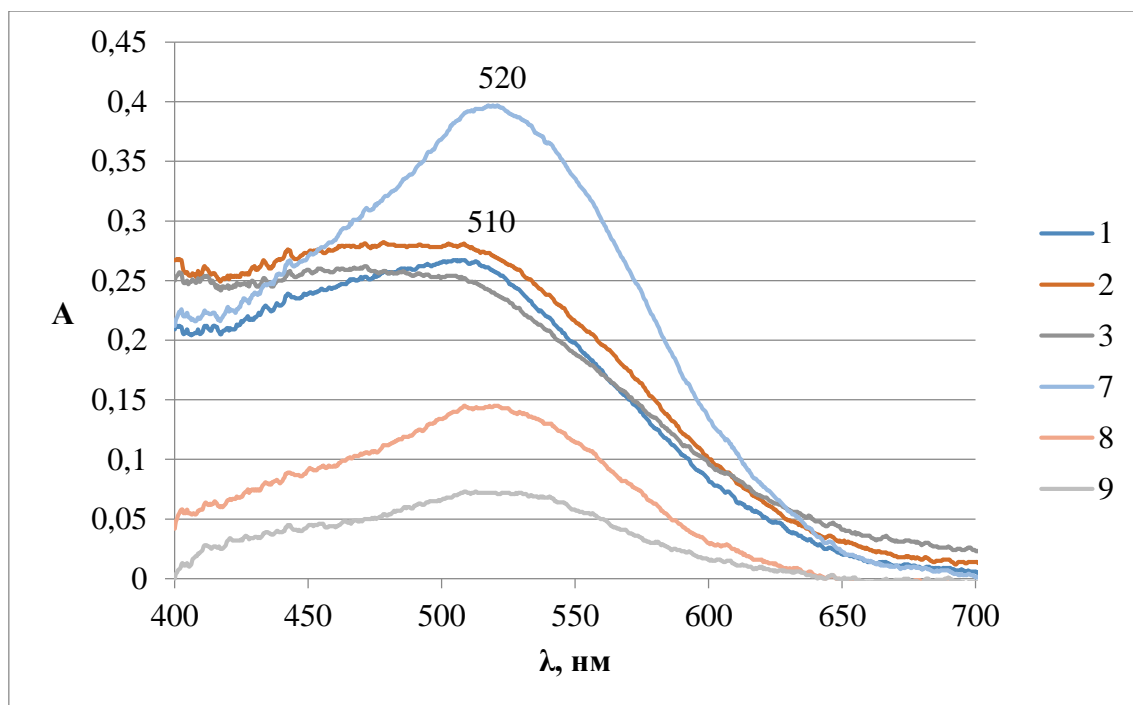


Рисунок 5.2 – Спектры поглощения образцов в видимой области

Виноградные концентраты 4, 5, 6, как видно из Рисунок 5.1, не имели выраженных пиков в видимой области. Однако, для Эноантов (4 и 6) можно

заметить некоторый перегиб в спектрах в области 520–580 нм, который совпадает с наличием у них более интенсивной красной окраски, чем у «Фэнокора» (5) (Рисунок 5.3), что особенно заметно при разведении образцов (Рисунок 5.4). Образец «Фэнокора», цвет которого имел желтоватый оттенок, не содержал максимумов или перегибов в видимой области.

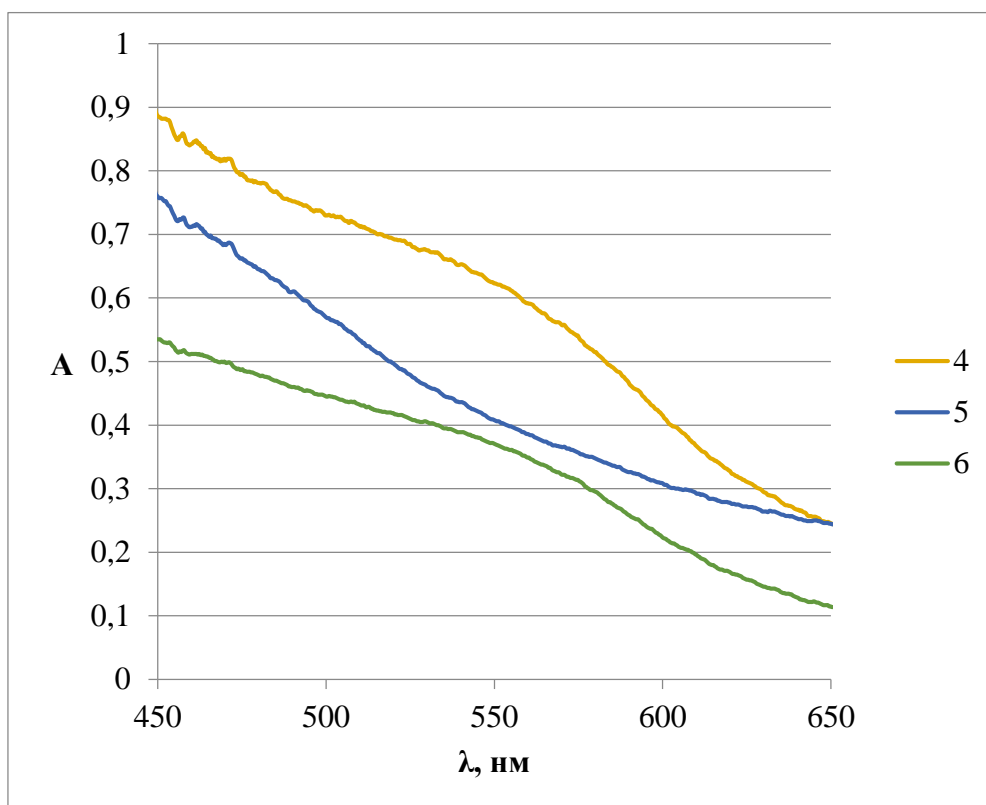


Рисунок 5.3 – Спектры поглощения концентратов «Эноант-премиум» (4, 1:40), «Фэнокор» (5, 1:80) и «Эноант» (6, 1:40)

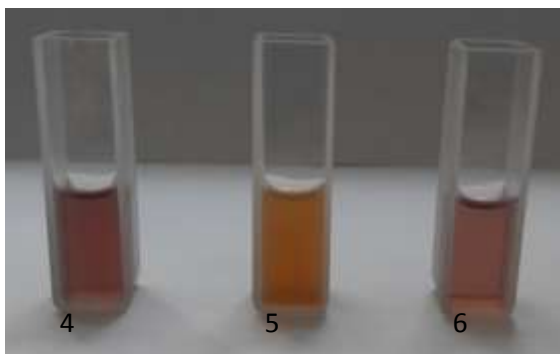


Рисунок 5.4 – Окраска виноградных концентратов: 4 – «Эноант-премиум» (1:20); 5 – «Фэнокор» (1:40); 6 – «Эноант» (1:20)

Исходя из полученных спектральных данных, был произведен приблизительный расчет содержания фенольных/полифенольных компонентов по длине волны 279 нм, и окрашенных флаваноидов по длине волны 510 нм (Таблица 5.4). Полученные данные полностью совпадают с результатами количественного анализа фенолов по Фолину-Чокальтеу (коэффициенты корреляции спектральных данных по фенолам/полифенолам и флавоноидам 0,997 и 0,980, соответственно). Общая АОА по тролоксу также совпадала с данными спектрального анализа с соответствующими коэффициентами корреляции 0,996 и 0,964.



Таблица 5.4 – Спектральные данные по содержанию фенольных соединений и флавоноидов в исследуемых образцах

<b>Образцы</b>	<b>Разведен ие</b>	<b>A (279 нм)</b>	<b>Фенолы, полифенолы</b>	<b>A (510 нм)</b>	<b>Флавоноид ы</b>
Мерло	50	1,226	61,3	0,14	7,0
Саперави	50	1,020	51,0	0,123	6,2
Каберне	50	0,905	45,3	0,090	4,5
«Эноант- премиум»	500	1,290	645,0	0,064	32
«Фэнокор»	1500	1,581	2371,5	0,045	67,5
«Эноант»	500	0,679	339,5	0,03	15,0
Каберне 1,73	50	0,947	47,4	0,117	5,9
Каберне 4,33	50	0,447	22,4	0,056	2,8
Каберне 8,58	50	0,219	11,0	0,031	1,6

## **5.2 Исследование антиоксидантной активности образцов на биологической модели люминесцентных бактериях**

На первом этапе для испытания люминесцентных бактерий в качестве модели для изучения АОА проводили изучение воздействия двух антиоксидантных веществ галловой кислоты (нефлаваноидное фенольное соединение) и кверцетина (флавоноид), на интенсивность бактериальной люминесценции. В качестве водорастворимой формы кверцетина использовали препарат Корвитин, представляющий собой комплекс кверцетина с поливинилпирралидоном.

Оба препарата оказывали сходное ингибирующей действие на биолюминесценцию бактерий, которое отмечалось через 10 мин воздействия и усиливалось при 18-часовом тесте на хроническое действие (Рисунок 5.5). В

последнем случае наблюдалось более сильное хроническое действие корвитина, по сравнению с галловой кислотой.

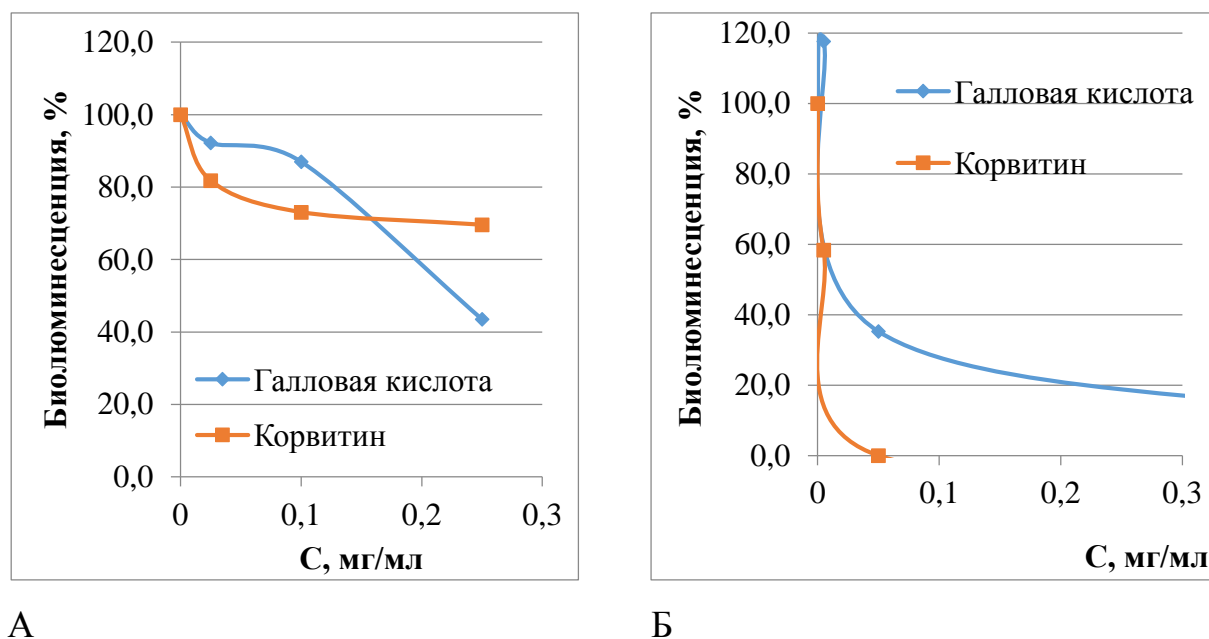


Рисунок 5.5 – Действие галловой кислоты и корвитина на билюминесценцию *P. leiognathi* Sh1: А – 10 минутный тест; Б – 18-часовой тест

Далее было изучено действие образцов виноматериалов и виноградных концентратов на билюминесценцию фотобактерий (Рисунок 5.6). Результаты оценки острого действия (10 и 30 мин) показали более сильное воздействие концентратов (4, 5, 6), по сравнению с образцами вин. Также было отмечено, что разведение вин в образцах 7, 8, 9 приводило к снижению ингибирующего действия на билюминесценцию.

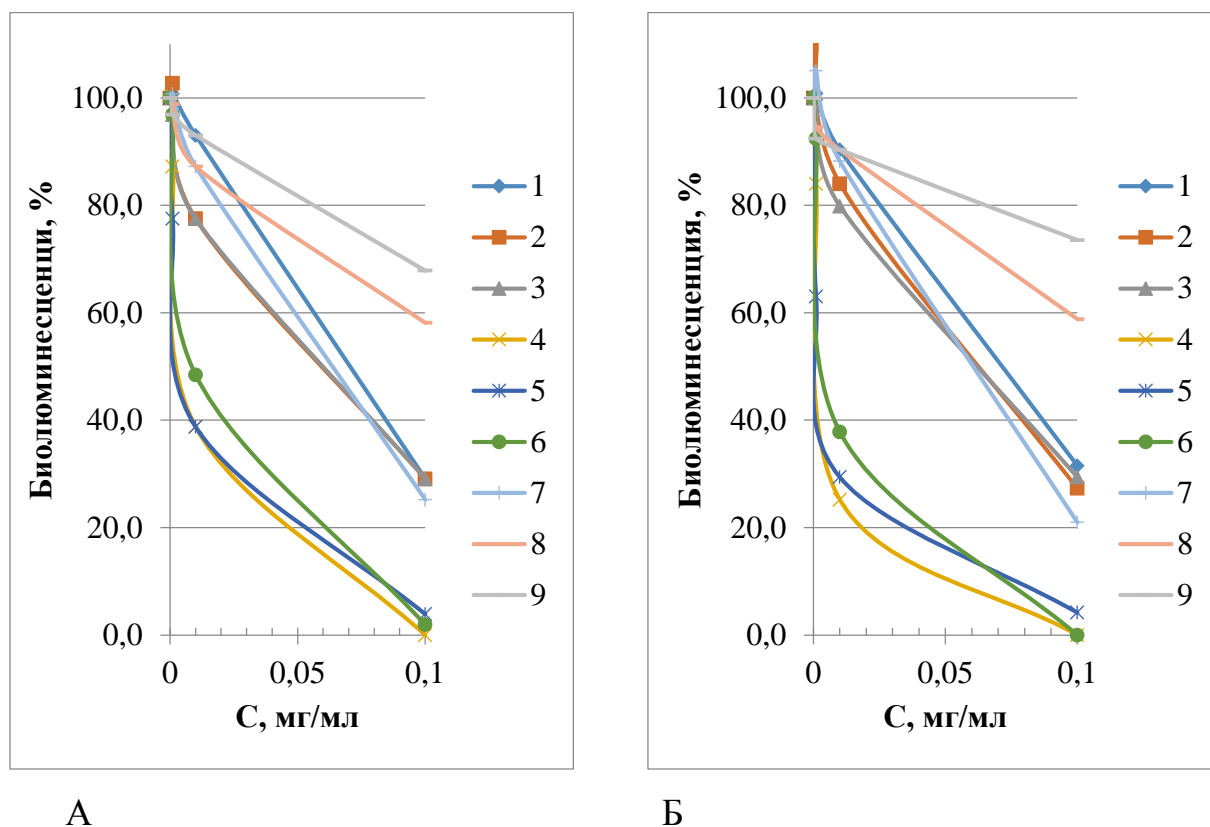


Рисунок 5.6 – Действие исследуемых образцов виноматериалов на билюминесценцию *P. leiognathi* Sh1: А – 10 минутный тест; Б – 30 минутный тест.

При использовании 18-часового биотеста на хроническое действие отмечено изменение в действии полифенольных концентратов (Рисунок 5.7). Если при 10 и 30 минутных тестах, ингибирование билюминесценции Эноантами и «Фэнокором» было практически одинаково, то 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 (Рисунок 5.8). Остальные закономерности ингибирования билюминесценции исследуемыми образцами оставались постоянными.

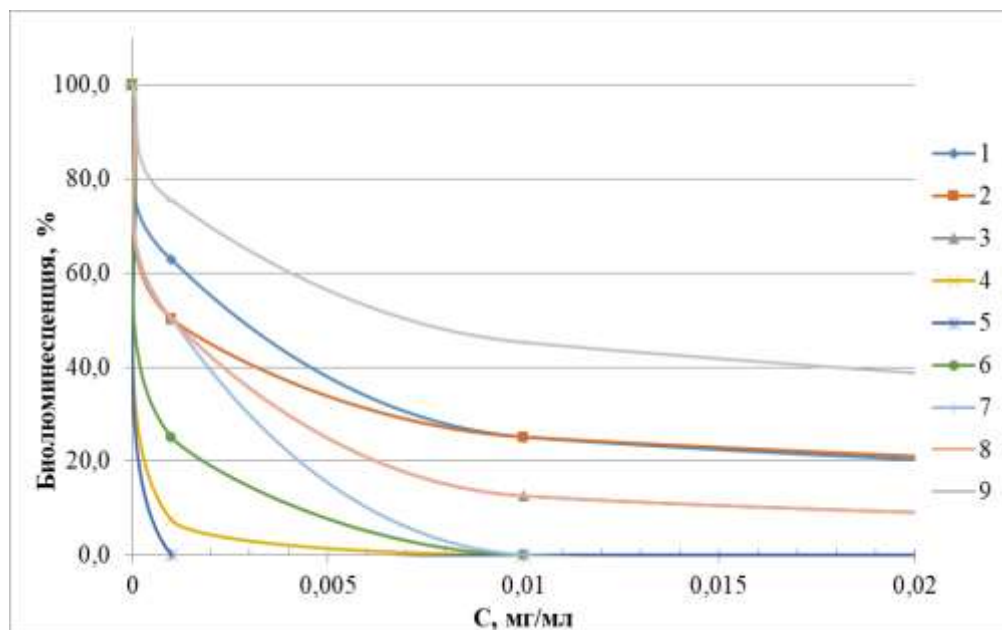


Рисунок 5.7 – Хроническое действие исследуемых образцов виноматериалов на биолюминесценцию *P. leiognathi* Sh1, 18-часовой тест

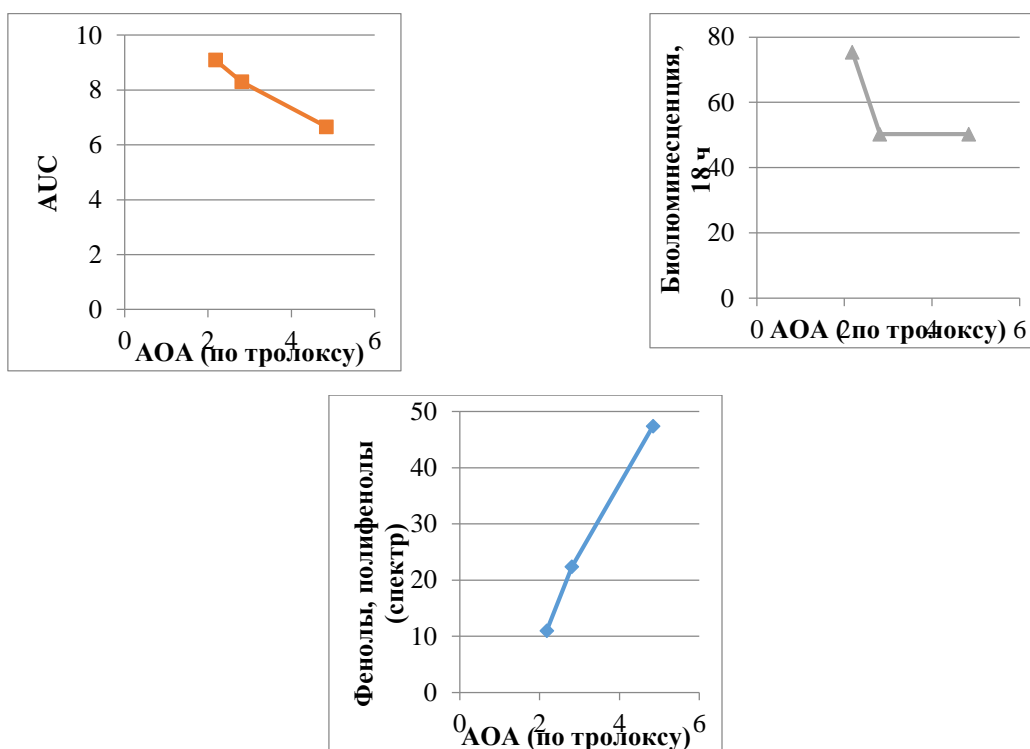


Рисунок 5.8 – Сравнение различных показателей АОА разведений образцов вина (образцы 7, 8, 9)

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. 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). 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. Как видно из Таблица 5.5, между результатами биотестирования на светящихся бактериях и спектральными данными по содержанию антиоксидантов, наблюдается достаточно строгая обратная корреляция. Более высокое содержание антиоксидантов в образцах приводит к более сильному ингибированию бактериальной биолюминесценции и более низким показателям интенсивности свечения тест-бактерий. Наиболее высокие коэффициенты корреляций наблюдались при использовании значений биолюминесценции в 10 и 30-минутном тесте при концентрации 0,01 мг/мл, а также в 18-часовом тесте на хроническое действие, при 0,001 мг/мл.

Таблица 5.5 – Корреляция спектральных данных по АОА образцов и данных биотестирования на светящихся бактериях

Образец	Билюминесценция, отн.ед ( мин (ч) / мг/мл)			Спектральные данные	
	10/ 0,01	30 / 0,01	18 ч / 0,001	Фенолы, полифенолы	Флавоноиды
Мерло	93,02	90,34	62,81	61,3	7
Саперави	77,52	84,03	50,25	51,0	6,2
Каберне	77,52	79,83	50,25	45,3	4,5
«Эноант-премиум»	38,76	25,21	7,54	645	32
«Фэнокор»	38,76	29,41	0,00	2371,5	67,5
«Эноант»	48,45	37,82	25,13	339,5	15
Каберне 1,73	87,21	88,24	50,25	47,4	5,9
Каберне 4,33	87,21	90,34	50,25	22,4	2,8
Каберне 8,58	93,02	90,34	75,38	11	1,6
Корреляция фенолы, полифенолы (Кпф)	-0,730	-0,719	-0,790		
Корреляция флавоноиды (Кфл)	-0,811	-0,804	-0,864		

В качестве показателей АОА в биолюминесцентном тесте использовался и такой показатель графической зависимости, как площадь под кривой (Area Under Curve, AUC). Так, корреляции этого показателя при 10-минутном биолюминесцентном тесте с данными по содержанию фенолов/полифенолов и флавоноидов составляли 0,677 и 0,770, соответственно. Также использование AUC для выражения АОА, показало лучшие результаты при разбавлении виноматериалов (пробы 7,8,9). Как видно из Рисунок29, линейное увеличение содержания фенольных соединений (по спектральным данным) приводит к пропорциональным изменениям АОА (по тролоксу). Такая же линейная зависимость наблюдается при сравнении значений AUC по данным биолюминесцентного метода с данными АОА по тролоксу. При использовании значений биолюминесценции бактерий в качестве показателя АОА (Таблица 42), линейной зависимости от данных АОА не наблюдалось.

Таким образом, проведен качественный и количественный физико-химический анализ антиоксидантной активности продуктов переработки красных сортов винограда "Каберне Совиньон", "Мерло", "Саперави", получено экспериментальное уравнение для расчетов антиоксидантной активности образцов в единицах тролокса.

Также была показана достоверность биотеста на люминесцентных тест-бактериях *Photobacterium leiognath* Sh1 для оценки антиоксидантной активности виноматериалов и виноградных концентратов.

Коэффициенты корреляции значений антиоксидантной активности, полученных с использованием биотеста на светящихся бактериях (хроническое действие, 18 ч), с данными ВЭЖХ, результатами определения по Фолину-Чокальтеу и тролоксу составляли 0,75-0,81.

## ГЛАВА 6

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ ПРОДУКТОВ  
ПЕРЕРАБОТКИ ВИНОГРАДА В КОРРЕКЦИИ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО  
СИНДРОМА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

**6.1 Степень и характер соматометрических изменений и морфологических  
изменений органов-мишеней при моделировании метаболического  
синдрома у экспериментальных животных в условиях его коррекции  
полифенольными продуктами переработки винограда**

Масса тела крыс групп Э2 и Э3 была выше контрольных цифр на 40 % и 55 %, соответственно ( $p < 0,05$ ), что сопровождалось увеличением окружности живота на 16 % и 50 % ( $p < 0,05$ ). Масса абдоминальной жировой клетчатки у животных группы Э2 увеличилась на 23 %, а в группе Э3 – на 21 % ( $p < 0,05$ ) (Таблица 6.1 , Рисунок 6.1).

Таблица 6.1 – Сравнительный анализ массы тела, окружности живота и массы абдоминальной жировой клетчатки у крыс по окончании эксперимента, данные представлены в виде Me (Q1, Q3)

Группа	Масса тела, г	Окружность живота, см	Масса абдоминальной жировой клетчатки, г
К1	179,5(178,5, 185)	12(12,13)	35(33,33)
К2	300(300, 329,5)*	19,4(18,5, 20,5)*	42,5 (35,40)*
Э1	179(172,5, 204,5)	12(12, 13,5)	34,5(35,34)
Э2	252,5(250,257)*	14(13,5, 15)*	43(44,42)*
Э3	277,5(273,5, 288)*	18(17, 19,5)*	42,5(42,43)
Э4	300 (299, 300)*	20 (19,5, 21,5)*	45(44,46)*

Примечание: \*  $p < 0,05$  по сравнению с группой К1.



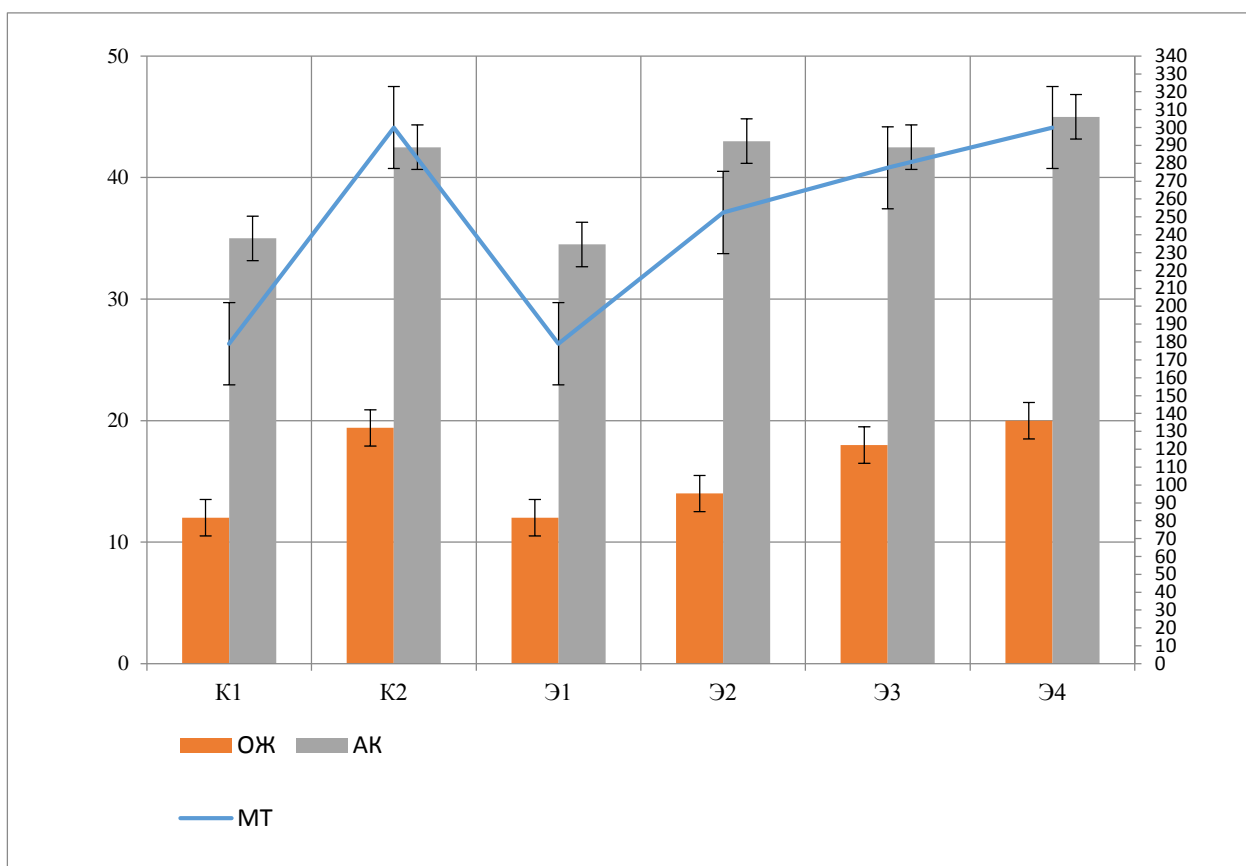
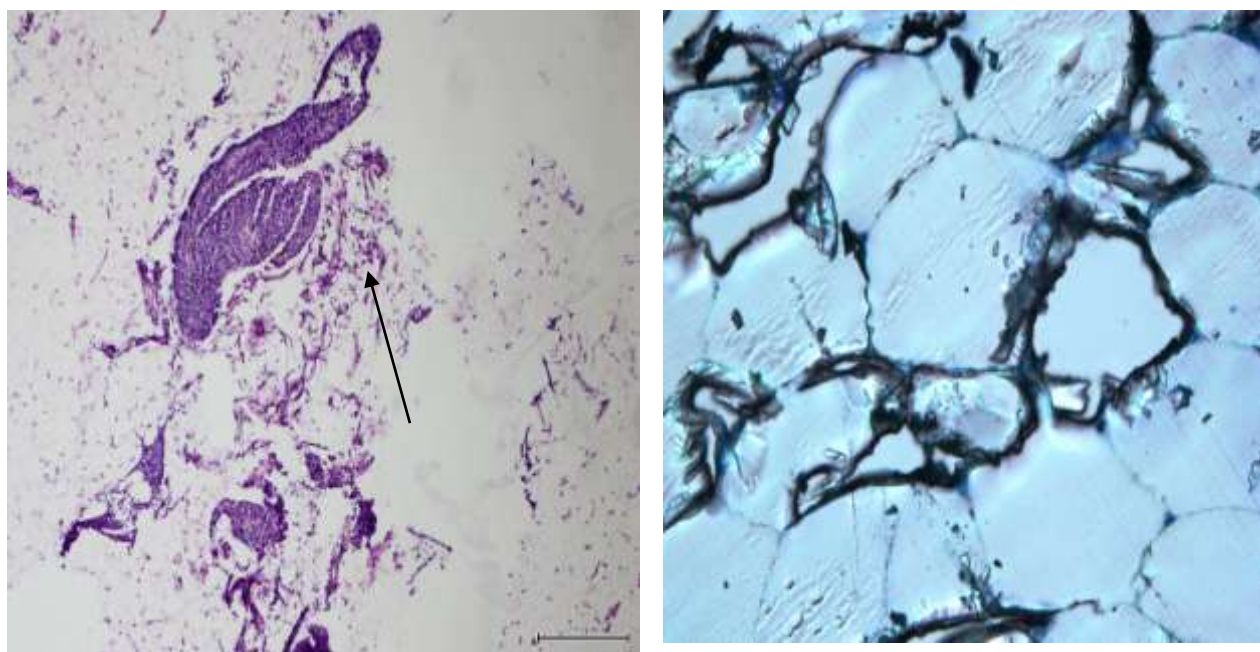


Рисунок 6.1 – Влияние препаратов переработки винограда на массу тела (MT), г, окружность живота (ОЖ), см и массу абдоминальной жировой клетчатки (АК), г крыс с моделью МС продолжительностью 12 недель. Показана достоверность различий ( $p < 0,05$ ) параметров группы крыс по отношению к контролю (K2)

При анализе материала, полученного при микроскопическом исследовании висцерального жира крыс групп Э2 и Э3 отмечается сходная морфологическая картина с крупными очаговыми лимфогистиоцитарными скоплениями (Рисунок 6.2 В).



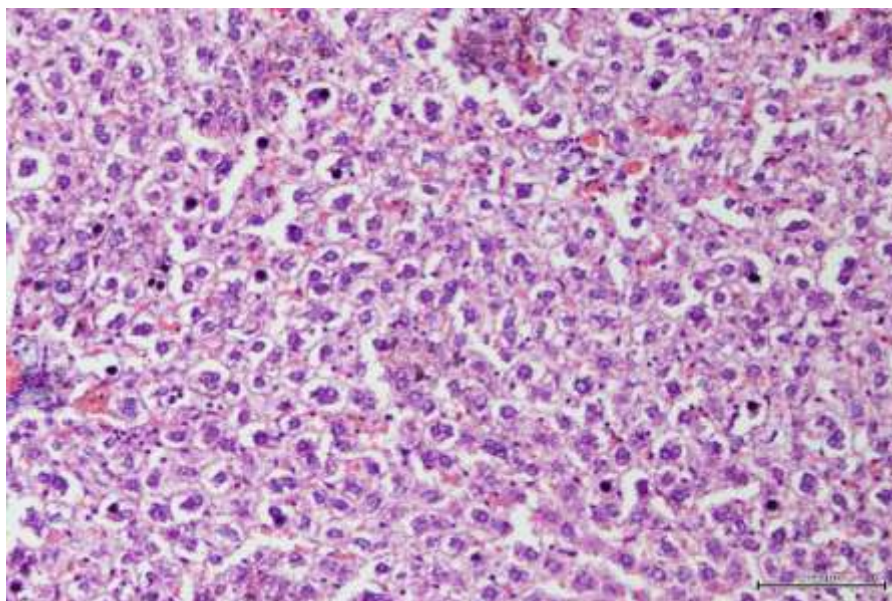
А

В

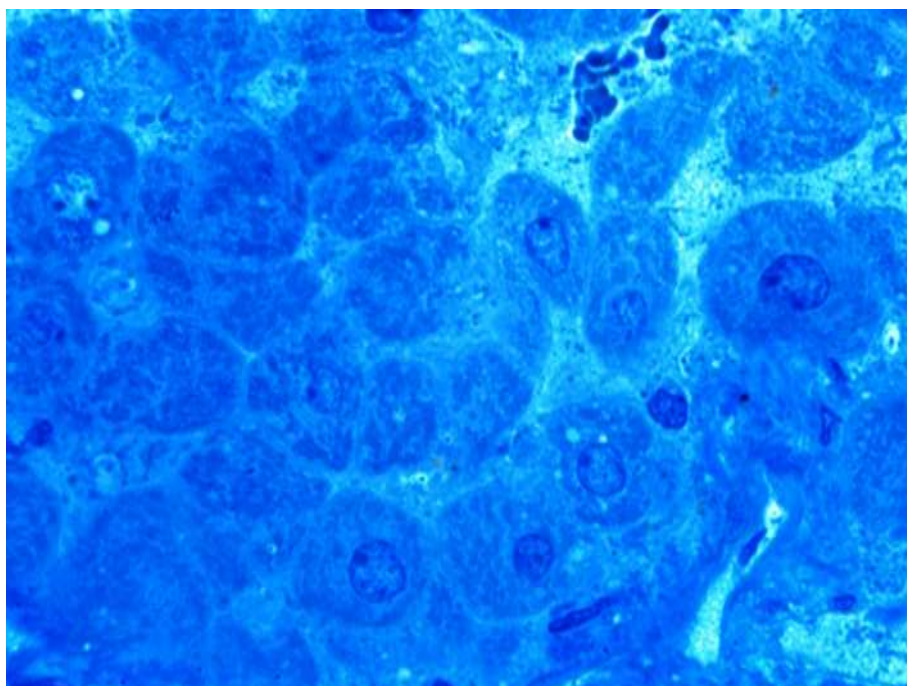
Рисунок 6.2 – А. Очаговая лимфоплазмоцитарная инфильтрация жировой клетчатки у крыс группы Э2 (указана стрелкой). Окраска гематоксилин-эозин. Ув.10×10

В. Полутонкий срез. Увеличенный размер адипоцитов. Толуидиновый синий. Ув. 100 ×

Микроскопическое исследование *печени* крыс группы Э2 выявило следующее: мелкокапельная жировая дистрофия в сочетании с выраженной гидропической дистрофией гепатоцитов (Рисунок 6.3), умеренно выраженный отек и полнокровие синусоидов, а также наличие умеренно выраженной лимфоплазмоцитарной инфильтрации, которая имеет преимущественно периваскулярный характер (Рисунок 6.4).



А



В

Рисунок 6.3 – А. Дистрофически измененные гепатоциты на фоне расстройства кровообращения в группе Э2. Окраска гематоксилин-эозин. Ув. 10×20

В. Полутонкий срез. Гепатоциты крупных и средних размеров образуют клеточные микрорегион. Толуидиновый синий. Ув. 100 ×

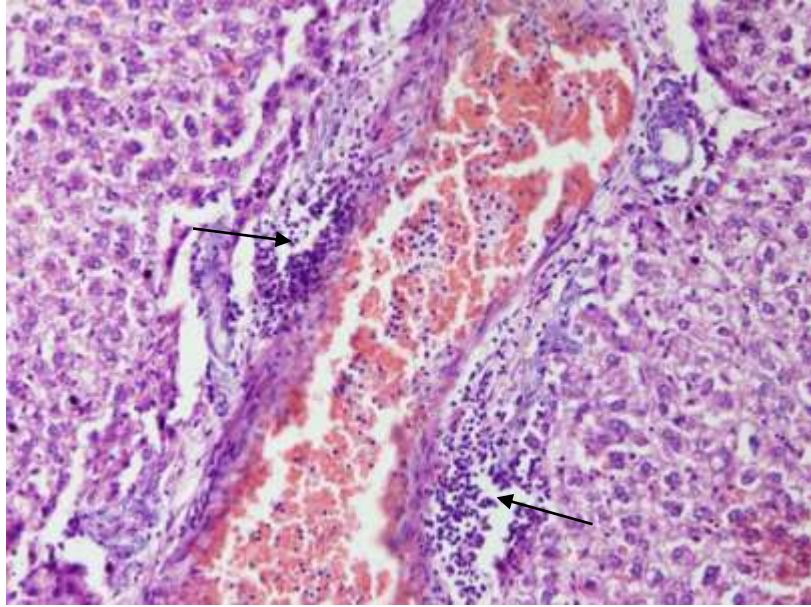


Рисунок 6.4 – Очаговая периваскулярная лимфоплазмочитарная инфильтрация (указано стрелками) в ткани печени группы Э2. Окраска гематоксилин-эозин. Ув. 10\*20

На полутонких и ультратонких срезах (Рисунок 6.3 В, Рисунок 6.5) ткани печени группы Э2 гепатоциты крупных и средних размеров образуют клеточные микрорегионы. Клетки имеют полигональную или округлую форму. Плотные латеральные контакты между ними нарушены. На ультратонких срезах характерно наличие гипертрофированных светлых ядер. Цитоплазма светлых гепатоцитов с сохраненной структурной организацией имеет зернистый вид. В редких случаях отмечается жировая, вакуольная дистрофия.



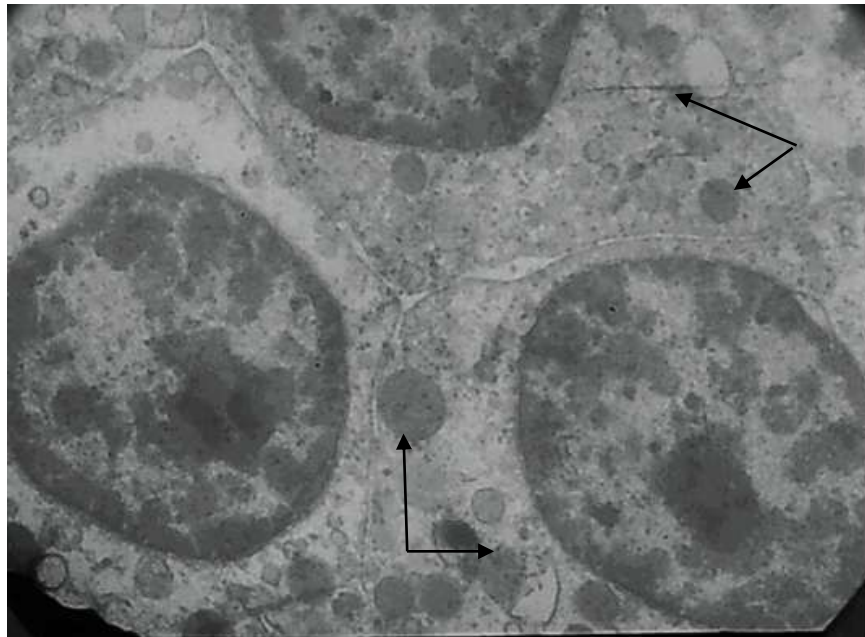
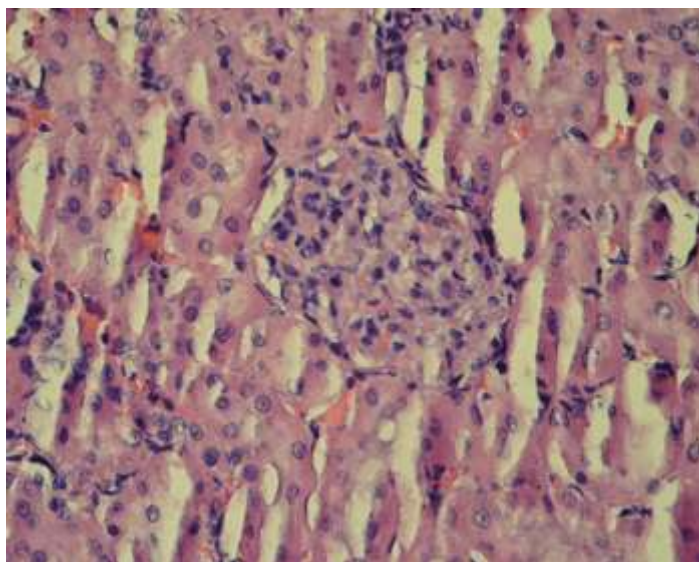


Рисунок 6.5 – Ультраструктура гепатоцитов в группе Э2. Крупные светлые ядра, зернистость цитоплазмы (указано стрелками). Ультратонкий срез. Контрастирование тетраоксидом осмия и цитратом свинца по Рейнольдсу.

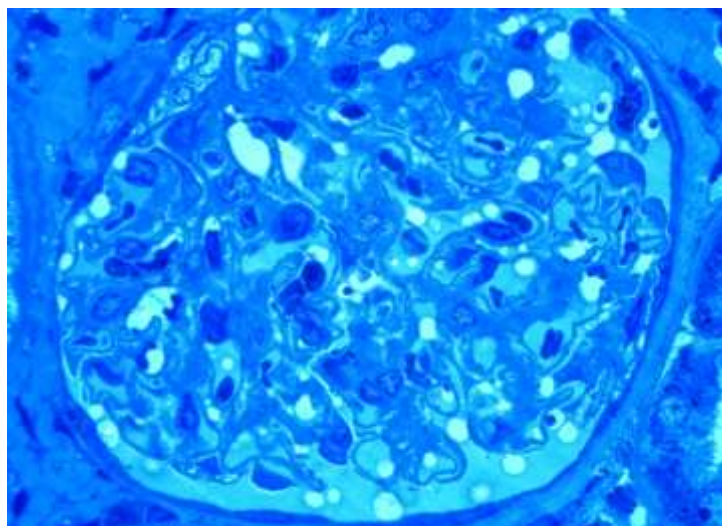
Ув. 8000 ×

Анализ микроскопического строения печени крыс группы Э3, выявил изменения аналогичные наблюдаемым в группе Э2, в отдельных случаях менее выраженные.

В ткани *почки* животных группы Э2 отмечается небольшая степень выраженности интерстициальной лимфоцитарной инфильтрации и клеточности почечного тельца (Рисунок 6.6 А).



А



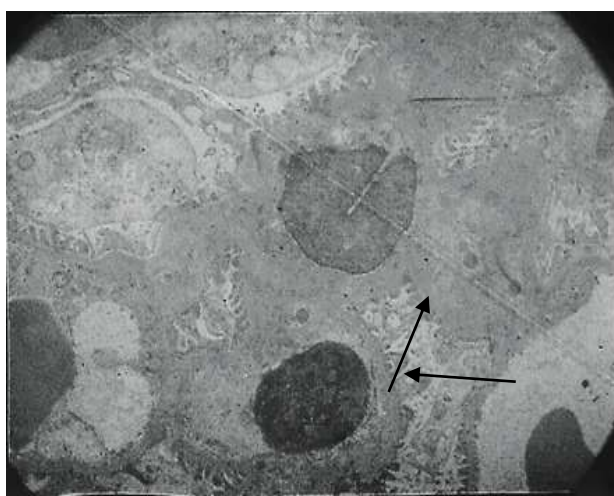
В

Рисунок 6.6 – А. Умеренно выраженная клеточность почечного тельца в ткани почки группы Э2. Окраска гематоксилин-эозин. Ув. 10×40

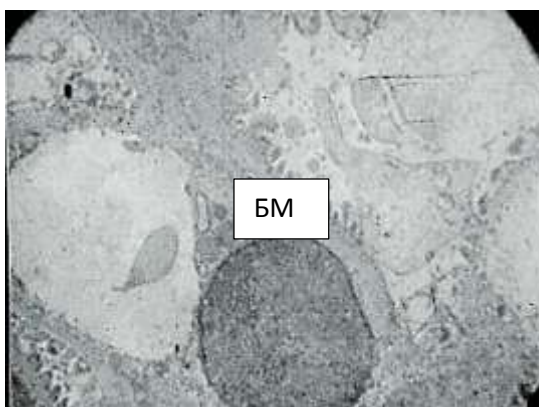
В. Полутонкий срез. Базальная мембрана, окружающая почечное тельце, неравномерно утолщена. Толуидиновый синий. Ув. 100 ×

На полутонких (Рисунок 6.6 В) и ультратонких срезах (Рисунок 6.7) в ткани почки группы Э2 отмечены изменения со стороны гломерулярного

аппарата и интерстициальной ткани. Базальная мембрана, окружающая почечное тельце, неравномерно утолщена. Сами почечные тельца имеют правильную округлую форму. В капиллярах выявлены следующие изменения : выраженная сосудистая реакция, дилатация сосудов. В ряде почечных телец мочевое пространство расширено и заполнено гомогенной субстанцией. Мезангиальный матрикс и подоциты почечных телец набухшие с признаками вакуолярной дистрофии.



А



В

Рисунок 6.7 – Ультраструктура ткани почки группы Э2. Ультратонкий срез. Контрастирование тетраоксидом осмия и цитратом свинца по Рейнольдсу.

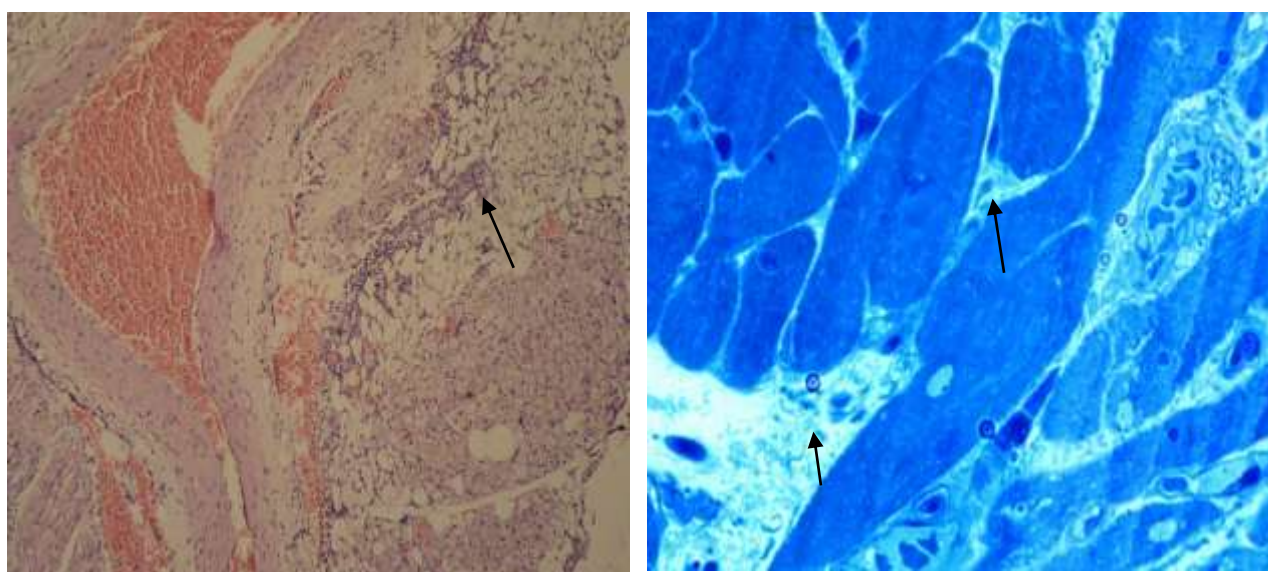
Ув.4000 ×

А. Набухание и сглаженность ворсин подоцитов (указано стрелками)

В. Утолщение базальной мембраны клубочка (БМ)

Анализ микроскопических изменений группы Э3 дал аналогичные данные.

При микроскопическом исследовании *сердечной мышцы* крыс групп Э2 и Э3 отмечалась сходная морфологическая картина с преобладанием бурого жира в периваскулярной клетчатке (Рисунок 6.8А).



А

В

Рисунок 6.8 – А. Лимфоплазмоцитарная инфильтрация жировой клетчатки в ткани сердца крысы группы Э2 (указано стрелкой). Окраска гематоксилин-эозин. Ув.10×10

В. Полутонкий срез. Соединительнотканые прослойки в миокарде фрагментарно отечны (указано стрелками). Толуидиновый синий. Ув. 40 ×

На полутонких и ультратонких срезах отмечаются признаки дистрофии (Рисунок 6.8 В, Рисунок 6.9). Встречаются небольшие очаги атрофии и гипертрофии кардиомиоцитов. Морфофункциональные нарушения носят мозаичный характер. Участки миокарда с признаками морфологических нарушений чередуются с неизменными участками. Соединительнотканые



прослойки фрагментарно отечны. Наряду с расширенными и пустыми капиллярами встречаются капилляры, характеризующиеся стазом и сладжем эритроцитов.

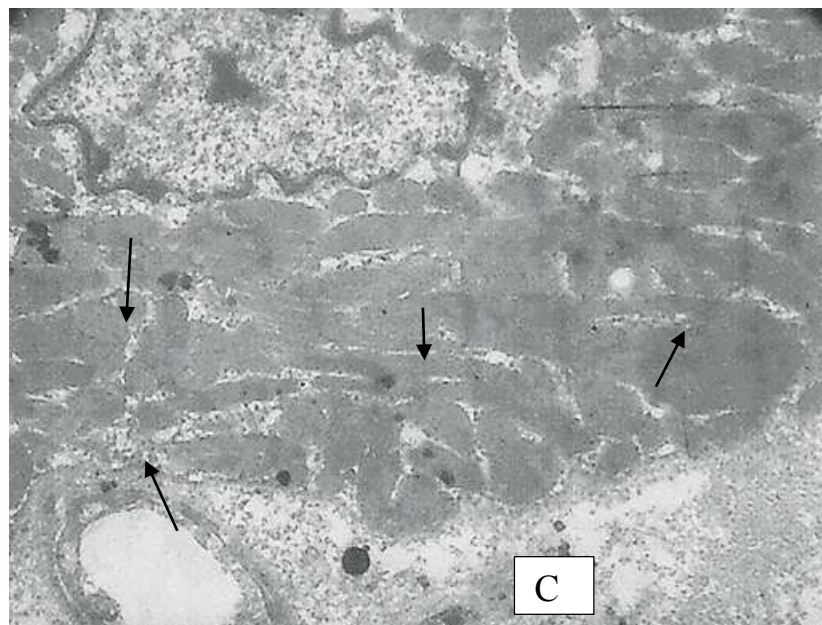
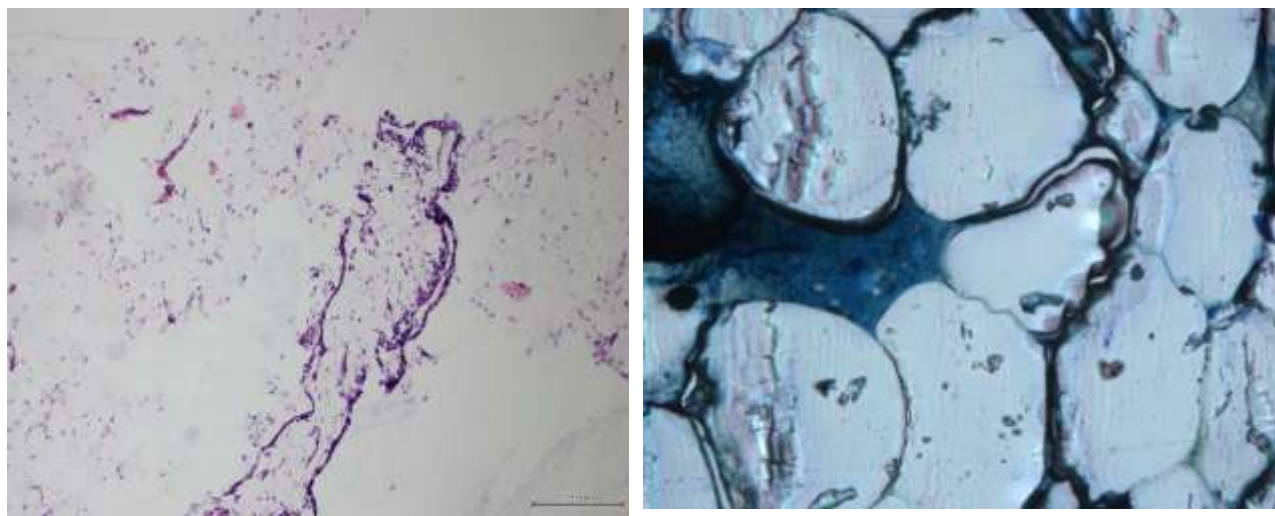


Рисунок 6.9 – Ультраструктура миокарда группы ЭЗ. Снижение плотности поперечной исчерченности, прослойки соединительной ткани (указаны стрелками), отечность периваскулярной соединительной ткани (С) Контрастирование тетраоксидом осмия и цитратом свинца по Рейнольдсу. Ув.4000<sup>х</sup>

Таким образом, применение данных концентраций полифенолов винограда оказалось недостаточным для коррекции нарушений при МС.

Масса тела крыс группы Э4 была наибольшей среди экспериментальных групп – на 56 % выше контроля ( $p < 0,05$ ), что сопровождалось увеличением окружности живота на 52 % ( $p < 0,05$ ). Однако, жировая ткань крыс из группы Э4 микроскопически отличалась от вышеописанных групп. Так, в этих наблюдениях отмечается уменьшение интенсивности лимфоплазмочитарной инфильтрации, а гемодинамические расстройства выражены в меньшей степени (Рисунок 6.10 А, В).



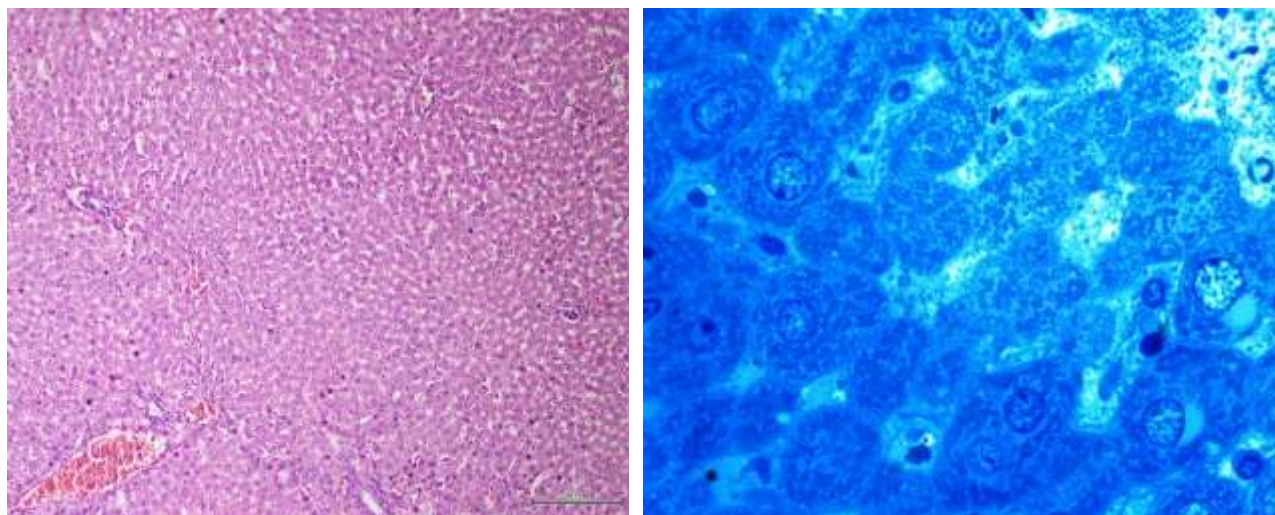
А

В

Рисунок 6.10 – А. Очаговый полосовидный лимфогистиоцитарный инфильтрат в жировой ткани у крыс группы Э4. Окраска гематоксилин-эозин. Ув.10×10

В. Полутонкий срез. Увеличенные размеры адипоцитов. Толуидиновый синий. Ув. 100 ×

В ткани *печени* у крыс группы Э4 обращало на себя внимание уменьшение степени выраженности дистрофических и воспалительных изменений в сочетании с выраженным расстройством кровообращения (Рисунок 6.11,6.12).



А

В

Рисунок 6.11 – А. Полнокровие сосудов и слабовыраженная диффузная лимфоплазмоцитарная инфильтрация в ткани печени крыс группы Э4. Окраска гематоксилин-эозин. Ув. 10×10

В. Полутонкий срез. Слабовыраженные дистрофические явления в гепатоцитах. Толуидиновый синий. Ув. 100 ×

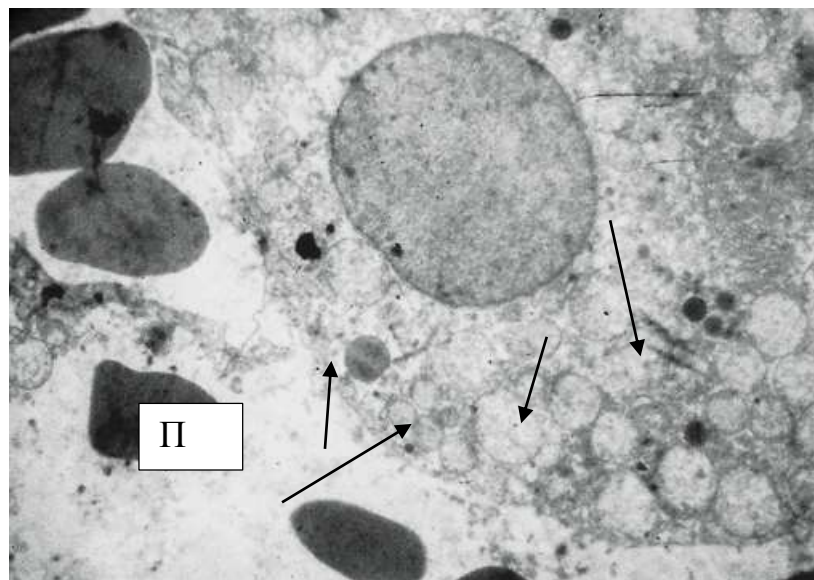
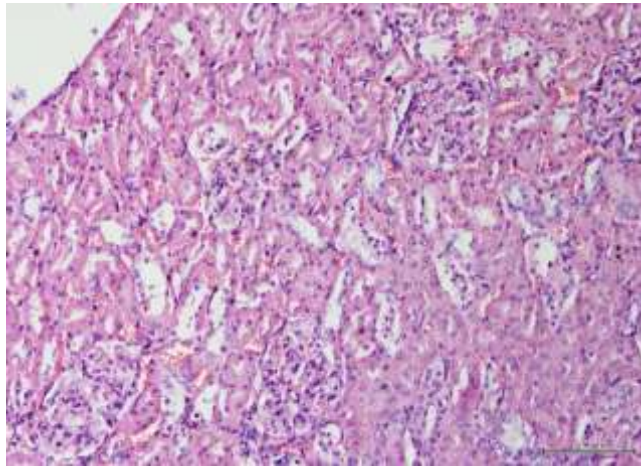


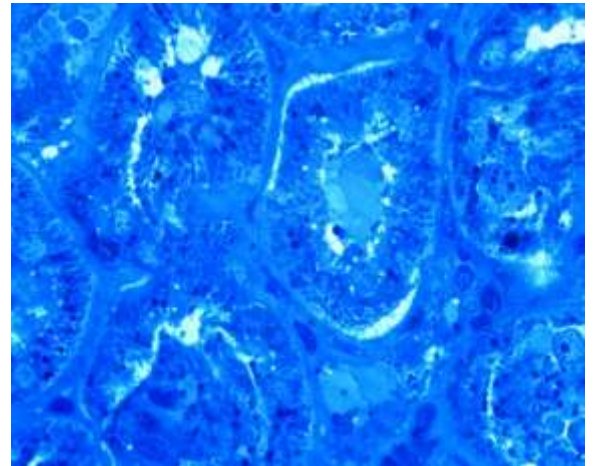
Рисунок 6.12 – Ультраструктура печени в группе Э4. Полнокровие сосудов(П). Гепатоциты содержат активные гранулы (указаны стрелками). Контрастирование тетраоксидом осмия и цитратом свинца по Рейнольдсу. Ув. 4000 ×



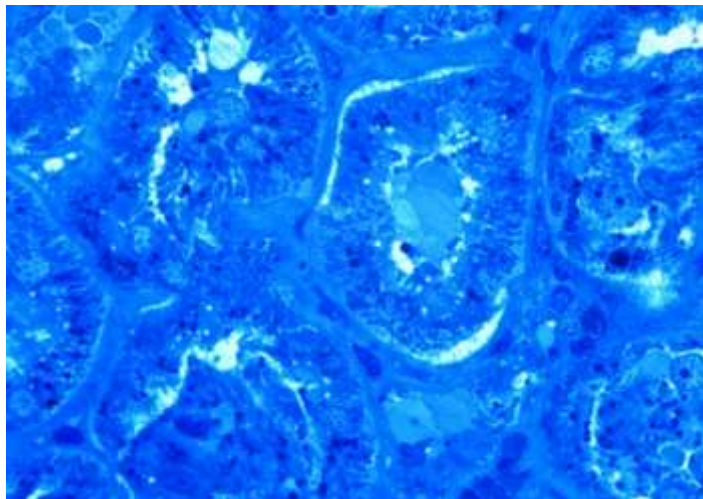
В ткани *почки* крыс группы Э4 отмечаются, в основном, гемодинамические нарушения, наряду с очаговой слабовыраженной лимфоцитарной инфильтрацией (Рисунок 6.13 А).



А



В



С

Рисунок 6.13 – А. Умеренно выраженное расстройство кровообращения в ткани почки группы Э4. Окраска гематоксилин-эозин. Ув. 10×20

В, С. Полутонкий срез. Неоднородная зернистость цитоплазмы, сдушивание апикальной части эпителиоцитов. Толуидиновый синий. Ув. 100 ×

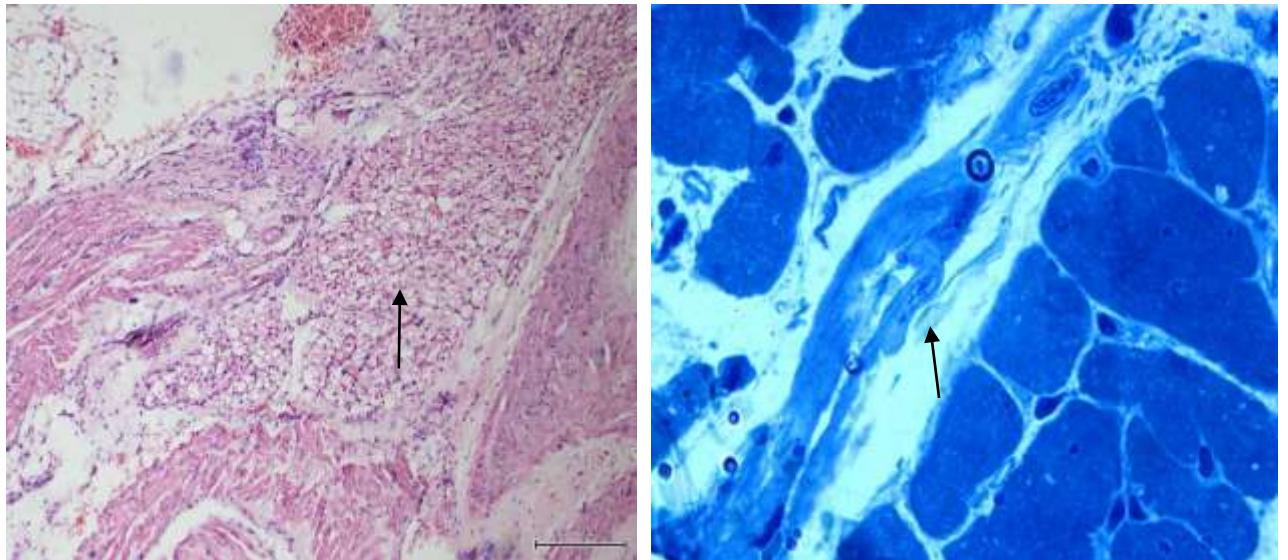
На полутонких и ультратонких срезах в корковом веществе вместе с изменениями почечного тельца выявлены структурно-функциональные изменения канальцевой системы нефрона. В ряде канальцев визуализируется

неоднородная зернистость цитоплазмы, а также слущивание апикальной части эпителиоцитов с элементами кариолизиса и кариорексиса (Рисунок 6.13 В, С, Рисунок 6.14).



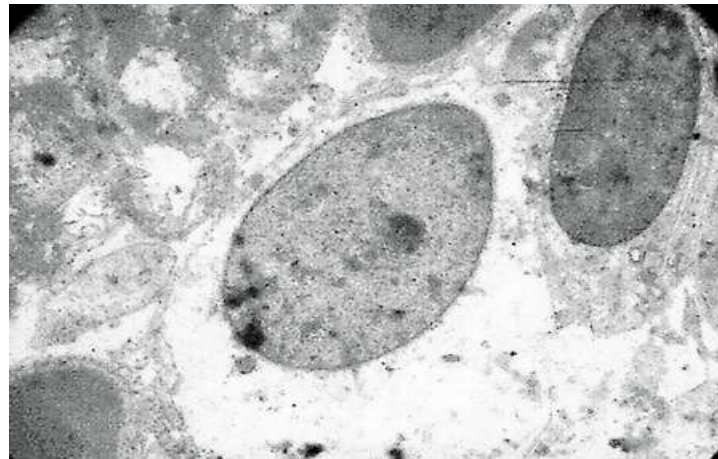
Рисунок 6.14 – Ультраструктура почки в группе Э4. Неоднородная зернистость цитоплазмы, явления кариолизиса (указано стрелкой). Контрастирование тетраоксидом осмия и цитратом свинца по Рейнольдсу. Ув. 4000 ×

В области *эпикарда* у крыс из группы Э4 вокруг сосудов обнаруживаются скопления клеток преимущественно бурого жира с очаговой слабовыраженной лимфоплазмоцитарной инфильтрацией, а гемодинамические расстройства выражены в меньшей степени. Также отмечается уменьшение количества и размеров адипоцитов между мышечными клетками (Рисунок 6.15).



А

В



С

Рисунок 6.15 – А. Разрастание бурого жира области эпикарда у крыс группы Э4 (указано стрелкой). Окраска гематоксилин-эозин. Ув.10×10

В. Полутоновый срез. Разрастание бурого жира области эпикарда (указано стрелкой). Толуидиновый синий. Ув. 40 ×

С. Ультратонкий срез. Гидропия эндотелиоцитов. Контрастирование тетраоксидом осмия и цитратом свинца по Рейнольдсу. Ув. 4000 ×

Группа с применением в виде корригирующего препарата «Фэнокор»(Э1), характеризовалась слабой степенью выраженности патологических изменений.



Масса тела и окружность живота существенно не отличались от интактных животных. При микроскопическом исследовании абдоминального жира нами выявляется слабовыраженная лимфоплазмоцитарная инфильтрация на фоне гемодинамических расстройств в виде отека, полнокровия и единичных петехиальных кровоизлияний. Жировая ткань представлена клетками неправильной формы, плотно прилегающими друг к другу. Адипоциты имеют характерную структуру (Рисунок 6.16, 6.17).

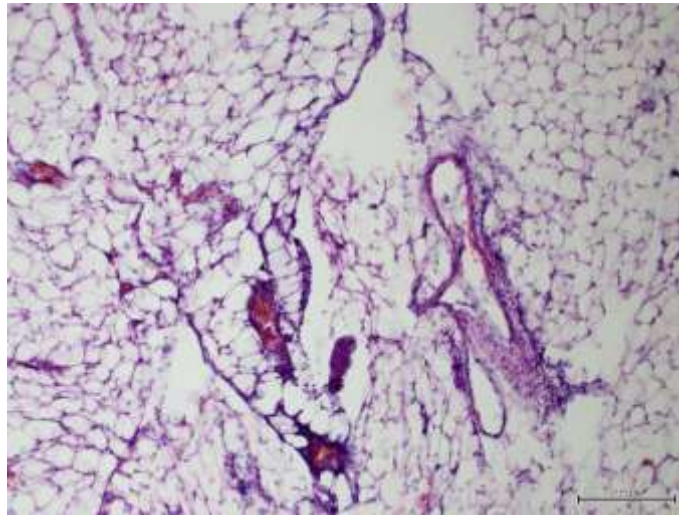
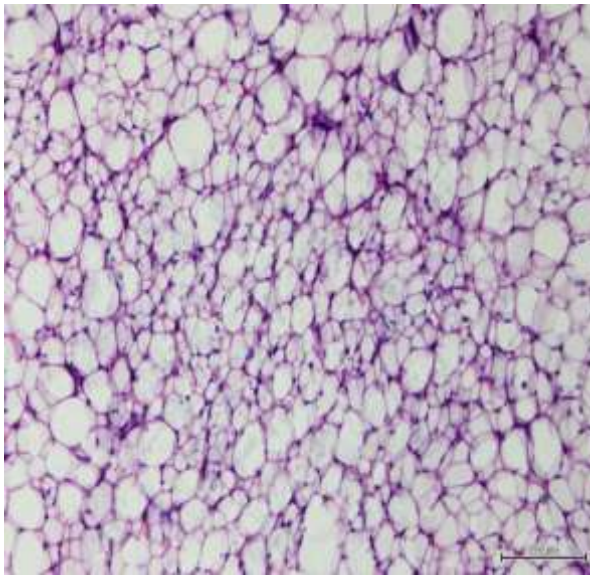
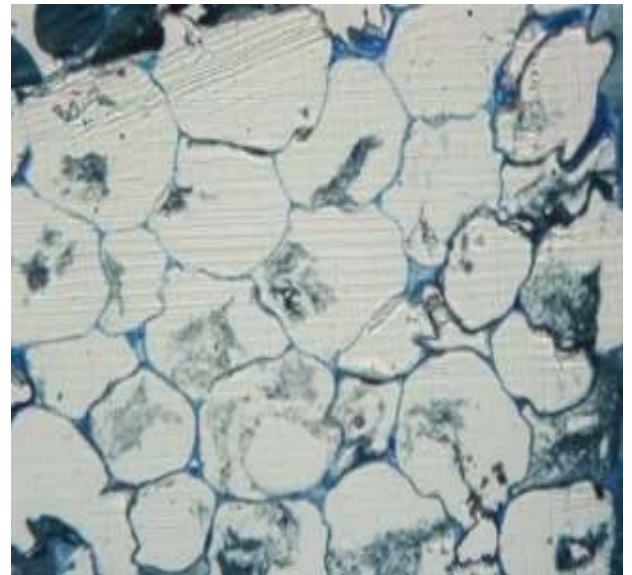


Рисунок 6.16 – Висцеральный жир с очаговой слабовыраженной лимфогистиоцитарной инфильтрацией, на фоне расстройства кровообращения в группе с применением «Фэнокора». Окраска гематоксилин-эозин. Ув.10×10



А



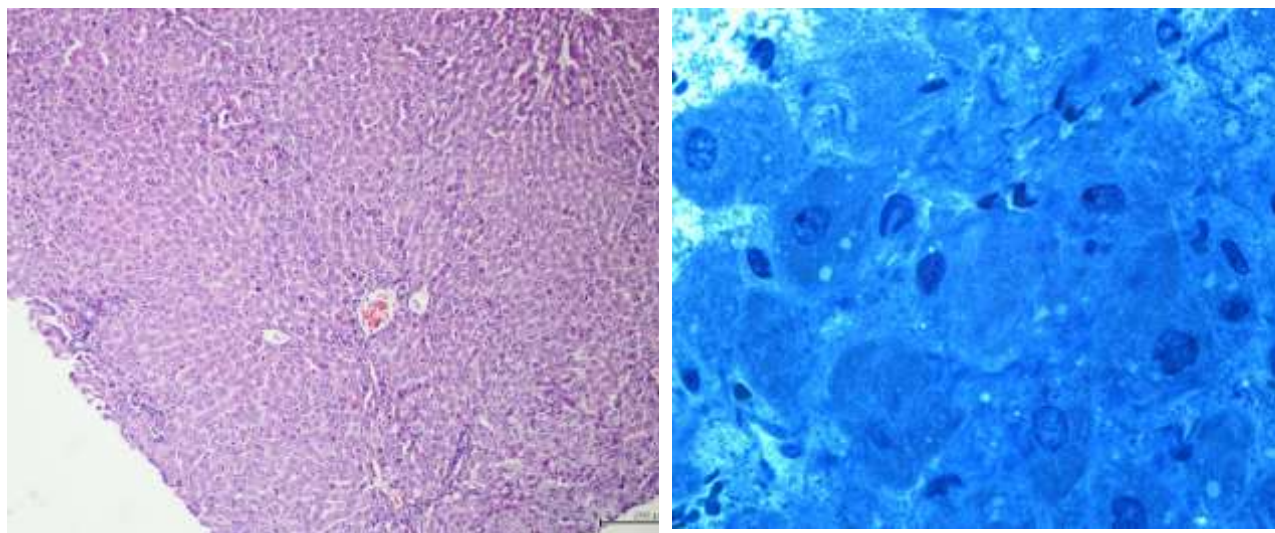
В

Рисунок 6.17 – А. Парафиновый срез. Ткань висцерального жира, состоящая из адипоцитов различного размера в экспериментальной группе с использованием «Фэнокора» в виде корректирующего препарата. Окраска гематоксилин-эозин. Ув. 10×20

В. Полутонкий срез. Полигональные адипоциты меньшего размера. Толуидиновый синий. Ув. 400 ×

Группа с применением «Фэнокора» характеризовалась также слабыми очаговыми дистрофическими изменениями *гепатоцитов*, в сочетании с очаговой слабовыраженной преимущественно перипортальной, реже диффузной интралобулярной лимфогистиоцитарной инфильтрацией и слабовыраженными признаками расстройства гемодинамики (Рисунок 6.18 А, В).





А

В

Рисунок 6.18 – А. Слабовыраженные признаки гемодинамических расстройств и слабовыраженная воспалительная инфильтрация в ткани печени крыс из группы с применением «Фэнокора». Окраска гематоксилин-эозин. Ув. 10×10

В. Полутонкий срез. Цитоархитектоника гепатоцитов сохранена, незначительные изменения структурно-функциональных единиц. Толуидиновый синий. Ув. 400 ×

На полутонких срезах (Рисунок 6.18 В) цитоархитектоника сохранена, печеночные пластинки имеют радиальное направление. Паренхима представлена клетками с мелкими и крупными ядрами. Вместе с тем, отмечаются незначительные изменения структурно-функциональных единиц. Основные патологические нарушения затрагивают периваскулярные зоны. Ацинусы печени образованы структурированными печеночными пластинками. Гепатоциты не имеют явных признаков деструкции. Преобладают темные и промежуточные гепатоциты, светлые клетки встречаются значительно реже. Цитоплазма и кариоплазма гепатоцитов окрашиваются более интенсивно. В светлых клетках отмечаются слабовыраженные дистрофические изменения. Жировые включения также немногочисленны. В

синусоидных капиллярах встречаются единичные клетки Купфера (без образования локальных скоплений).

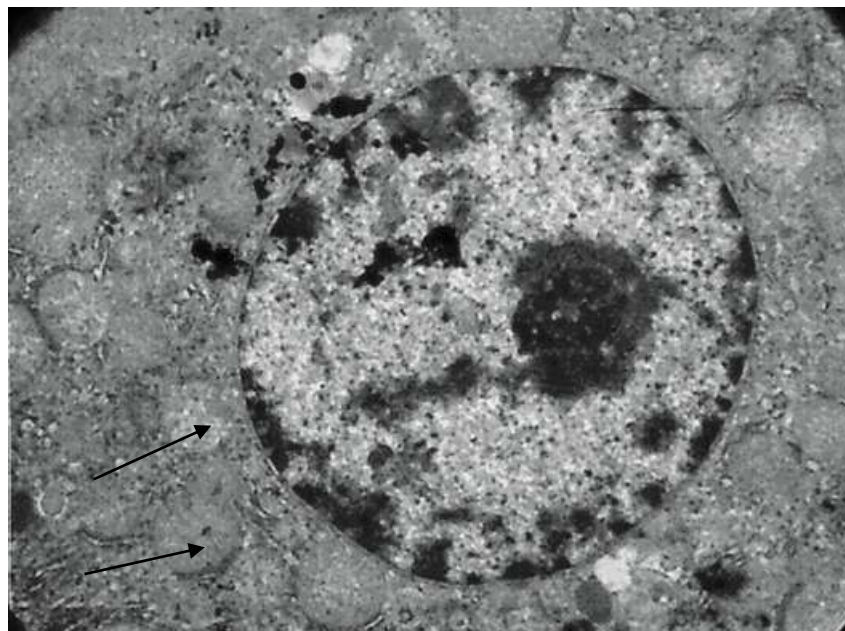
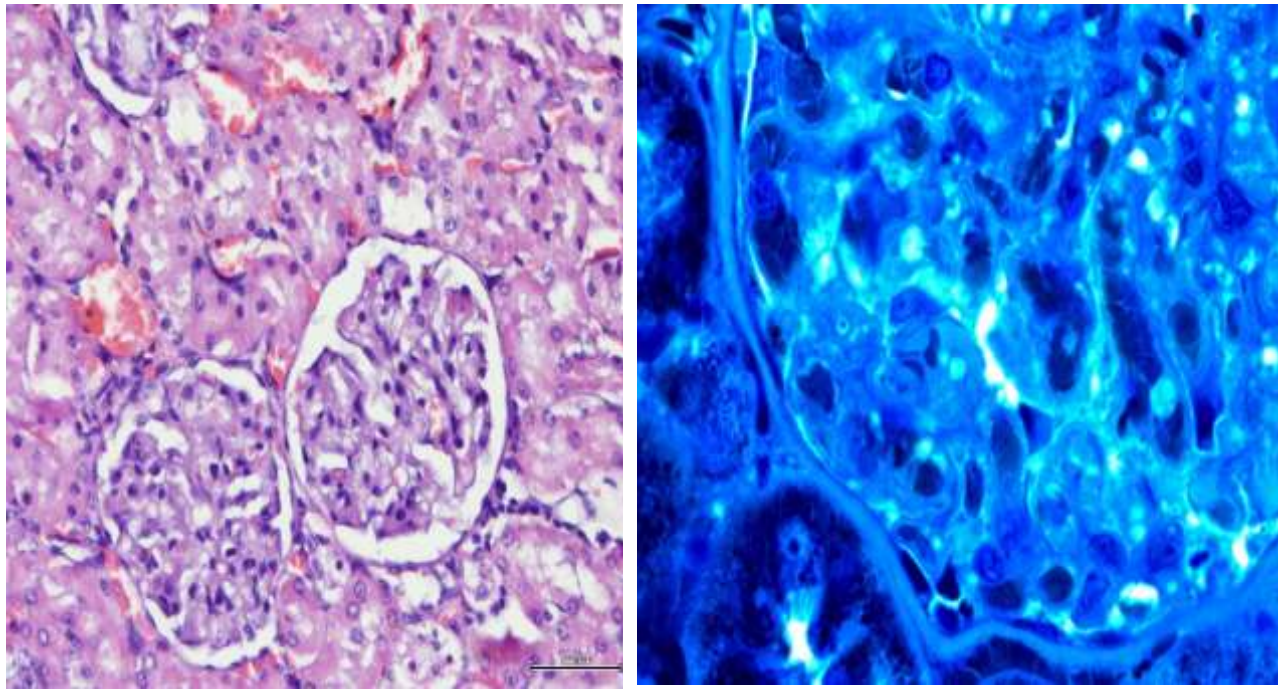


Рисунок 6.19 – Гепатоциты при коррекции МС «Фэнокором». Вакуолизация цитоплазмы (указано стрелками). Контрастирование тетраоксидом осмия и цитратом свинца по Рейнольдсу. Ув. 4000<sup>×</sup>

На ультратонких срезах (Рисунок 6.19) цитоплазма части гепатоцитов просветлена, с наличием вакуолей, преимущественно небольшого размера.

При микроскопическом исследовании ткани *почки* крыс, которым проводилась коррекция метаболического синдрома «Фэнокором», была выявлена типичная для животных этой возрастной группы морфологическая картина. Однако обращают на себя признаки расстройства кровообращения, прежде всего полнокровие капиллярных петель клубочков и единичные слабовыраженные лимфоидные скопления в интерстиции, преимущественно периваскулярно и в паранефральной клетчатке (Рисунок 6.20 А).



А

В

Рисунок 6.20 – А. Почечные клубочки типичного строения на фоне умеренно выраженного полнокровия и очаговой, слабовыраженной лимфоцитарной инфильтрации в исследовании группы с использованием «Фэнэнора». Окраска гематоксилин-эозин. Ув. 10×40

В. Полутонкий срез. Атрофические явления в клубочке. Толуидиновый синий. Ув. 400×

На полутонких срезах (Рисунок 6.20 В) почечные тельца коркового вещества незначительно варьируют по форме и размерам. Часть клубочков находится в состоянии атрофии. Базальная мембрана клубочков утолщена с признаками склероза различной степени выраженности. В сосудистых клубочках имеет место спадение или расширение петель гемокapилляров, стаз и сладж. Отмечается явление набухания части подоцитов и деструкция мезангиальных клеток. В канальцах нефрона, особенно в проксимальных отделах, наблюдается повреждение эпителиальной выстилки в виде набухания,



вакуолизации и дистрофии, увеличение зернистости эпителиоцитов, частичного или полного разрушения клеток и их слущивание в просвет канальцев.

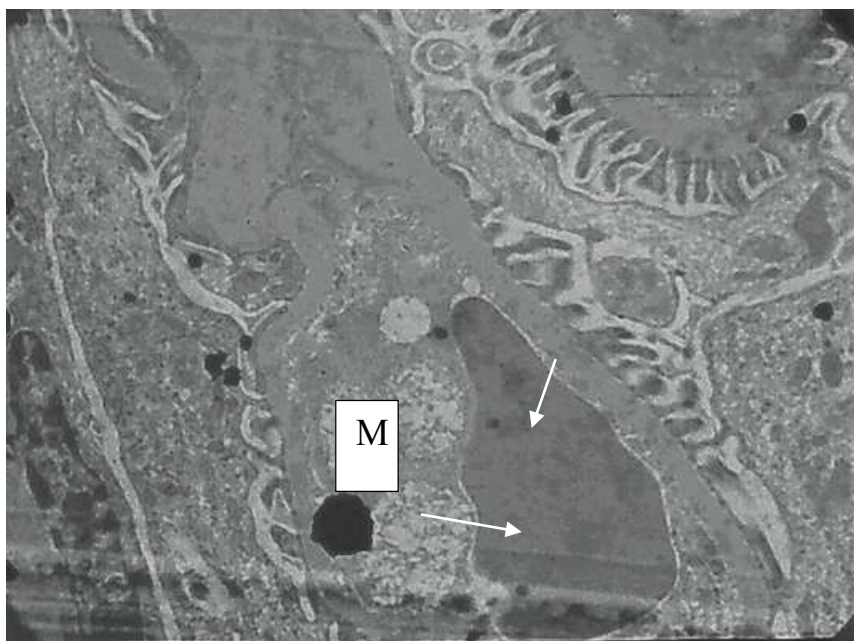
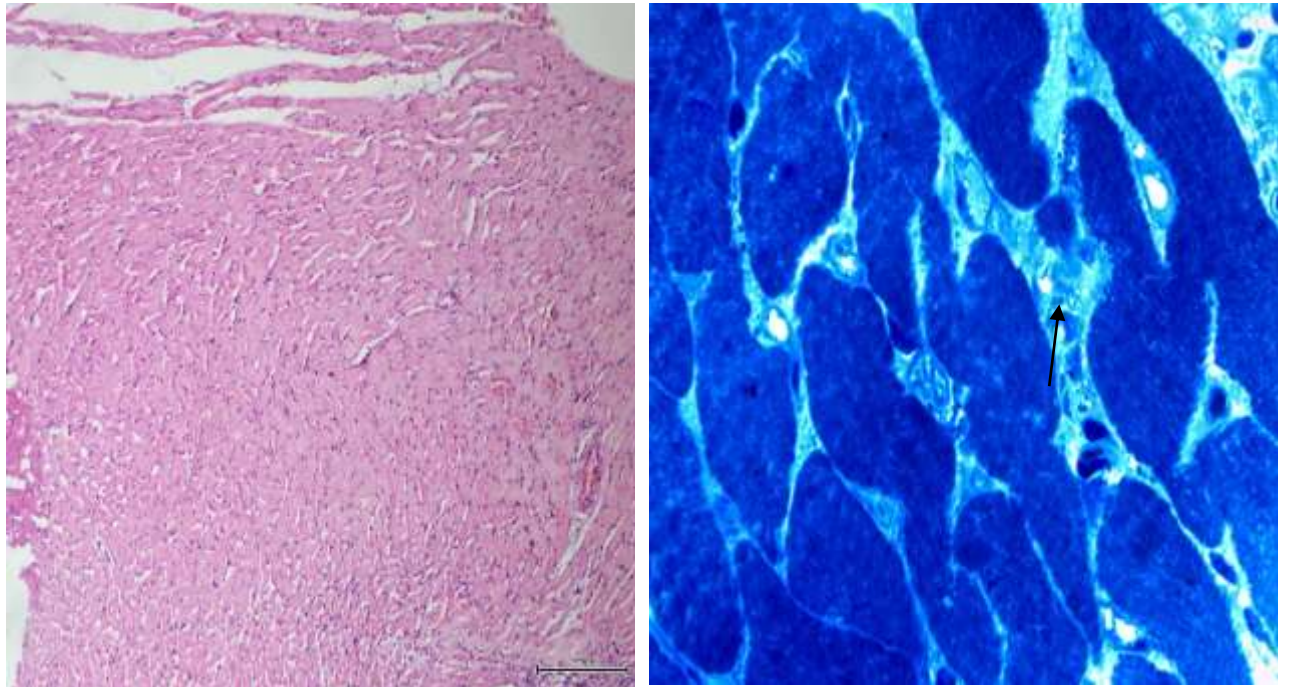


Рисунок 6.21 – Фрагмент проксимального канальца почки в группе с коррекцией МС «Фэнокором». Митохондрии (М), гетерохроматин в ядре (указано стрелками). Ультратонкий срез. Контрастирование тетраоксидом осмия и цитратом свинца по Рейнольдсу. Ув. 4000 $\times$

На ультратонких срезах в клетках проксимальных канальцев отмечается более выраженные признаки внутрицитоплазматического и внутриядерного отека (Рисунок 6.21). Митохондрии округло-овальной формы, преимущественно с правильно сформированными и параллельно расположенными кристами и однородным электронно-плотным матриксом. В ядрах увеличивается количество гетерохроматина, однако тенденция его расположения остается той же : в большей степени рядом с ядерной мембраной и в виде глыбок небольшого размера – в остальной нуклеоплазме. Хорошо визуализируются ядерные поры.

На базальной мембране клетки располагаются плотно. Межклеточные контакты сохранены.

В группе с применением в виде корректирующего препарата «Фэнэнора» степень выраженности патологических изменений *в миокарде* слабая, мышечные волокна имеют типичное строение и адипоциты между ними встречаются лишь очагово, ближе к эпикарду, однако в миокарде все же имеют место явления отека и полнокровия (Рисунок 6.22А).



А

В

Рисунок 6.22 – А. Ткань миокарда со слабовыраженными явлениями расстройства кровообращения в группе с применением «Фэнэнора». Окраска гематоксилин-эозин. Ув.10×10.

В. Полутонкий срез. Очаги адипоцитов (указано стрелкой). Толуидиновый синий. Ув. 400×.

На полутонких срезах (Рисунок 6.22 В) основная масса структурно-функциональных компонентов миокарда характеризуется сохранностью. Кардиомиоциты имеют типичную морфологию и расположение. Сформированные функциональные волокна окружены прослойками соединительной ткани. Фрагментарно отмечается интерстициальный отек. Стаз гемокapилляров не визуализируется, просвет заполнен плазмой крови.

Применение «Фэнэнора» при метаболическом синдроме способствует лучшей сохранности и существенно меньшему повреждению как кардиомиоцитов, так и структур сосудистого русла миокарда.

На ультратонких срезах капилляры миокарда имеют значительные, ярко выраженные репаративные изменения. Ультраструктура эндотелиоцитов отличается хорошей сохранностью, люминальная поверхность их довольно ровная с небольшими микроворсинками. В просвете капилляров находятся эритроциты и бесструктурный детрит различной электронной плотности (Рисунок 6.23). Базальная мембрана, обращенная к току крови, умеренно разрыхляется. Соединительная ткань в периваскулярном пространстве выражена в разной степени.

Эндотелиоциты имеют значительное количество пиноцитозных пузырьков, что отражает усиление обменных процессов в мышечных клетках. Активация микропиноцитозной активности эндотелия кровеносных капилляров при коррекции «Фэнэнокором» свидетельствует об усилении компенсаторно-приспособительных реакций в миокарде.

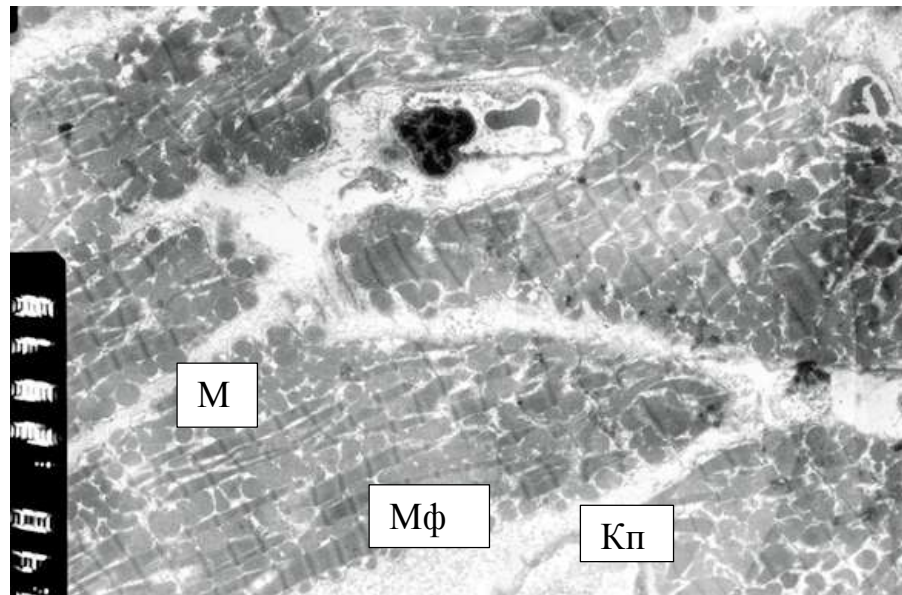


Рисунок 6.23 – Метаболический синдром. Коррекция «Фэнокором».

Ультраструктура фрагмента миокарда крысы. Эритроциты и бесструктурный детрит в просвете капилляров (Кп). Гиперплазия митохондрий (М), миофибриллы имеют чёткую поперечную исчерченность (Мф). Контрастирование тетраоксидом осмия и цитратом свинца по Рейнольдсу. Ув. 6000 ×

Кардиомиоциты располагаются продольно, контуры их сарколеммы четкие. Ядра крупные, вытянутые, имеют неглубокие инвагинации. В ядрах преобладает эухроматин, а гетерохроматин представлен в основном мелкими кариосомами и околядрышковым гетерохроматином. Число ядрышек варьирует, но чаще встречается одно крупное ядрышко, не прилежащее к кариолемме. Перинуклеарное пространство довольно узкое, содержит много ядерных пор, в ряде участков неравномерно расширено и продолжается в цистерны СПС, окружающие ядро.

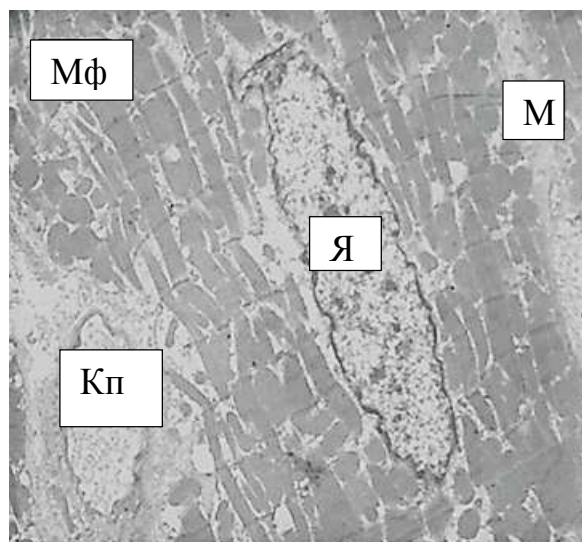


Рисунок 6.24 – Коррекция метаболического синдрома «Фэнкором». Ультраструктура фрагмента миокарда крысы. Ядро кардиомиоцита (Я) с неглубокими инвагинациями кариолеммы, митохондрии (М) с электронноплотным матриксом, расположены между миофибриллами (Мф). Просвет капилляров (Кп) без форменных элементов. Контрастирование тетраоксидом осмия и цитратом свинца по Рейнольдсу. Ув. 8000 ×

Характерной особенностью миокарда в этой группе животных является повышение электронной плотности органелл кардиомиоцитов (Рисунок 6.24). В некоторых клетках наблюдается расширение цистерн саркоплазматического ретикулума, увеличение количества свободных рибосом и полисом, что указывает на позитивный эффект препарата по отношению к биосинтетическим процессам в кардиомиоцитах и компенсацию повреждающих влияний, характерных для МС.

В саркоплазме выявляется много митохондрий, различающихся по строению. Основная часть митохондрий имеет плотный матрикс и располагается в виде многорядных скоплений между миофибриллами, около ядра и под сарколеммой. Большинство из них сохранены, в некоторых выявляется гомогенизация крист. В то же время наличие мелких митохондрий с плотным матриксом отражает процессы репарации в миокарде. Появление делящихся форм митохондрий указывает на гиперплазию митохондрий и позволяет



предположить о возрастании биоэнергетического обеспечения внутриклеточных метаболических процессов.

Пучки миофибрилл располагаются плотно, параллельными рядами, окруженными митохондриями, и имеют чёткую поперечную исчерченность с хорошо выраженными изотропными участками.

Очевидно, что «Фэнокор» обладает протекторным эффектом при метаболическом синдроме, однако его активность неодинаково проявляется в отношении различных структур кардиомиоцитов и компонентов сосудистого русла, а наблюдаемые изменения ультраструктуры можно рассматривать как компенсаторные, ведущие к активации функции миокарда.

Таким образом, применение более высоких концентраций полифенолов приводит к уменьшению морфологических изменений в органах-мишенях, несмотря на выраженное абдоминальное ожирение.

## **6.2 Степень и характер изменения морфометрических характеристик жировой ткани при моделировании метаболического синдрома у экспериментальных животных и в условиях его коррекции полифенольными продуктами переработки винограда**

При морфометрическом исследовании жировой ткани в группах с коррекцией МС было установлено, что размеры адипоцитов в группах Э2, Э3 и Э4 существенно не отличались от таковых в группе с МС без коррекции (Таблица 6.2).

Таблица 6.2 – Сравнительный анализ морфометрических параметров при моделированном МС и его коррекции, данные представлены в виде Ме (Q1, Q3)

Группа	Размеры адипоцитов, мкм	Размеры ядер, мкм	Соотношение размеров цитоплазма/ядро, у.е.	Соотношение содержания малых и больших адипоцитов (в у.е.)
К1	46,2(41,15; 47,2)	1,53(1,3; 1,7)	29,42(25,17; 35,63)	32,33
К2	95,03(63,87;71,38)*	1,62(0,78; 2,74)	55,98(28,39; 140,99)*	0,41
Э1	37,85(19,48;71,89)**	1,0 (0,69; 2,60)**	31,01(12; 95,54)**	3,5
Э2	95,0(64,55; 51,36)*	1,45(0,87; 3,74)	50,98(38,39; 140,99)*	0,39
Э3	93,03(53,87;77,38)*	1,42(0,78; 2,74)	51,98(28,39; 140,99)*	0,40
Э4	97,03(78,63; 88,0)*	1,30(0,5; 2,74)	73,63(28,39; 140,99)*	0,32

Примечание: \*  $p < 0,05$  по сравнению с группой К1.

Размеры жировых клеток при коррекции препаратом «Фэнокор» (группа Э1) снизились в 2,5 раза ( $p < 0,05$ ) по сравнению с группой с моделированным МС. Соотношение малые/большие клетки составляло 3,5, то есть сохранялся определенный пул адипоцитов с повышенным содержанием липидов (Рисунок 6.25).

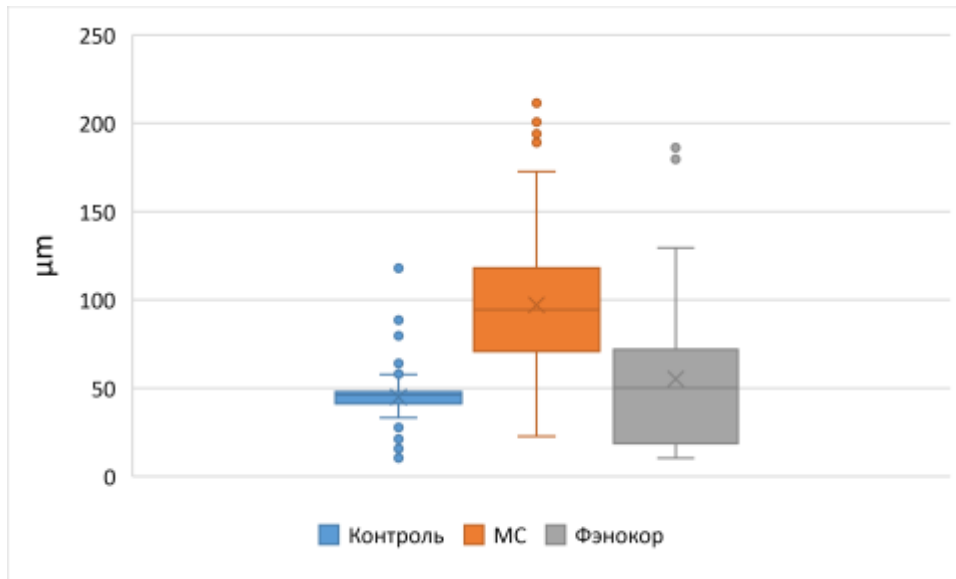


Рисунок 6.25 – Распределение размеров адипоцитов при коррекции МС препаратом «Фэнокор»

При коррекции МС препаратом «Фэнокор» сохранялось уменьшение размеров ядер значительного числа исследованных клеток (51 % клеток имели размеры ядра около 0,1) (Рисунок 6.26).

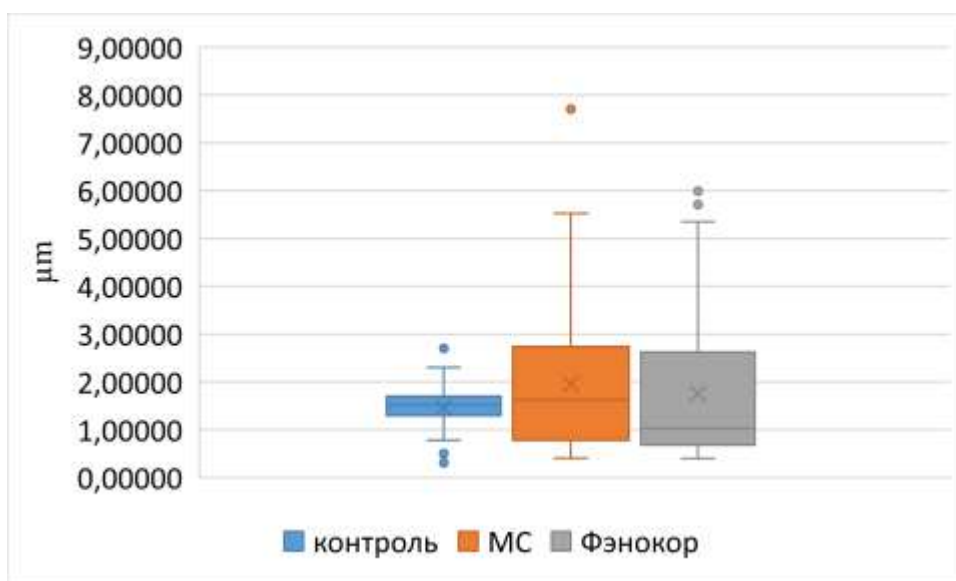


Рисунок 6.26 – Распределение размеров ядер адипоцитов при коррекции МС препаратом «Фэнокор»

Также сохранялась сильная степень вариации соотношения цитоплазма/ядро (коэффициент вариации составлял 104,62 % >70 %), но большинство соотношений (58 %) укладывалось в интервал 2,9-48 мкм (Рисунок 6.27).

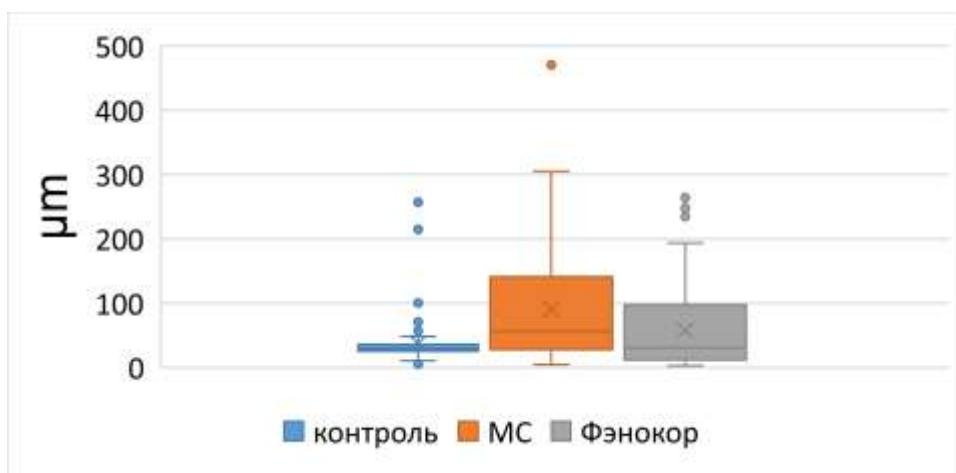


Рисунок 6.27 – Распределение соотношения цитоплазма/ядро у адипоцитов при коррекции МС препаратом «Фэнокор»

Размеры ядер и соотношения цитоплазма/ядро в группах Э2, Э3 и Э4, как следует из Таблица 6.2, мало отличались от таковых в группе с моделируемым МС. Следовательно, в данных группах соответствующие концентрации полифенолов были недостаточны для выраженных изменений морфометрических показателей.

### **6.3 Результаты коррекции состояния процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантов при экспериментальном метаболическом синдроме полифенолами винограда различных концентраций**

В группе Э2 наблюдалось снижение ПА в 2 раза, двухкратное повышение активности ТБКА, повышение КПА в 3,1 раза снижение АТА в 2,2 раза ( $p < 0,05$ ) по отношению к контрольным цифрам, а в группе Э3 активность ТБК-активных продуктов была ниже контрольной на 38%, а АТА-в 2,1 раза ( $p < 0,05$ ) (Таблица 6.3, Рисунок 6.28, 6.29).

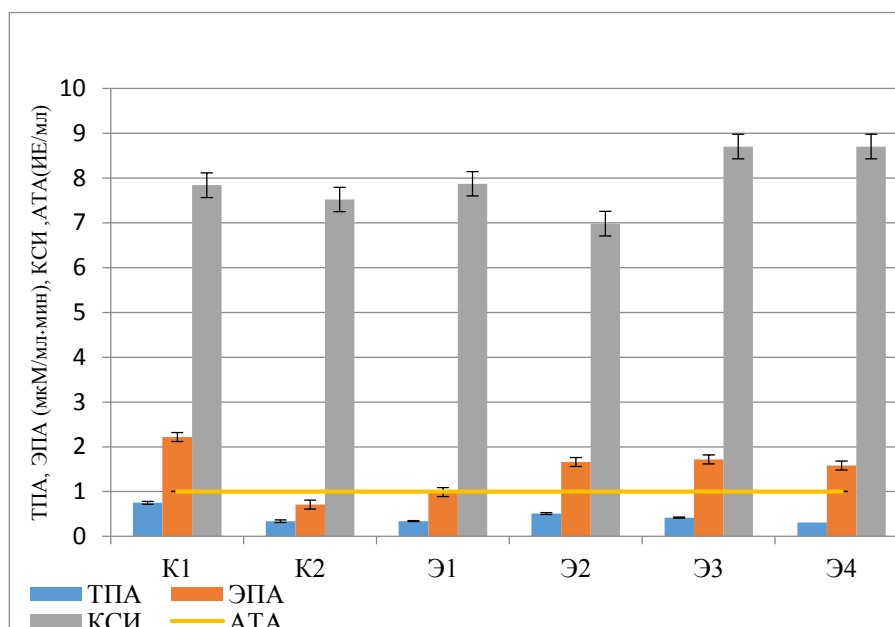


Рисунок 6.28 – Изменения неспецифических протеаз и их ингибиторов сыворотки крови при метаболическом синдроме крыс на фоне применения препаратов переработки винограда. ТПА – трипсиноподобная активность (мкМ/мл·мин), КСИ – кислотостабильные ингибиторы (ИЕ/мл), ЭПА – эластазоподобная активность (мкМ/мл·мин), АТА – активность  $\alpha$ -1-антитрипсина (ИЕ/мл), ИЕ – ингибиторная единица

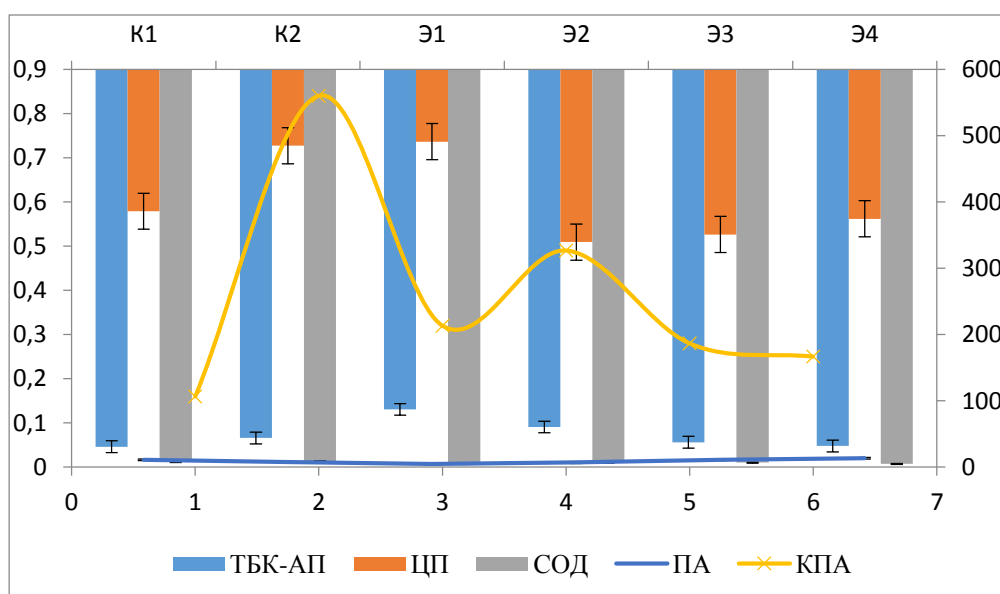


Рисунок 6.29 – Эффекты препаратов переработки винограда в отношении ПОЛ и антиокислительного потенциала крови при коррекции экспериментального МС. ТБК-А – концентрация ТБК-активных продуктов (нМ МДА/мг), ЦП – концентрация церулоплазмينا (Мг/мл), СОД – активность супероксиддисмутазы (Ед/мл), КПА – каталазоподобная активность (мМ/гНв), ПА – пероксидазная активность (мМ/лс)

В группе Э4 отмечалось достоверное снижение СОД в 1,6 раза, ПА в 1,2 раза, АТА в 2 раза, ТПА в 2,4 раза, ЭПА в 1,4 раза и повышение КПА в 1,5 раза ( $p < 0,05$ ). Таким образом, сохранялся дисбаланс между протеолитическими ферментами и их ингибиторами, что указывало на продолжающееся системное воспаление, характерное для МС.

В группе экспериментальных животных с коррекцией препаратом «Фэнокор» отмечалось снижение СОД в 1,6 раза, ПА в 2,2 раза, АТА в 3,4 раза, ТПА и ЭПА – в 2,2 раза ( $p < 0,05$ ). В то же время, наблюдалось повышение концентрации ЦП в 2,2 раза и ТБКА – в 2,82 раза ( $p < 0,05$ ), что указывало на сохраняющийся минимальный воспалительный процесс, несмотря на отсутствие абдоминального ожирения.

Существующее системное воспаление в группах Э2, Э3 и Э4 сопровождалось сохраняющимися метаболическими признаками МС – гипергликемией, гиперхолестерин- и триглицеридемией (Таблица 6.4), а также повышенной атерогенностью плазмы, проявлявшейся в снижении ЛВП.

В то же время, воздействие препарата «Фэнокор» привело к нормализации углеводно-липидного профиля исследуемых животных.

Таблица 6.3 – Состояние процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантов при экспериментальном МС и его коррекции ПППВ

Показатели	К1	К 2	Э1	Э2	Э3	Э4
СОД	7,76 (5,95; 8,97)	8,79 (6,58; 11,85)*	4,83 (4,63; 6,5) *,**	6,73 (4,1; 8,18)**	6,79(5,91; 7,91)	4,87(4,22;6,63) *, **
ЦП	220,5 (214,38; 350,88)	484,75 (415,63; 571,38) *	490,88 (360,72; 583,19)*	339,5 (272,56;451,5) *	350,88 (279,78; 400,31)	374,5 (308,44;450,19)*
ТБКА	30,86 (23,14; 34,71)	44,08 (38,29;54,82) *	87,06 (51,79; 102,76) *,**	60,61(49,04; 76,59) *	37,47(36,37; 42,98)	31,96 (22,59; 36,92) **
ПА	10,99 (8,68; 13,71)	7,81 (2,51;11,16)*	4,92 (4,3; 6,62) *,**	6,69 (6,51;10,4) *	10,95(7,01; 12,58)	13,52 (10,74; 14,92) **
КПА	0,16(0,11; 0,28)	0,84 (0,75; 0,94)*	0,32 (0,23; 0,47)*,**	0,49 (0,34; 0,53)*,**	0,28 (0,23; 0,31)*,**	0,25 (0,16;0,35)**
АТА	55,51 (52,43; 62,22)	20,25 (11,71; 25,25)*	16,38 (9,33; 24,8) *,**	25,48 (19,68; 28,67) *	26,85 (22,98; 29,92) *	34,81 (31,4;37,54)*
КСИ	7,84 (6,51; 8,92)	7,52(6,19;9,56)	7,87 (7,07; 8,95)	6,98 (6,04; 8,27) *	8,70 (7,41; 9,41) *	8,70 (8,14; 9,73)

Примечания: ТПА – трипсиноподобная активность (мкМ/мл·мин.), КСИ – кислотостабильные ингибиторы (ИЕ/мл), ЭПА – эластазоподобная активность (мкМ/мл·мин), АТА – активность α-1-антитрипсина (ИЕ/мл), ТБК-А – концентрация ТБК-

активных продуктов (нМ МДА/мг), ЦП – концентрация церулоплазмина (Мг/мл), СОД – активность супероксиддисмутазы (Ед/мл), КПА – каталазоподобная активность (мМ/гНв), ПА – пероксидазная активность (мМ/лс). Звездочками показана достоверность различий ( $p < 0,05$ ); \* – по отношению к группе животных, не получавших препараты(К1), \*\* – по отношению к контрольным животным с моделированным МС(К2)

Таблица 6.4 – Изменения в углеводном и липидном обмене при развитии экспериментального МС и его коррекции ПППВ

	К1	К 2	Э1	Э2	Э3	Э4
Глюкоза	5,33(4,4;6,2)	12,5(9,6;17,1)**	6,3(4,2;10,7)*	12,1(8,3;14,1)*	11,9(10,7;18,2)*	9,7(7,1;11,9)
ОХС	1,39(0,7;2,1)	2,0(0,9;3,55)**	1,4(0,9;2,3)	1,9(1,3;4,5)	2,0(1,1;3,9)	1,6(1,0;4,6)
ТГ	1,3(0,7;2,9)	2,1(0,8;5,4)**	1,3(0,9;2,9)	1,9(1,0;5,7)	2,0(0,7;3,3)	1,6(0,84; 4,0)
ЛВП	0,9(0,81;1,44)	0,47(0,11;1,9)**	1,0(0,78;2,9)*	0,55(0,22;1,1)	0,68(0,2;3,6)	0,75(0,34;2,1)

Примечания: Глюкоза – концентрация сывороточной глюкозы (ммоль/л), ОХС – концентрация общего холестерина сыворотки крови (ммоль/л), ТГ – концентрация триглицеридов сыворотки крови(ммоль/л), ЛВП – концентрация липопротеидов высокой плотности в сыворотке крови(ммоль/л). Звездочками показана достоверность различий ( $p < 0,05$ ); \* – по отношению к группе животных, не получавших препараты(К1) \*\* – по отношению к контрольным животным с моделированным МС(К2)



### **6.5 Молекулярные изменения при развитии метаболического синдрома у экспериментальных животных и в условиях его коррекции полифенольными продуктами переработки винограда**

При коррекции экспериментального МС повышение уровня GLUT 4 было наиболее выражено в группе с применением «Фэнокора» (в 2 раза по сравнению с моделированным МС без коррекции ( $p < 0,05$ ), и в 9,75 раза – по сравнению с интактными животными ( $p < 0,05$ )). В группах с коррекцией виноматериалами различных концентраций не наблюдалось достоверных изменений уровня GLUT 4 по отношению к группе с МС без коррекции, в то же время, уровень исследуемого показателя оставался достоверно выше интактной группы (Таблица 6.5).

Коррекция МС с помощью препарата «Фэнокор» привела к росту значений PPAR $\gamma$  на 31% по сравнению с группой животных с МС без коррекции ( $p < 0,05$ ). В остальных группах моделированного МС коррекция полифенольными препаратами сопровождалась понижением концентрации исследуемого показателя.

Коррекция препаратом «Фэнокор» позволила снизить интенсивность системной воспалительной реакции при моделированном МС, что подтверждалось снижением экспрессии TLR 4 в 2,2 раза, а СРБ – в 2,1 раза по отношению к группе без коррекции ( $p < 0,05$ ).

Таблица 6.5 – Изменение молекулярных маркеров при развитии экспериментального МС и его коррекции ПППВ

группа	GLUT 4 (нг/мл)	PPAR $\gamma$ (нг/мл)	TLR4 (нг/мл)	СРБ (мкг/мл)
К1	0,040(0,025;0,098)	2,95(1,59;3,74)	0,86(0,45;2,5)	0,79(0,1;1,36)
К2	0,22(0,1;0,54)*	3,04(1,64;5,02)	3,99(1,47;6,38)*	1,83(1,02;2,69)*
Э1	0,39(0,19;0,55)*,**	4,01(2,22;7,11) **, **	1,78(0,25;2,01) **, **	0,87(0,45;2,05)**
Э2	0,11(0,09;0,2)*,**	0,79(0,25;1,56) **, **	3,54(1,22;5,78)*	1,75(0,22;3,20)*
Э3	0,13(0,1;0,2)*	0,80(0,34;1,74) **, **	3,06(2,43;5,18)*	1,54(0,98;2,01)*
Э4	0,28(0,09;0,41)*	1,97(0,55;3,22) **, **	2,22(1,77;5,14)*	1,04(1,0;3,04)*

Звездочками показана достоверность различий ( $p < 0,05$ ); \* – по отношению к группе животных, не получавших препараты (К1) \*\* – по отношению к контрольным животным с моделированным МС (К2)

## ГЛАВА 7

# ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ ПРОДУКТОВ ПЕРЕРАБОТКИ ВИНОГРАДА В ЛЕЧЕНИИ И ПРОФИЛАКТИКЕ В ГРУППАХ РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ РИСКА РАЗВИТИЯ ГЕМОДИНАМИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА

### 7.1 Клиническая характеристика больных на санаторно-курортном этапе лечения

При исследовании клинической картины у больных ИБС (n=96) выявлено, что основные жалобы были на : болезненные ощущения, относящиеся к кардиальным и носящие типичный для приступов стенокардии характер, – у 78,7% пациентов, ухудшение памяти – 68,2 %, быструю утомляемость – 62,4 %, сердцебиение – 36,1 %, головную боль – 34,6 %, головокружение – 30,5 %, чувство напряжения, тревоги – 24,6 %, шум в ушах – 22,8 %, нарушение сна – 15,5 %.

Анализ клинических данных при поступлении на санаторно-курортное лечение больных с ГБ (n=163) показал, что основные жалобы были на : головную боль – у 76,2 % пациентов, ухудшение памяти – 65,7 %, головокружение – 63,4 %, быструю утомляемость – 52,1 %, шум в ушах – 35,5%, сердцебиение – 25,8 %, нарушение сна – 13,7 %.

При анализе показателей клинического анализа крови у пациентов с ИБС и ГБ при поступлении не было установлено статистически значимых различий. Так, средний исходный уровень лейкоцитов периферической крови в группе ИБС был  $7,5 (5,8;8,3) \times 10^9/\text{л}$ , в группе ГБ –  $5,3(4,0;6,5) \times 10^9/\text{л}$ . Скорость оседания эритроцитов у пациентов с ИБС при поступлении была достоверно ( $p < 0,05$ ) выше, чем у больных с ГБ:  $13,5 (10,3;14,0)$  и  $7,9 (7,0; 10,8)$ , соответственно.

Более половины обследованных с ГБ и около 40 % пациентов с ИБС согласились с оценкой себя как человека нервного. Беспокойство о своей работе отмечали 40 % пациентов с ИБС – 36 % мужчин и 25 % женщин с ГБ. Нервное напряжение в повседневной деятельности отмечалось половиной опрошенных, как с ГБ, так и с ИБС. При общении с другими людьми нервное напряжение было более характерно для пациентов с ИБС (50 % положительных ответов), чем для страдающих ГБ (от 34 до 41 %). Значительное психическое и физическое истощение к концу рабочего дня и напряженные отношения в семье отмечалось большинством опрошенных как с ГБ, так и с ИБС.

## **7.2 Изменения клинических данных у больных с ишемической болезнью сердца и гипертонической болезнью на фоне применения полифенольных продуктов переработки винограда в ходе санаторно-курортного лечения**

В ходе санаторно-курортного лечения с использованием полифенолов в виде продуктов переработки красного винограда в основных группах больных ГБ и ИБС большее число параметров изменялись в лучшую сторону, по сравнению с группами сравнения.

Назначение полифенольных продуктов в виде ЭПВ и ВСК больным способствовало положительной клинической динамике (Таблица 7.1). Так, у 84,4 % пациентов с ИБС было выявлено снижение в 2 раза числа ангинозных приступов ( $p < 0,05$ ). Также у 24,3 % больных данной группы при использовании ПППВ ФК стенокардии снизился со II до I. Кроме того, 87,3 % пациентов с ИБС демонстрировали увеличение толерантности к физической нагрузке на 22,4 % ( $p=0,002$ ).

Таблица 7.1 – Изменения клинических данных (баллы) у больных с ИБС, связанные с применением полифенольных продуктов переработки винограда в ходе санаторно-курортного лечения

Параметры (баллы)	Группа исследования		Группа сравнения
	ВСК	ЭПВ	
Динамика самочувствия'	-0,8*	-1,1*	-0,4
Жалобы на утомляемость при выписке	1,7*	1,8*	2,6
Динамика жалоб на затрудненное дыхание'	1,1*	1,1*	0,6
Динамика жалоб на утомляемость'	1,6*	1,6*	0,7
Динамика жалоб на одышку'	1,0	0,9	0,6
Жалобы на боли в области сердца при выписке	1,5*	1,4*	2,3
Динамика жалоб на боли в области сердца'	1,8*	1,9*	1,0
Сумма баллов всех жалоб при выписке	17,5*	17,8*	23,8

Примечания: \* – достоверное отличие значений параметра в группе исследования от параметра в группе сравнения ( $p < 0,05$ ), ' – динамика параметра = значение параметра в начале – значение параметра в конце курса лечения.

Позитивная динамика имела место также при использовании больными ИБС вина столового красного «Здоровье», достоверных различий от ЭПВ в клинической эффективности не отмечалось. При применении базового курса боли в области сердца снизились лишь у 52,7 % пациентов, жалобы на

сердцебиение уменьшились у 34,2 % больных, утомляемость сократилась у 55% пациентов.

Применение полифенольных продуктов в виде ЭПВ и ВСК способствовало положительной клинической динамике у больных с ГБ (Таблица 7.2).

Таблица 7.2 – Влияние полифенольных продуктов переработки винограда на клинические характеристики больных с ГБ, находящихся на санаторно-курортном лечении

Параметры (баллы)	Группа исследования		Группа сравнения
	ВСК	ЭПВ	
Динамика самочувствия'	-0,6*	-0,6*	-0,2
Жалобы на утомляемость при выписке	1,7*	1,6*	2,4
Динамика жалоб на головную боль'	1,3*	1,5*	0,6
Динамика жалоб на утомляемость'	1,2*	1,5*	0,6
Динамика жалоб на одышку'	0,8*	0,7	0,5
Динамика жалоб на нарушение сна'	0,5	0,6*	0,3
Динамика жалоб на головокружение'	0,7*	0,7*	0,3
Жалобы на шум в ушах при выписке	1,7	1,8	2,3
Динамика жалоб на боли в области сердца'	0,7*	0,6*	0,3
Сумма баллов всех жалоб при выписке	16,9*	16,8*	22,4

Примечания: \* – достоверное отличие значений параметра в группе исследования от группы сравнения ( $p < 0,05$ ), ' – динамика параметра = значение параметра в начале – значение параметра в конце курса лечения.

Так, в группах с использованием ПППВ у большинства больных (83 %) имело место уменьшение/исчезновение ряда клинических симптомов на фоне улучшения общего состояния пациентов. Базовый курс санаторно-курортного лечения характеризовался уменьшением клинической симптоматики и жалоб лишь у 44 % пациентов. В группе с ГБ+ЭПВ жалобы на сердцебиение уменьшились у 94,2 %, на головокружение – у 89,3 % пациентов (Таблица 7.2). Аналогичная положительная динамика и переносимость наблюдалась при использовании больными гипертонической болезнью вина столового красного «Здоровье»; достоверных различий в клинической эффективности не отмечалось. Описанная выше динамика при применении ЭПВ и ВСК дает основание положительно оценивать клиническую эффективность использования ПППВ как составной части санаторно-курортного лечения у больных ГБ и ИБС.

При проведении исследования выявлены сравнимые результаты назначения экстракта полифенолов или «Вина столового красного «Здоровье» в отношении влияния на сердечно-сосудистую систему. Это выражалось в том, что если в группе ГБ без использования полифенолов, САД снижалось на 14,3% ( $p < 0,001$ ), то в группе ГБ с применением как экстракта полифенолов, так и вина столового красного «Здоровье» уменьшение систолического АД составило 20 % ( $p < 0,001$ ). Что касается диастолического артериального давления, то наибольшее влияние на ДАД оказывало применение ЭПВ, способствующее снижению ДАД на 14% ( $p < 0,001$ ) (Таблица 7.3). Аналогичная динамика отмечена и в отношении САД у пациентов с ИБС.

Диастолическое АД также достоверно снижалось у больных с ИБС при добавлении ВСК к базовому курсу на 7 % ( $p = 0,01$ ) и на 9 % ( $p = 0,001$ ) в группе с применением ЭПВ.

Таблица 7.3 – Влияние полифенольных продуктов переработки винограда на динамику АД и ЧСС у больных с гипертонической болезнью и ИБС

Показатель		Динамика ЧСС (уд/мин)		Динамика САД (мм. рт. ст.)		Динамика ДАД (мм. рт. ст.)	
		Начальные значения	Значения при выписке	Начальные значения	Значения при выписке	Начальные значения	Значения при выписке
Серия							
ИБС	Группа сравнения	72±8; 72 (67; 77)	69±5; 68(67; 71)	138±17; 143 (134; 146)	**128±14; 130 (118; 140)	87±8; 85 (80; 95)	83±7; 80 (80; 85)
	ВСК	71±9; 69 (65; 78)	**66±5; 67(63; 70)	137±12; 140 (131; 144)	**123±11; 120 (115; 130)	87±7; 85 (80; 95)	**81±7; 80 (80; 85)
	ЭПВ	73±7; 75 (67; 77)	**66±7; 63(60; 69)	137±12; 135 (131; 140)	**124±9; 125 (116; 130)	88±8; 88 (80; 95)	**81±5; 80 (80; 85)
ГБ	Группа сравнения	78±8; 79 (74; 83)	74±6; 74(70; 79)	156±18; 160 (140; 175)	**137±8; 138 (135; 140)	94±10; 95 (90; 100)	**87±6; 95 (84; 91)
	ВСК	75±8; 78 (70; 80)	**71±7; 73(65; 78)	157±13; 155 (146; 170)	**131±16; 133 (116; 140)	94±10; 95 (85; 99)	**82±9; 80 (75; 90)
	ЭПВ	77±6; 78 (74; 80)	**70±6; 69(65; 74)	156±19; 163 (136; 170)	*, *129±11; 130 (120; 135)	96±10; 95 (90; 105)	**84±7; 85 (80; 90)

Примечания : Количественные значения представлены в формате:  $M \pm \sigma$ ,  $Me$  ( $Q_{25\%}$ ;  $Q_{75\%}$ ). Достоверность различий ( $p < 0,05$ ): \* – по отношению групп исследования к группам сравнения, \*\* – по отношению параметров при поступлении и при выписке, \*\*\* – по отношению группы с применением ВСК к группе с использованием ЭПВ.



Наряду с благотворными эффектами полифенолов на ССС, у больных с ИБС наблюдалась положительная динамика и в отношении улучшения функции дыхательной системы. Следует отметить, что при поступлении статистически значимых различий в клинических данных и в показателях функции внешнего дыхания в группах исследования и сравнения выявлено не было. К моменту окончания курса санаторно-курортного лечения была установлена клиническая эффективность продуктов переработки красного винограда, которая проявлялась улучшением аускультативного характера дыхания, уменьшением хрипов в легких.

Исследование функции внешнего дыхания продемонстрировало положительные тенденции в группах с применением ПППВ по отношению к группе сравнения к моменту окончания курса санаторно-курортного лечения (Таблица 7.4).

Таблица 7.4 – Влияние полифенольных продуктов переработки винограда на функции внешнего дыхания у больных с ишемической болезнью сердца при выписке

Показатель	Группа сравнения	ВСК	ЭПВ
ФЖЕЛ, % от должного	70 (58; 73)	*77 (66; 85)	*80 (67;91)
ЖЕЛ, % от должного	85 (70; 88)	90(77; 99)	*95 (79; 108)
ДО, мл	443 (390; 479)	465 (414; 519)	471 (416; 502)
ЧДД/мин	20 (18; 22)	19(17; 21)	20 (17; 21)
МОС75, % от должного	49 (47; 64)	52 (50;72)	*56 (54;72)
МОС50% от должного	51 (40; 56)	55 (48; 63)	*60 (57; 69)
МОС25, % от должного	57 (46; 60)	*64 (58; 66)	*69 (64; 73)

Примечания : ЖЕЛ – жизненная емкость легких, ФЖЕЛ – форсированная ЖЕЛ, ДО – дыхательный объем, ЧДД – частота дыхания, МОС75%, МОС50%, МОС25% –максимальная объемная скорость выдоха на уровне 25%, 50% и 75% ФЖЕЛ. Значения представлены в формате: Me (Q<sub>25%</sub>; Q<sub>75%</sub>). Достоверность различий (p < 0,05): \* – по отношению групп исследования к группе сравнения, \*\* – по отношению группы с применением ЭПВ к группе с ВСК.

Так, отмечено некоторое увеличение дыхательного объема, достоверный ( $p < 0,05$ ) рост ЖЕЛ и ФЖЕЛ в группе с применением ЭПВ. Выявлена тенденция к увеличению указанных выше показателей и при назначении ВСК, однако сдвиги не были статистически достоверны. Также при использовании ПППВ отмечено увеличение максимальной объемной скорости выдоха на уровне 25 % и 75 % ФЖЕЛ. Положительные клинические эффекты применения полифенольных продуктов переработки винограда в составе санаторно-курортного лечения также имели место у больных ГБ. Позитивные сдвиги проявлялись в улучшении аускультативного характера дыхания, уменьшении ЧДД. Достоверной разницы других параметров функции внешнего дыхания для исследуемых групп и групп сравнения не получено.

Применение продуктов переработки красного винограда оказало положительный эффект на психоэмоциональное состояние обследуемых пациентов. После проведенного курса лечения с оценкой себя как человека нервного не согласились более 50 % мужчин и 50 % женщин с ГБ и 70 % пациентов с ИБС. В то же самое время, беспокойство о своей работе не отмечали 50 % пациентов с ИБС, и более 50 % – с ГБ. Нервное напряжение в повседневной деятельности не отмечалось у 60 % опрошенных мужчин и 73 % женщин ГБ, и 70 % – с ИБС. Нервное напряжение при общении с другими людьми значительно снизилось у больных с ИБС (40 % положительных ответов), и ГБ (от 38 % до 18 % положительных ответов). Однако, значительное психическое и физическое истощение к концу дня продолжали испытывать 21 % мужчин и 24 % женщин с ГБ и 40 % пациентов с ИБС, а напряженные отношения в семье по-прежнему отмечались большинством опрошенных как с ГБ, так и с ИБС.

Наряду с изучением функционального состояния органов и систем у больных ИБС и ГБ, находящихся на санаторно-курортном лечении, был изучен ряд лабораторных параметров. По окончании курса санаторно-курортного лечения, дополненного приемом ПППВ, наблюдались следующие изменения в ОАК у больных ИБС (Таблица 7.5): достоверное понижение уровня лейкоцитов (в группе с использованием ЭПВ – на 24,2 % ( $p < 0,01$ ), в группе с применением

ВСК – на 29,4 % ( $p < 0,01$ ), при этом в группе сравнения снижение составило 12% ( $p < 0,05$ ). У больных с ГБ значимых различий в количестве лейкоцитов периферической крови до и после курса санаторно-курортного лечения выявлено не было. Число эритроцитов в группах ИБС и ГБ до и после курса лечения достоверно не различалось и было в пределах возрастной нормы. Также использование полифенолов в дополнение к базовому комплексу способствовало росту цветного показателя у больных ИБС на 11 % в группе с ВСК и на 16 % ( $p > 0,01$ ) – в группе с ЭПВ по сравнению с группой сравнения. Общий анализ крови у больных ИБС и ГБ (основные и сравнения) значимых различий в количестве тромбоцитов не показал ( $p > 0,05$ ): средние их значения во всех группах составляли  $272 (185; 297) \times 10^9/\text{л}$ .

Таблица 7.5 – Показатели общего анализа периферической крови пациентов с ИБС по окончании курса санаторно-курортного лечения на фоне применения ПППВ

Показатели крови	Исследуемые группы		Группа сравнения
	ВСК	ЭПВ	
Эритроциты( $\times 10^{12}$ /л)	4,8 (4,3; 5,0)	4,5 (4,1; 4,8)	4,6 (4,2; 4,9)
Нь, г/л	*151(138; 155)	*149(135;152)	132 (125; 144)
ЦП	*0,94	*0,99	0,85
Лейкоциты ( $\times 10^9$ /л)	*5,3 (3,9; 5,8)	*5,7 (4,2; 5,9)	6,6(4,9; 7,4)
Тромбоциты( $\times 10^9$ /л)	272 (295; 297)	285 (220; 310)	267 (188; 296)
СОЭ, мм/ч	9,7 (8,0; 11,6)	8,4 (7,2; 10,8)	10,9 (9,3;12,8)

Примечание: Значения представлены в формате: Me ( $Q_{25\%}$ ;  $Q_{75\%}$ ). Достоверность различий ( $p < 0,05$ ): \* – по отношению групп исследования к группе сравнения, \*\* – по отношению группы с применением ЭПВ к группе с ВСК.

Применение полифенолов винограда у больных с ИБС способствовали снижению СОЭ в большей степени, чем при назначении базового курса санаторно-курортного лечения. Так, назначение ЭПВ снижало СОЭ на 37% ( $p < 0,05$ ), ВСК – на 28 % ( $p > 0,1$ ), а в группе сравнения СОЭ недостоверно уменьшалась на 19 % ( $p > 0,1$ ). Значимых различий в уровне скорости оседания эритроцитов у больных с ГБ установлено не было. Достоверных статистических данных при использовании экстракта полифенолов или «Вина столового красного «Здоровье» в отношении влияния на общий клинический анализ крови выявлено не было.

У больных ишемической болезнью сердца уровень ХС был сравнимым и повышенным в группах сравнения и исследования до лечения :  $6,60 \pm 1,39$ ;  $6,72$  ( $5,58$ ;  $7,62$ ), и  $6,44 \pm 1,22$ ;  $6,54$  ( $5,58$ ;  $7,23$ ), и  $6,71 \pm 0,92$ ;  $6,86$  ( $6,26$ ;  $7,39$ ) ммоль/л, в группах сравнения и исследования ВСК и ЭПВ, соответственно, и снизился после прохождения курса санаторно-курортного лечения. Следует отметить, что в группах с применением ПППВ уменьшение общего холестерина было достоверно ( $p < 0,05$ ) более выраженным, чем в группе сравнения (Таблица 7.6, Рисунок 7.1).

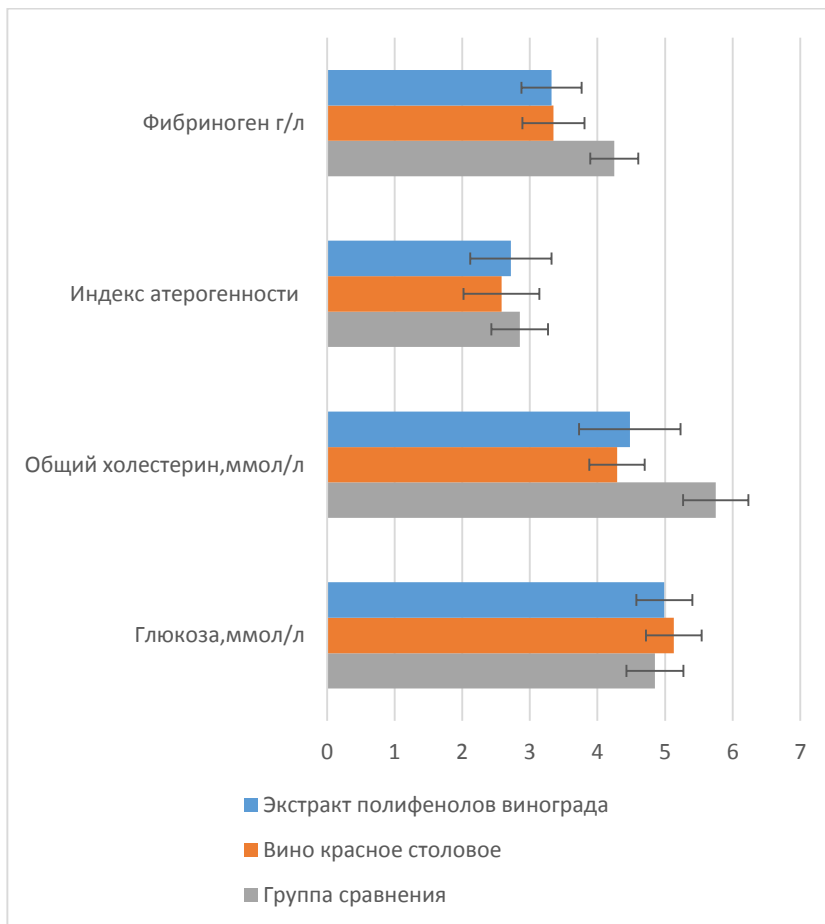


Рисунок 7.1 – Значения биохимических параметров при выписке в группе сравнения и на фоне применения полифенолов в виде продуктов переработки красного винограда у больных с ИБС

Таблица 7.6 – Значения биохимических параметров при выписке в группе сравнения и на фоне применения полифенолов в виде продуктов переработки красного винограда у больных с ГБ и ИБС

Показатель	Группа сравнения	Группа исследования	
		ВСК	ЭПВ
<b>ИБС</b>			
Глюкоза, ммоль/л	4,85 (4,62;5,46)	5,13 4,76;5,58)	4,99 (4,51;5,34)
ХС, ммоль/л	5,75 ,15;6,12)	*4,29 ,06;4,88)	*4,48 (4,05;5,55)
КА, у.е.	2,85±0,42	2,58±0,56	2,72±0,60
Фибриноген, г/л	4,25 (3,90;4,61)	*3,35(3,04;3,96)	*3,32(2,95;3,84)
Общий билирубин, мкмоль/л	15,1 (11,8;16,5)	14,4 (10,8;15,7)	14,6 (11,2;16,4)
<b>ГБ</b>			
Глюкоза, ммоль/л	5,46 4,29;5,80)	5,04(4,43;5,55)	5,08 (4,58;5,49)
ХС, ммоль/л	5,41 (4,61;6,35)	*4,51 4,09;5,09)	4,92 (4,23;5,87)
КА, у.е.	2,63±0,44	2,60±0,40	2,93±0,42
Фибриноген, г/л	3,44 (2,82;3,90)	3,30(2,80;3,90)	3,35(3,02;3,87)
Общий билирубин, мкмоль/л	14,6 (10,9;15,7)	15,3 (12;16,8)	14,8 (11,4;16,3)

Примечания : КА – коэффициент атерогенности, ХС – холестерин, у.е.- условные единицы Количественные значения представлены в формате:  $M \pm \sigma$ ,  $M_e$  ( $Q_{25\%}$ ;  $Q_{75\%}$ ). Достоверность различий ( $p < 0,05$ ): \* – по отношению групп исследования к группам сравнения, \*\* – по отношению группы с применением ВСК к группе с использованием ЭПВ.

Эффективность использования экстракта полифенолов или «Вина столового красного «Здоровье» была сравнимой и превосходила влияние курса санаторно-курортного лечения на состояние обследуемых. Коэффициент атерогенности после лечения в условиях санатория и применения курса

полифенолов в виде продуктов переработки красного винограда составил  $2,58 \pm 0,56$  и  $2,72 \pm 0,60$  при использовании в лечении ВСК и ЭПВ, соответственно. Таким образом, применение ПППВ позволило приблизить к значениям нормы ряд показателей липидного обмена, особенно нарушенных у больных с ИБС.

Другие биохимические показатели крови (глюкоза, общий билирубин) у пациентов, страдающих ИБС, достоверно не различались при поступлении и при выписке. Использование ПППВ, как и базовый санаторно-курортный курс, практически не влияли на указанные биохимические показатели крови (Таблица 7.6, Рисунок 7.1).

При поступлении у больных с ишемической болезнью сердца имел место относительно высокий уровень фибриногена в плазме крови : средние его значения во всех группах ИБС составили  $5,10$  ( $4,35$ ;  $5,40$ ) г/л. К концу курса санаторно-курортного лечения отмечалась тенденция к снижению данного показателя, однако степень этого уменьшения была различной. Так, применение курса полифенолов в виде продуктов переработки красного винограда характеризовалась одинаковым достоверным снижением ФГ (на 34 % ( $p < 0,05$ )) к концу лечения при использовании в лечении и ВСК, и ЭПВ. В то же время больные, получавшие базовый санаторно-курортный курс, не отмечали столь заметного понижения данного показателя и результаты этого снижения были недостоверны ( $p > 0,5$ ). Биохимический анализ крови у больных опытных групп и групп сравнения с ГБ значимых различий в уровне исследуемых параметров при поступлении и при выписке не показал. Установлено положительное влияние курса полифенолов в виде продуктов переработки красного винограда в отношении уровня липидов и холестерина, что является дополнительным подтверждением "французского парадокса" и эффективности полифенолов в отношении нормализации липидного обмена.

Анализ результатов исследования показал более высокие значения С-реактивного белка в группе пациентов с ИБС, по сравнению с данными у больных с ГБ. Так, при исследовании показателей всех обследованных ( $n=96$ ) больных с основным диагнозом ИБС уровень СРБ (мг/л) был  $1,47 \pm 0,37$ ; медиана

составила 1,47 (0,08; 2,56), что было достоверно на 21,7 % выше значений в группе больных гипертонической болезнью. Использование продуктов переработки красного винограда с высоким содержанием полифенолов способствовало снижению уровня СРБ у больных. Так, в группе пациентов с ИБС назначение ЭПВ приводило к понижению СРБ к моменту выписки пациентов на 42,7 % ( $p=0,002$ ) по сравнению с показателями при поступлении.

Применение ВСК также снижало С-реактивный белок, уровень которого был достоверно ( $p=0,001$ ) на 39,2 % ниже исходных значений в группе больных с ИБС. Следует отметить, что в группе сравнения у больных ишемической болезнью сердца, получавших базовое санаторно-курортное лечение, также отмечено некоторое понижение СРБ, однако выявленное уменьшение было статистически недостоверно.

Исследование динамики СРБ в группе больных гипертонической болезнью также продемонстрировало положительные сдвиги от применения ЭПВ и ВСК, причем эффективность этих продуктов переработки винограда действия была сравнимой. Так, использование ЭПВ в течение 14-ти дней достоверно ( $p=0,004$ ) снижало уровень СРБ с  $1,88\pm 0,31$  до  $1,06\pm 0,23$ ; применение ВСК характеризовалось аналогичной динамикой С-реактивного белка. Эффективность ЭПВ и ВСК была сравнимой и превосходила позитивный эффект от базового санаторно-курортного лечения.

Полученные нами результаты анализа окислительно-антиоксидантного гомеостаза у больных ИБС и ГБ представлены в Таблица 7.7 и 7.8.



Таблица 7.7 – Влияние продуктов переработки красного винограда с высоким содержанием полифенолов на показатели перекисного окисления липидов у больных ИБС и ГБ в период санаторно-курортного лечения

Показатель			ТБК-АП, нМ*МДА/мл		Диеновые конъюгаты, у.е./мл	
			Значения		Значения	
Серия			начальные	при выписке	начальные	при выписке
			ИБС	Группа сравнения	М	194,52
σ	26,04	25,11			0,32	0,28
ВСК	М	186,97		134,97	3,02	2,18
	σ	34,82		20,09	0,30	0,27
ЭПВ	М	185,15		130,91	2,95	2,21
	σ	31,23		26,06	0,28	0,23
ГБ	Группа сравнения	М	178,00	163,07	2,87	2,65
		σ	28,21	32,55	0,27	0,25
	ВСК	М	177,17	168,35	2,95	2,24
		σ	27,03	21,37	0,28	0,22
	ЭПВ	М	184,00	177,18	3,07	2,45
		σ	26,79	22,16	0,29	0,27

Примечание : Количественные значения представлены в формате :  $M \pm \sigma$ . ЭПВ – экстракт полифенолов винограда, ВСК – вино столовое красное «Здоровье». Достоверность различий (p) приведена в тексте.

Проведенные исследования показали достоверное снижение уровня ТБК-АП на 22,5 % ( $p < 0,001$ ) в группе сравнения к моменту завершения лечения, что свидетельствует об эффективности базового санаторно-курортного курса. В группах исследования с применением ПППВ также имело место снижение уровня вторичных продуктов ПОЛ на 30,3 % ( $p < 0,001$ ) при использовании ВСК

и на 32,3 % ( $p < 0,001$ ) при применении ЭПВ, что на 10,6 % и 13,4 %, соответственно, эффективнее, чем в группе сравнения.

Аналогичное снижение продемонстрировано в содержании первичных продуктов ПОЛ, представленных диеновыми конъюгатами. Если в группах сравнения как у больных ГБ, так и ИБС снижение ДК было не достоверно на уровне 7-8 %, то при использовании ПППВ снижение было более выраженным. У больных ГБ оно достигало 20 % и 24 % ( $p < 0,01$ ) в группах ЭПВ и ВСК, соответственно. А в группах больных ИБС содержание ДК уменьшалось на 25 % и 28 % ( $p < 0,001$ ), соответственно при использовании экстрактов и винного напитка.

Анализ динамики уровня ТБК-активных продуктов в группе сравнения больных с ГБ показал достоверное снижение ТБК-АП на 19,3 % ( $p < 0,001$ ). Назначение ВСК в дополнение к базовому курсу санаторно-курортного лечения способствовало более выраженному понижению вторичных продуктов ПОЛ : на 25,1 % ( $p < 0,001$ ). Аналогичная динамика отмечена и при использовании ЭПВ : снижение в данном случае составило 24,2 % ( $p < 0,001$ ). Однако, сравнение результатов базового лечения и комплекса основного курса с применением ПППВ не выявило достоверных различий в динамике ТБК-АП.

Исследованиями установлено положительное влияние полифенолов в виде продуктов переработки красного винограда на состояние антиоксидантного потенциала у больных с ишемической болезнью сердца (Таблица 7.8). Так, в группе сравнения, у больных ишемической болезнью сердца, получавших базовое санаторно-курортное лечение, на момент выписки имело место понижение ЦП плазмы крови на 12,4 % ( $p = 0,064$ ).

Таблица 7.8 – Влияние продуктов переработки красного винограда с высоким содержанием полифенолов на некоторые показатели перекисного окисления липидов у больных ИБС и ГБ в период санаторно-курортного лечения

Показатель			КПА, мкМ*л/сек		ЦП, мг/л	
			Значения		Значения	
Серия			начальны е	при выписке	начальны е	начальные
			ИБС	Группа сравнения	М	194,52
σ	26,04	25,11			22,38	29,53
ВСК	М	136,97		154,97	199,07	143,49
	σ	24,82		20,09	21,89	23,59
ЭПВ	М	185,15		230,91	181,91	139,97
	σ	31,23		26,06	30,54	24,40
ГБ	Группа сравнения	М	178,00	163,07	169,74	149,26
		σ	28,21	22,55	28,12	22,65
	ВСК	М	177,17	198,35	175,38	141,26
		σ	27,03	21,37	35,03	23,19
	ЭПВ	М	154,00	207,18	191,42	148,10
		σ	26,79	22,16	35,88	26,48

Примечание : Количественные значения представлены в формате :  $M \pm \sigma$ .  
 ЭПВ – экстракт полифенолов винограда, ВСК – вино столовое красное «Здоровье». Достоверность различий (p) приведена в тексте.

Использование ПППВ способствовало выраженному снижению ЦП у больных ИБС в группах исследования. Так, в группе пациентов с назначением ВСК наблюдалось достоверное уменьшение церулоплазмينا на 39,4 %

( $p < 0,001$ ), к моменту выписки пациентов, что было на 15 % ( $p > 0,5$ ) меньше показателя группы сравнения. Применение экстракта полифенолов также превосходило влияние базового курса в отношении ЦП, который снижался на 42,1 % ( $p < 0,001$ ) и был при этом на 19,9 % ( $p > 0,25$ ) ниже значений в группе сравнения.

С другой стороны, при определении каталазы в группе сравнения больных с ИБС к моменту окончания санаторно-курортного лечения отмечалось незначительное снижение показателя. При использовании ВСК наблюдалась тенденция к повышению КПА на 13,1 % ( $p < 0,05$ ). А применение ЭПВ приводило к достоверному повышению уровня КПА у больных с ИБС на 24 % ( $p < 0,01$ ) по отношению к исследованию до начала исследования.

Анализ уровня активности каталазы у больных с ГБ при сравнении базового курса и лечения на фоне применения ПППВ показал наибольший рост активности фермента на 34,4 % ( $p < 0,001$ ) при применении ЭПВ. Применение ВСК характеризовалось увеличением уровня КПА на 24,8 % ( $p < 0,05$ ) по сравнению с больными, получавшими базисную терапию.

Уровень церулоплазмينا плазмы крови у пациентов с гипертонической болезнью достоверно не различался до и после курса санаторно-курортного лечения. Использование продуктов переработки красного винограда с высоким содержанием полифенолов, как и базовый санаторно-курортный курс, практически не влияли на динамику ЦП плазмы крови у больных с ГБ.

ПППВ, по нашему мнению, имеют все показания к применению в качестве антиоксидантного и средства, модулирующего баланс системы «протеолитические ферменты-ингибиторы протеолиза».

Нами был подтвержден достоверный биологический эффект полифеносодержащих продуктов в коррекции проявлений ПОЛ, ферментемии и оксидативного стресса.

Полученные результаты позволяют заключить, что для продуктов переработки красного винограда с высоким содержанием полифенолов (и ВСК, и ЭПВ) характерен антиоксидантный эффект, который проявляется как у

больных ИБС, так и у пациентов с ГБ. Этот эффект превосходит таковой от базового санаторно-курортного курса и подтверждается стабильным состоянием антиоксидантных ферментов на фоне подавления процессов ПОЛ. Выявленные положительные сдвиги подтверждают целесообразность применения продуктов переработки красного винограда с высоким содержанием полифенолов у этих категорий больных.

Следовательно, применение ПППВ в комплексной терапии больных ГБ и ИБС, находящихся на санаторно-курортном лечении, оказывает не только гипотензивное действие и уменьшает выраженность различных соматических жалоб, но нормализует также липидный обмен и активность антиоксидантной системы.

Полученные результаты клинических исследований дают основание положительно оценивать эффективность лечебно-профилактического курса ПППВ, как составной части санаторно-курортного лечения у больных с ГБ и ИБС.

В последнее время появились дополнительные доказательства роли значительной стрессовой нагрузки в развитии ССЗ. Все большее значение в патогенезе ССЗ, отягощенных эмоциональным компонентом, придается оксидативному стрессу и системному низкоинтенсивному воспалению. Есть данные, свидетельствующие о том, что уровни воспалительных и свободнорадикальных маркеров, таких как С-реактивный белок и церулоплазмин, значительно увеличиваются при психоэмоциональном стрессе и коррелируют с высоким риском развития ГБ и ИБС [342]. Установлено, что повышение уровня острофазовых белков коррелирует с существованием хронического стресса и риском развития ССЗ [333]. В современных условиях не приходится ожидать значительного уменьшения психоэмоционального стресса. Последний тесно связан с развитием оксидативного стресса, а, следовательно, негативно влияет на развитие ГБ и ИБС.

У обследуемых пациентов существовало состояние хронического стресса, которое явилось значительным фактором риска в развитии как ГБ, так и ИБС. Это выражалось в том, что большинство из опрошенных относились к группе с

высоким уровнем психосоциального стресса (Рисунок 7.2). При вычислении показателя стресса по шкале психосоциального стресса Л. Ридера было определено, что 45 % мужчин и 62 % женщин с ГБ, а также 70 % пациентов с ИБС относились к группе с высоким уровнем психосоциального стресса. При анализе показателя удовлетворенности жизнью было установлено, что последний варьировал от -3 до -4 у пациентов с ГБ и -5 у пациентов с ИБС.

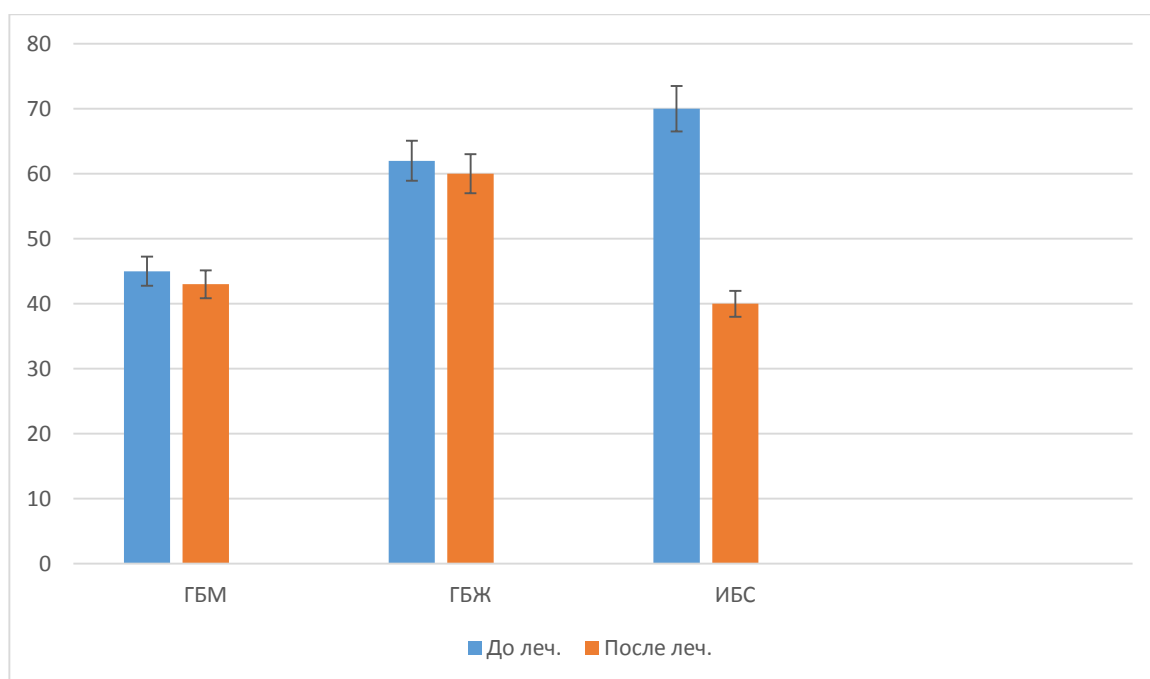


Рисунок 7.2 – Уровень показателя стресса по шкале психосоциального стресса Л. Ридера (% лиц с высоким уровнем психосоциального стресса от общего количества обследованных)

Применение продуктов переработки красного винограда оказало положительный эффект на психоэмоциональное состояние обследуемых пациентов. При вычислении *показателя стресса* по шкале психосоциального стресса Л. Ридера было определено, что 57 % мужчин и 40 % женщин с ГБ, а также 60 % пациентов с ИБС после проведенного курса приема ПППВ относились к группе с низким уровнем психосоциального стресса. *Показатель*

*удовлетворенности жизнью* варьировал от -4 до -3 у пациентов с ГБ и -4 у пациентов с ИБС, что является показателем среднего уровня удовлетворенности жизнью в целом.

Влияние суммарного комплекса полифенолов носило позитивный характер и проявилось также в улучшении функционального состояния системы кровообращения.

Указанные изменения возникали вследствие снижения проявлений оксидативного стресса и системного низкоинтенсивного воспаления. Это подтверждалось, прежде всего, динамикой уровней С-реактивного белка в исследуемых группах. Известно, что повышение уровня С-реактивного белка коррелирует с риском развития сердечно-сосудистых осложнений у больных со стенокардией и инфарктом миокарда, поэтому определение СРБ (наряду с уровнем холестерина) используется для выделения группы высокого риска развития артериальной гипертензии, атеросклероза [193]. Высокие значения СРБ у исследуемых пациентов при поступлении следует рассматривать совместно с увеличением количества лейкоцитов и СОЭ, как свидетельства снижения уровня антиоксидантного потенциала и развития системного низкоинтенсивного воспаления.

В группе пациентов с ИБС назначение ЭПВ приводило к понижению СРБ к моменту выписки пациентов на 42,7 % ( $p=0,002$ ) по сравнению с показателями при поступлении. Применение ВСК также снижало С-реактивный белок, уровень которого был достоверно ( $p=0,001$ ) на 39,2 % ниже исходных значений в группе больных с ИБС. В группе с ГБ уровень СРБ снизился на 43 % (как при применении ВСК, так и ЭПВ). Применение ПППВ также достоверно снижало уровень общего холестерина на 22 % в обеих исследуемых группах. Следует отметить, что использование полифенолов снижало СРБ во всех группах ниже 1,2 мг/л (до уровня низкого риска развития сердечно-сосудистой патологии). Таким образом, назначение в комплексе санаторно-курортного лечения полифенолов в виде продуктов переработки красного винограда у пациентов с

ИБС и ГБ способствовало уменьшению СРБ, что следует рассматривать как подавление субклинического воспаления.

Кроме СРБ, достоверным маркером ОС и кардиоваскулярного риска является уровень церулоплазмينا [22]. В группе пациентов с назначением ВСК наблюдалось достоверное уменьшение церулоплазмينا на 39,4 % ( $p < 0,001$ ) к моменту выписки пациентов, что было на 15 % ( $p > 0,5$ ) меньше показателя группы сравнения. Применение экстракта полифенолов также превосходило влияние базового курса в отношении ЦП, который снижался на 42,1 % ( $p < 0,001$ ) и был при этом на 19,9 % ( $p > 0,25$ ) ниже значений в группе сравнения. По-видимому, повышение уровня ЦП свидетельствует о высоком уровне окислительных и воспалительных процессов при ишемической болезни сердца, так как церулоплазмин является белком острой фазы. Полифенолы превосходили положительное влияние от базового санаторно-курортного лечения и способствовали нормализации уровня церулоплазмينا плазмы крови.

В группах исследования с применением ПППВ имело место снижение уровня вторичных продуктов ПОЛ на 30,3 % ( $p < 0,001$ ) при использовании ВСК и на 32,3 % ( $p < 0,001$ ) при применении ЭПВ, что на 10,6 % и 13,4 %, соответственно, эффективнее, чем в группе сравнения. Аналогичное снижение продемонстрировано в содержании первичных продуктов ПОЛ, представленных диеновыми конъюгатами. У больных ГБ оно достигало 20 % и 24 % ( $p < 0,01$ ) в группах ЭПВ и ВСК, соответственно. А в группах больных ИБС содержание ДК уменьшалось на 25 % и 28 % ( $p < 0,001$ ), соответственно при использовании экстрактов и винного напитка. Таким образом, применение ПППВ привело к минимизации перекисного окисления липидов как еще одного негативного эффекта ОС.



## ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, нами обоснована возможность использования полифенольных продуктов переработки винограда как комплекса, влияющего на ключевые механизмы формирования МС.

Результаты экспериментального исследования демонстрируют, что модель МС, основанная на фруктозосодержащей диете, является полностью состоятельной. S. Audin и соавт. [413] утверждают, что если крысам линии Wistar давать для питья вместо воды 10 % раствор фруктозы, то уже к концу 1-й недели у них развивается гипертензия, как важный компонент МС. Также в литературе последних лет имеются многочисленные диет-индуцированные модели МС [72, 82, 179]. Наш выбор модели был обусловлен тем, что последние исследования показывают, что высокое потребление именно рафинированных углеводов, особенно фруктозы, повышает риск развития резистентности к инсулину [40]. М. В. Решетняк и соавт. [83] использовали модель с 10 % раствором фруктозы вместо питьевой воды. В нашей 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. Таким образом, общераспространенное мнение о безопасности фруктозы и ее бесконтрольного употребления в составе диетических продуктов должно быть пересмотрено.

Проявления МС при моделировании в той или иной степени присутствовали во всех экспериментальных группах, что было вызвано, в первую очередь, абдоминальным ожирением. Так, в группе с МС без коррекции размеры висцеральных адипоцитов находились в обратной корреляционной зависимости с активностью СОД и ЦП (коэффициент Спирмена -0,6 и -0,7), причем более слабая степень обратной корреляции между указанными показателями сохранялась в экспериментальных группах Э1 и Э3, даже при

коррекции ПППВ (Таблица 1). Значительная положительная корреляция наблюдалась между размерами висцеральных адипоцитов и активностью КПА (коэффициент Спирмена 0,75), отрицательная – между размерами адипоцитов и ТПА (коэффициент Спирмена -0,85), между размерами адипоцитов и АТА (коэффициент Спирмена -0,73), ЭПА (коэффициент Спирмена -0,72), и КСИ (коэффициент Спирмена -0,44) (Таблица 1).

Таблица 1 – Корреляция между показателями системы свободнорадикального окисления липидов и протеолиза и размерами висцеральных адипоцитов при моделировании МС и его коррекции ПППВ (коэффициент Спирмена (r-Спирмена) с указанием p)

Показатели	К2	Э1	Э2	Э3	Э4
Адипоциты/СОД	-0,5*	-0,14	0,3	-0,06	0,13
Адипоциты/ЦП	-0,7 *	-0,3	-0,6*	0,07	0,13
Адипоциты/КПА	0,75 *	-0,02	0,5	0,07	-0,01
Адипоциты/ТПА	-0,85 *	-0,4	0,37	0,06	-0,01
Адипоциты/ЭПА	-0,72*	0,01	0,07	0,066	0,14
Адипоциты/ТБКА	-0,2	-0,4	-0,05	0,3	-0,04
Адипоциты/ПА	0,3	-0,6*	0,14	-0,04	-0,04
Адипоциты/АТА	-0,73*	-0,24	0,5	0,066	-0,14
Адипоциты/КСИ	-0,44	0,3	0,07	0,3	0,14

Примечание: \* -  $p < 0,05$

Как известно, размеры адипоцитов коррелируют с риском развития СД2 [408] и сердечно-сосудистой патологии [24]. Размеры адипоцитов в группе без коррекции превосходили таковые в контрольной группе более чем в 2 раза, 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 КПА по сравнению с контрольной группой. Таким образом, при МС увеличение массы абдоминальной жировой ткани и избыточное накопление в ней внутриклеточных липидов приводит к угнетению механизмов антирадикальной защиты.

Инсулинорезистентность, как локальная, в жировой ткани, так и системная, приводит к развитию гипергликемии. 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 (коэффициент корреляции Спирмена 0,81).

Рецепторы PPAR $\gamma$  играют важную роль в углеводно-липидном обмене, дифференцировке адипоцитов и накоплении в них липидов [269]. В данной группе наблюдалась гипергликемия с положительной зависимостью между концентрацией глюкозы и ОХС (коэффициент корреляции Спирмена 0,5) и ТГ (коэффициент корреляции Спирмена 0,4). Отрицательная корреляция между концентрацией глюкозы и GLUT4 (коэффициент корреляции Спирмена -0,6) указывала на то, что, несмотря на увеличение количества данных инсулинзависимых белков-переносчиков глюкозы в данной группе по сравнению с контрольной, их концентрация оказалась недостаточной для полноценного транспорта глюкозы в клетки, что связано, на наш взгляд, с глюкозотоксичностью и развитием оксидативного стресса. Как известно, высокая гипергликемия приводит к развитию глюкозотоксичности, которая выражается в неферментативном гликозилировании белков с утратой их функций [3, 34]. Глюкозотоксичность способствует образованию избыточного количества свободных радикалов, вызывающих окислительный стресс, при этом

нарушаются процессы образования белков, синтеза гормонов (в том числе инсулина), преобразования углеводов и т. д. [84].

Установлено, что механизм развития инсулинорезистентности адипоцитов включает в себя как непосредственно снижение экспрессии GLUT4, так и нарушение транслокации переносчика в клеточную мембрану [284]. Мы имеем основания полагать, что вследствие глюкозотоксичности и оксидативного стресса происходит повреждение названных белков-переносчиков и нарушение их транспортных функций. Данное положение подтверждается обратной корреляционной зависимостью между концентрацией глюкозы и PPAR $\gamma$  (коэффициент корреляции Спирмена -0,7) размерами адипоцитов и активностью СОД и ЦП коэффициент корреляции Спирмена -0,5 и -0,7) (увеличение размеров клеток сопровождается снижением антиоксидантной защиты) и размерами адипоцитов и АТА коэффициент корреляции Спирмена -0,73) (увеличение размеров клеток сопровождается ростом повреждающих тенденций, в том числе и на уровне рецепторов и транспортных белков). Также имеется отрицательная зависимость между размерами адипоцитов и PPAR $\gamma$ , то есть, увеличение размеров жировых клеток, по-видимому, не сопровождается притоком молодых, созревающих адипоцитов, модулятором дифференциации которых является PPAR $\gamma$  [320] (Таблица 2).

Таблица 2 – Корреляционный анализ взаимоотношений морфометрических показателей с параметрами углеводного и липидного обмена и молекулярными маркерами МС и при его коррекции ПППВ

Показатели	K2	Э1	Э2	Э3	Э4
Адиipoциты/ GLUT4	-0,3	-0,04	0,2	0,3	0,4
Адиipoциты/ TLR 4	-0,2	0,37	-0,44	-0,12	0,11
Адиipoциты/ PPAR $\gamma$	-0,3	0,3	0,2	-0,03	-0,14
Адиipoциты/ СРБ	0,2	0,05	-0,1	0,07	0,05
Адиipoциты/ Глюкоза	0,2	-0,4	0,2	0,3	-0,7*
Адиipoциты/ ТГ	0,2	-0,3	0,5*	0,3	-0,08
Адиipoциты/ ОХС	0,7*	-0,3	-0,6*	0,07	-0,18
Адиipoциты/ ЛПВП	0,2	-0,006	-0,2	-0,2	0,1

Примечание : представлен ранговый коэффициент Спирмена (r-Спирмена) с указанием  $p^*$  -  $p < 0,05$

Таблица 3 – Корреляционный анализ взаимоотношений показателей углеводного и липидного обмена с параметрами ПОЛ/ПРОТ и молекулярными маркерами МС и при его коррекции ПППВ

Показатели	K2	Э1	Э2	Э3	Э4
Глюкоза/ТГ	0,4	-0,5	-0,24	0,6*	0,05
Глюкоза/ЛПВП	-0,5*	-0,2	-0,3	-0,1	0,18
Глюкоза/ОХ	0,3	0,32	0,92	-0,4	0,0011
Глюкоза/ GLUT4	-0,6*	0,2	0,03	-0,06	-0,6*
Глюкоза/ TLR 4	0,03	0,25	-0,7*	-0,21	0,08
Глюкоза/ PPAR $\gamma$	-0,7*	-0,2	-0,05	-0,03	0,06
Глюкоза/СРБ	0,4	0,7*	-0,2	0,52	-0,13
ТГ/ PPAR $\gamma$	-0,4	0,2	0,1	0,09	-0,23

Продолжение таблицы 3

ОХС/ PPAR $\gamma$	-0,63*	0,13	0,14	-0,19	0,5*
ОХС/ TLR 4	-0,6*	-0,07	0,24	0,44	0,52*
ЛПВ/ PPAR $\gamma$	0,6*	-0,32	-0,08	-0,09	-0,01
GLUT 4/ЛПВ	0,4	0,2	-0,22	0,27	-0,5
ЛПВ/СРБ	0,051	0,63*	-0,02	-0,4	0,3
СРБ/ТБКА	0,3	0,4	0,2	0,07	-0,05
GLUT 4/ОХС	-0,74*	0,7*	0,15	0,06	0,19

При МС наблюдается переход метаболизма в сторону синтеза липидов при развитии инсулинорезистентности, что подтверждается отрицательными корреляционными зависимостями между концентрацией глюкозы и ЛПВП (коэффициент Спирмена -0,5) и слабоположительными – между концентрацией глюкозы и ОХ и ТГ (коэффициенты Спирмена 0,3 и 0,4, соответственно (Таблица 3). Инсулинорезистентность вызывает повышение уровня СЖК, стимулирующее избыточный синтез ЛПОНП, а также гипертриглицеридемию и снижение уровня ЛПВП в плазме крови [397], что и имело место при моделировании МС в наших исследованиях. Нарушения липидного обмена подтверждаются положительной корреляцией между уровнями ОХС и размерами адипоцитов в группе МС без коррекции (коэффициент Спирмена 0,7).

В настоящее время известно, что молекулярную связь между клеточным метаболическим статусом, выражаемым соотношением NAD<sup>+</sup>/NADH, и адаптивным транскрипционным ответом, обеспечивают сиртуины [384]. Генетический нокаут SIRT1- молчащего информационного белка (Silent Information Regulator 2 proteins) в жировой ткани приводит к повышению степени ожирения и резистентности к инсулину [303]. Было показано, что нарушение функционирования SIRT1 в жировой ткани у ADIPO-H363Y-мышей приводит к инсулинорезистентности и гипергликемии, дислипидемии [26].

Результаты нашего исследования установили косвенную взаимосвязь между TLR 4 и SIRT 1 и PPAR $\gamma$  и SIRT 1 – при увеличении уровня TLR 4 в группе MC без коррекции наблюдаются гипергликемия, гиперхолестерин- и гипертриглицеридемия, которые реализуются в основном за счет SIRT 1. Также обращает на себя внимание отрицательная корреляция между OXC и PPAR $\gamma$  (коэффициент Спирмена -0,63) (Таблица 3), которая связана с нарушением сиртуиновой регуляции при избытке глюкозы и развитии ИР. Известно, что SIRT1 действует совместно с PPAR $\gamma$  под влиянием веществ липидной природы, что приводит к изменению транскрипции генов в белой жировой ткани [88].

Таким образом, фруктозная диета в нашей модели MC привела к изменениям в активности SIRT1 и транскрипции генов в адипоцитах и последующим метаболическим нарушениям. Это сопровождалось выраженными морфологическими изменениями в абдоминальной жировой клетчатке, с привлечением значительного количества лимфоцитов (по причине выраженного дисбаланса между протеолитическими ферментами и их ингибиторами, и накоплением продуктов клеточного повреждения, обладающих хемоаттрактантными свойствами). Описаны механизмы, с помощью которых провоспалительные макрофаги усиливают воспаление ЖТ и таким образом провоцируют и усугубляют развитие ИР. Так, M1-поляризованные CD11c<sup>+</sup>-макрофаги, способны снижать чувствительность адипоцитов к инсулину, блокируя транспортер GLUT4, опосредованно, через TNF $\alpha$  [20, 283]. При локальном иммунном ответе резидентные макрофаги ЖТ взаимодействуют с другими компонентами клеточного иммунитета : нейтрофилами, TLR-тучными клетками, эозинофилами и др.

Рецепторы PPAR $\gamma$  также регулируют секрецию гормонов адипоцитов, обеспечивая изменение содержания глюкозы в тканях путем повышения чувствительности клеток к инсулину [269]. То есть, нарастающая инсулинорезистентность привела к увеличению экспрессии данного рецептора, которое, подобно увеличению экспрессии уже упомянутого GLUT4, носило экстенсивных характер и не оказывало влияния на механизмы развивающегося MC

в связи с глюкозотоксичностью и протеолитическим и свободнорадикальным повреждением с последующим развитием воспалительного ответа на повреждение.

В наших исследованиях существование системного воспаления нашло подтверждение как на биохимическом, так и на морфологическом уровне. Произошло повышение концентраций маркеров острой фазы воспаления, синтез которых тесно связан с патогенезом МС. Так, экспрессия основного рецептора иммунного контроля TLR 4 возросла в 5 раз, а концентрация СРБ в индуцированной модели МС – в 2 раза по сравнению с интактным уровнем. Уровень СРБ положительно коррелировал с высокой степенью с концентрацией TLR 4 (коэффициент Спирмена 0,65) (см. глава 3, Таблица 3.6).

Полученная в нашем исследовании положительная корреляция сильной степени между СРБ и TLR 4 объясняется SIRT 1-зависимым механизмом снижения блокирования экспрессии одного из его генов-мишеней – С-реактивного белка [324]. Установлено, что у больных МС значительно снижен сывороточный уровень адипонектина, что обратнопропорционально связано с высоким содержанием С-реактивного белка [20].

Также известно, что адипонектин модулирует воспалительную реакцию эндотелия *in vitro* и его концентрация снижается у пациентов с ишемической болезнью сердца и гипертонией [73]. Гены, кодирующие адипонектин и его рецепторы, являются синтропными генами, ответственными за развитие висцерального ожирения и СД2 [3]. При носительстве полиморфизма гена адипонектина rs1501299 развивается гипoadипонектинемия, инсулинорезистентность и увеличиваются другие клинические проявления метаболического синдрома у пациентов с висцеральным ожирением [8]. При клинико-генетической оценке базы данных Jackson Heart Study Cohort, содержащей информацию о 1131 мужчине и 1832 женщинах, было выявлено, что у лиц женского пола носительство генетических полиморфизмов гена адипонектина rs6444174, rs16861205, rs1403697 и rs7641507 ассоциировано с развитием гипoadипонектинемии и висцерального ожирения [250].



Лептин дозозависимо стимулирует продукцию моноцитами провоспалительных цитокинов, таких как TNF $\alpha$  и IL-6 [91]. Концентрация лептина увеличена у пациентов, страдающих избыточным весом и ожирением [373]. Установлено, что снижение массы тела на 10 % приводит к снижению концентрации лептина на 53 %, а 10 % набор веса на 300 % увеличивает уровень лептина, что может объясняться «лептинорезистентностью» – неспособностью лептина проникать к участкам связывания в гипоталамусе, отвечающим за регуляцию аппетита [426]. Секреция адипонектина при обработке изолированных адипоцитов стеариновой и пальмитиновой жирными кислотами, активирующими TLR-4, увеличивалась в эксперименте [335]. Стимуляция секреции адипокинов осуществляется при участии ядерного фактора транскрипции NF- $\kappa$ B, поэтому добавление ингибитора NF- $\kappa$ B *in vitro* предотвращало стимуляцию секреции резистина [267]. Адипонектин угнетает TLR-4-зависимые реакции – синтез ФНО- $\alpha$ , стимулированный ЛПС [121], TLR-зависимое освобождение NF- $\kappa$ B путем ингибирования TLR-зависимого фосфорилирования IKK. Антитела к рецептору 1 адипонектина, но не к рецептору 2 устраняли этот эффект [164]. По результатам различных исследований установлено, что активация TLR-4 в адипоцитах ведет к повышению образования адипонектина, который, в свою очередь, подавляет эффекты TLR-4, которые, в свою очередь, усиливаются лептином [374]. Также в эксперименте получены данные о том, что эндотелиальные клетки мышей с ожирением, обработанные лептином, продуцировали избыток реактивных форм кислорода, что коррелировало с повышением экспрессии TLR-2 и TLR-4, а также компонентов внутриклеточных сигнальных путей этих рецепторов. Также усиливалась миграция и пролиферация эндотелиальных клеток и содержание НАДФ-оксидазы в интиме сосудов [281].

Известно, что чувствительность к лептину напрямую связана с ожирением и объемом жировой ткани [70]. Таким образом, можно предположить, что у исследуемых животных с моделированным МС увеличение концентрации

PPAR $\gamma$  привело к развитию лептинорезистентности и соответствующим ее влияниям на массу тела, уровень глюкозы, липидный спектр и др.

В литературе имеются данные о влиянии полиморфизмов гена лептина на инсулинорезистентность, развитие ожирения и сопутствующей патологии. Показано наличие ассоциации R-аллели полиморфизма Q223R гена *LEP* с увеличением ИМТ [78]. Аллельный полиморфизм rs1137101 (Gln223Arg) гена *LEP* был ассоциирован с развитием сахарного диабета 2-го типа [125]. В настоящее время выявлены гены и их полиморфизмы, способствующие развитию висцерального ожирения, СД<sub>2</sub>, артериальной гипертензии, сердечно-сосудистой патологии. Установлено, что проявляемость данных генов зависит от пищевого поведения их носителей. Так, значительное увеличение в рационе простых углеводов в сочетании с гиперкалорийным питанием и гиперхолестеринемической диетой с низким содержанием  $\omega$ -жирных кислот и большим количеством насыщенных жиров обуславливает развитие глюкозотоксичности и присоединение сердечно-сосудистых осложнений СД<sub>2</sub> [160].

Следует отметить дефицит исследований, посвященных полиморфизму генов лептина и генов рецепторов к адипонектину, ответственных за ИР и развитие МС и СД. Установленные нами уникальные для исследованной популяции варианты полиморфизма генов лептина и генов рецепторов к адипонектину, безусловно, следует учитывать при выделении групп риска развития лептин- и адипонектин-ассоциированной патологии.

Итак, гипергликемия и развивающееся абдоминальное ожирение, через сложную систему взаимозависимостей между мембранными и ядерными рецепторами и вторичными посредниками, приводят к экспрессии множества генов, ответственных за синтез медиаторов воспаления, вызывающих повышение уровня свободных радикалов и активности протеолитических ферментов, что ведет к интенсификации перекисного окисления липидов. Возрастание ПОЛ при низкоинтенсивном воспалении сопровождается повышением активности антиоксидантов – ЦП и СОД, поэтому положительная

корреляция между концентрациями основных внутри- и внеклеточных антиоксидантов и TLR 4 (коэффициенты Спирмена 0,5 и 0,4) (Таблица 4) также указывают на срыв компенсации.

Таблица 4 – Корреляционный анализ взаимоотношений показателей АОС, ПОЛ и молекулярных маркеров при МС и его коррекции ПППВ

Показатели	К2	Э1	Э2	Э3	Э4
TLR 4/СОД	0,4	-0,3	0,43	0,13	0,11
TLR 4/ЦП	0,5	0,4	-0,45	-0,12	0,11
TLR 4/ТБКА	0,32	-0,03	0,4	-0,1	-0,11
СРБ/ЦП	0,21	0,04	-0,09	0,07	0,05
СРБ/ТБКА	0,3	0,4	0,2	0,07	-0,05
СРБ/СОД	0,2	0,4	0,2	-0,07	0,05
ЦП/КА	0,05	0,4	-0,17	0,99*	1*
ТБКА/КПА	0,3	0,3	0,24	1*	-1*
ТБКА/ ЦП	0,4	-0,33	-0,6	1*	-1*
ЦП/СОД	0,5	0,4	-0,3	-1*	1*

Обнаруженный на микроскопическом и ультрамикроскопическом уровне стеатогепатит возникал в группе животных с МС без коррекции вследствие свободнорадикального повреждения, что подтверждалось высокой активностью КПА и ЦП, что, с учетом высокой степени корреляции указанных показателей с размерами адипоцитов (коэффициенты Спирмена 0,75 и -0,7) говорит о крайней степени напряжения механизмов антиоксидантной защиты с переходом в угнетение последних, несмотря на увеличение концентрации плазменного антиоксиданта ЦП и внутриклеточного антиоксиданта каталазы. Между ЦП и ТБКА и ТБКА и КПА наблюдалась слабая степень обратной корреляционной

зависимости, что говорило об усилении перекисного окисления липидов, с которым не справлялись антиоксиданты. В тканях почек животных данной группы преобладали явления фиброза и атрофии, а в миокарде наблюдалось разволокнение ткани со значительным жировым перерождением. Эти изменения, по нашему мнению, также были вызваны значительным уровнем свободнорадикального повреждения с последующим разрушением функционально активных тканей, активизацией фибробластов и, в случае миокарда, его ремоделированием на фоне системной воспалительной реакции.

Существование данных признаков полностью согласуется с данными клинических исследований у пациентов с МС и его сосудистыми осложнениями на санаторно-курортном этапе лечения. При поступлении были зарегистрированы повышенный уровень ХС у больных, как с ГБ, так и с ИБС :  $6,60 \pm 1,39$ ; и  $6,44 \pm 1,22$  и уровня глюкозы до 4,85 и 5,46, соответственно. Показатели слабо коррелировали друг с другом (коэффициент Спирмена 0,3). Уровень С-реактивного белка был также повышенным в группе больных с ИБС до  $1,47 \pm 0,37$ , а с ГБ – до  $1,88 \pm 0,31$ . Наблюдалась положительная корреляция между СРБ и уровнем глюкозы в обеих группах (коэффициент Спирмена 0,4) (Таблица 5), таким образом, прослеживалось влияние глюкозотоксичности в развитии низкоинтенсивного системного воспаления.

Таблица 5 – Корреляционный анализ взаимоотношений показателей углеводно-липидного обмена и АОС- ПОЛ у пациентов с МС и его сосудистыми осложнениями в начале санаторно-курортного этапа лечения

Показатели	ИБС	ГБ
СРБ/глюкоза	0.42	0,4
ХС/глюкоза	0.3	0.3
ЦП/ТБКА	0.4	0.44
ЦП/КПА	0,3	0,41

Примечание: \* -  $p < 0,05$

Последнее положение подтверждалось наличием ускоренного СОЭ и умеренным лейкоцитозом. Уровни вторичных продуктов ПОЛ также были повышены в 2,7 раза по сравнению с нормой [97]. В обеих группах обследуемых активность ЦП была ниже нормальных значений в 2 раза, а КПА – в 10 раз. Как у больных ИБС, так и у больных ГБ между ЦП и ТБКА наблюдалась прямая корреляция (коэффициент Спирмена 0,4  $p < 0,05$ ). Между ЦП и КПА была зарегистрирована положительная корреляция (коэффициент Спирмена 0,3 и 0,41  $p < 0,05$ ). Следовательно, у больных с патологией системы кровообращения наблюдалось системное воспаление и напряженность процессов ПОЛ. Это состояние, поддерживая низкоинтенсивное воспаление и инсулинорезистентность, способствовало развитию кардиомиопатии.

Таким образом, схема патогенеза МС и воздействия на него ПППВ на с учетом наших результатов исследования, выглядит следующим образом (Рисунок 1).

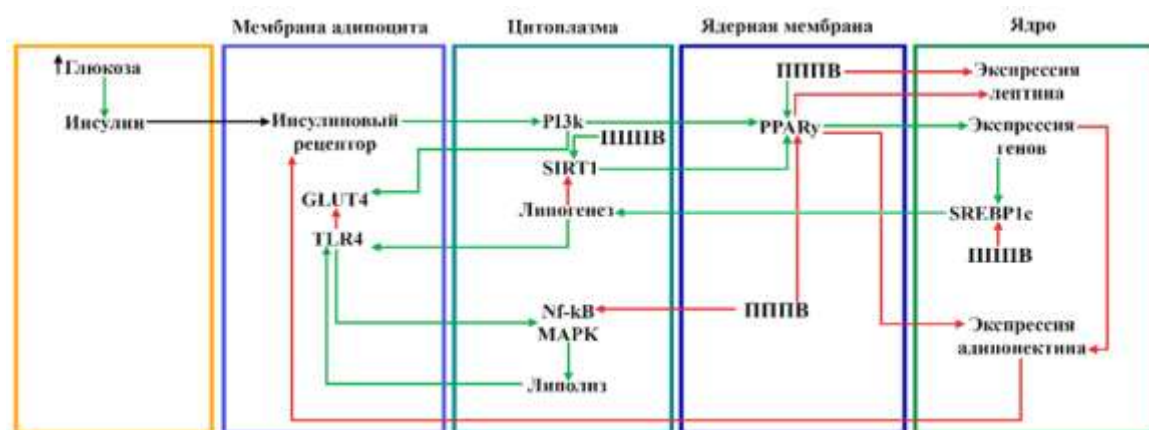


Рисунок 1– Схема воздействия ПППВ на патогенез МС

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

Диет-индуцированное повышение концентрации глюкозы на начальном этапе формирования ИР 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 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 MC.

Высокое содержание глюкозы (и СЖК) ухудшает экспрессию и функцию NADPH $\cdot$ , тем самым снижая содержание NAD $^+$  в клетках. Поскольку SIRT1 является NAD $^+$ зависимым, это приводит к снижению экспрессии и активности SIRT1. Параллельно и высокая глюкоза, и СЖК способствуют выработке активных форм кислорода (АФК), которые сами по себе могут снижать SIRT1. Понижающая регуляция SIRT1 затем отвечает за высокое ацетилирование p53 и активацию сигнального пути ингибиторов янус-киназ (JNK/AP-1), который также участвует в воспалительных процессах. Активация JNK приводит к N-концевому фосфорилированию гомодимеров c-Jun. После фосфорилирования c-Jun связывается с c-Fos с образованием c-Jun/c-Fos гетеродимеров, которые связываются с промотор-последовательностями ДНК, инициируя транскрипцию провоспалительных генов. JNK также активируется при стрессе эндоплазматического ретикулума (ER-стрессе), возникающем в ответ на избыток глюкозы и СЖК. Кроме того, сочетание ER-стресса и активации JNK вызывает аутофагию в клеточных линиях адипоцитов [336]. Также известно, что SIRT1 угнетает адипогенез и дифференцировку незрелых адипоцитов путем соединения с транскрипционным активатором PPAR $\gamma$ , регулирующим обмен жирных кислот, метаболизм глюкозы и являющимся одним из основных регуляторов дифференцировки адипоцитов. SIRT1 подавляет PPAR в белой жировой ткани, тем самым ингибируя экспрессию маркеров жировой ткани, таких как белок aP2 (adipocyte Protein 2), что способствует липолизу и иммобилизации жирных кислот в ответ на ограничение калорийности. Другой

путь модуляции липолитической деятельности SIRT1 в адипоцитах включает деацетилирование транскрипционного фактора forkhead box O (FOXO) 1 и стимуляцию транскрипции генов триглицеридлипазы адипоцитов (ATGL). Увеличение массы жировой ткани при избытке глюкозы в нашем эксперименте, как и рост экспрессии PPAR $\gamma$ , очевидно, связано с описанным SIRT-зависимым механизмом и изменением процессов созревания и дифференцировки адипоцитов. Как известно, процесс созревания адипоцитов, так называемый «адипогенный каскад», по наличию и соотношению транскрипционных факторов и активируемых ими генов адипогенной программы можно разделить на две основных «волны». В «первой волне» участвуют такие факторы как CREB (белок, связывающий цАМФ-зависимый элемент), факторы KLF (Krüppel-подобные факторы) и Krox20, C/EBP $\beta$  и C/EBP $\delta$ , они индуцируют экспрессию факторов «второй волны» - факторов транскрипции семейства C/EBP (C/EBP)  $\alpha$  и PPAR $\gamma$ . На первом этапе адипогенной дифференцировки большую роль играет инсулин, действующий по нескольким механизмам. Во-первых, связываясь со своим рецептором, он активирует киназу Akt и фосфорилирование анти-адипогенных транскрипционных факторов FOXO1 и Антитело Forkhead box A2 (FOX A2), что вызывает их выход из ядра и деактивацию. Во-вторых, инсулин вызывает фосфорилирование белка CREB, что связывает инсулиновый и цАМФ-зависимый каскады. CREB индуцирует экспрессию C/EBP $\beta$ . C/EBP $\beta$  индуцирует экспрессию PPAR $\gamma$ , который, в свою очередь, ответственен за индукцию C/EBP $\alpha$ . Кроме того по обратной связи C/EBP $\alpha$  усиливает экспрессию PPAR $\gamma$  и C/EBP $\alpha$ . Однажды запущенный каскад поддерживает экспрессию этих критических факторов [234]. Наконец, инсулин приводит к активации гена *Srebf1*, играющего значительную роль на последующих стадиях адипогенеза.

Полногеномные исследования показывают, что C/EBP $\alpha$  может связывать до 60 % участков связывания PPAR $\gamma$  [403]. Таким образом, C/EBP $\alpha$  и PPAR $\gamma$  работают совместно при активации адипоцитарной метаболической программы, а также облегчают связывание друг друга с хроматином и рекрутируют кофакторы [43]. C/EBP $\alpha$  действует как активатор для многих генов адипоцитов,

например, GLUT4, лептина и других. Таким образом, выявленное в наших исследованиях увеличение экспрессии PPAR $\gamma$  сочеталось с увеличением C/EBP $\alpha$ , на что указывает повышенная экспрессия GLUT4. Увеличение GLUT4, PPAR $\gamma$  носило инсулин-зависимый характер, т. к. сопровождалось высокой гликемией, а также холестерин- и триглицеридемией.

Как известно, одним из продуктов метаболизма глюкозы в адипоцитах является ацетил-КоА, исходное соединение, из которого синтезируются жирные кислоты. Следовательно, активный транспорт глюкозы в адипоциты на начальном этапе ИР будет способствовать накоплению в них триацилглицеролов (жиров). Процесс биосинтеза жирных кислот находится под контролем белков, входящих в семейство транскрипционных факторов SREBP. В адипоцитах наиболее представленной формой является SREBP-1c. SREBP-1c способен стимулировать экспрессию PPAR $\gamma$ , который активируется различными лигандами, в том числе и жирными кислотами. Таким образом, 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 гены белков, осуществляющих транспорт жирных кислот, белков liver X receptor (LXR) $\alpha$  и Insulin induced gene 1 (INSIG-1), регуляторов экспрессии и созревания транскрипционного фактора SREBP-1c; фермента Phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK)-C, ключевого фермента глицеронеогенеза в адипоцитах. Этот биохимический путь обеспечивает накопление глицерол-3-фосфата, который используется в качестве исходного вещества для биосинтеза триглицеридов. К числу транспортных белков, экспрессия которых усиливается при активации факторов PPAR $\gamma$ , относятся транспортные белки жирных кислот (FATP) и кластер дифференцировки 36 (CD36), также известный как тромбоцитарный гликопротеин 4, транслоказа жирных кислот, которые участвуют в транспорте ЖК из внеклеточного пространства, а также адипоцит-специфичный, СЖК-связывающий транспортный белок aP2 (FABP4) [32, 263]. Иными словами, 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.

Жирные кислоты также являются лигандами для рецепторов TLR4, которым принадлежит значительная роль в развитии субклинического воспаления в патогенезе МС [288]. Y. Lu и соавт. [414] было экспериментально доказано, что избыток СЖК в адипоцитах активирует TLR 4 и запускает сигнальные пути NF- $\kappa$ B, что вызывает секрецию целого ряда воспалительных медиаторов (моноцитарного белка-1 хемоаттрактанта (MCP-1), ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1, ИЛ-6, хемокинов и цитокинов). Эти события, как известно, запускают оксидативный стресс, ПОЛ, протеолиз и приводят к нарушению передачи инсулинового сигнала внутри клетки, что изменяет концентрации маркеров углеводно-липидного обмена. Таким образом, TLR 4 связывает низкоинтенсивное системное воспаление и обменные нарушения. Это подтверждается сильной положительной корреляционной взаимосвязью между концентрацией TLR 4 и уровнем СРБ на фоне повышения концентрации ТГ и ОХС и отрицательной корреляцией между содержанием ОХС и концентрацией TLR 4. Положительная сильная корреляция между GLUT 4 и TLR 4 также говорит в пользу развивающейся инсулинорезистентности, то есть активированные TLR 4 оказываются неспособными к стимуляции пропорционального синтеза основного глюкозного транспортера, несмотря на существующую гипергликемию и GLUT 4-экспрессия «ускользает» от влияния инсулина. Также наблюдалась отрицательная корреляция между содержанием глюкозы и ЛПВП, 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. Очевидно, компенсация растворимыми формами TLR, успешная на начальном этапе развития МС, далее становится несостоятельной и наступает декомпенсация,

выражающаяся в повышении концентрации TLR 4, СРБ, а также в положительной корреляции между TLR 4 и ЦП (коэффициент Спирмена 0,5) и TLR 4 и СРБ (коэффициент Спирмена 0,65). Как установлено, активация TLR 4 сопровождается активацией каскада митоген-активируемой протеинкиназы (МАРК), а это, в свою очередь, приводит к экспрессии различных цитокинов, хемокинов, а также экспрессии индуцибельной NO-синтазы и циклооксигеназы 2 (СОХ-2), ферментов, принимающих участие в синтезе NO и простагландинов, важных маркеров воспаления. Таким образом, нисходящий каскад передачи сигнала, вызванного активацией TLR, завершается экспрессией множества целевых генов, кодирующих цитокины, хемокины, факторы роста, различные ферменты и другие медиаторы воспаления [148], в том числе промотор гена СРБ, который содержит регуляторные последовательности, взаимодействующие с ИЛ 1 и ИЛ 6 [174]. 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 [140]. Как известно, воспалительные медиаторы, прежде всего ФНО-α, продуцируемый жировой тканью, приводят к снижению тирозинкиназы инсулинового рецептора по сериновому остатку фосфорилирование субстрата, что приводит к ИР [36]. Иными словами, налицо возникновение еще одного порочного круга в патогенезе МС, приводящему к инсулинорезистентности.

По данным ряда исследований, активация PPARγ может модулировать уровень экспрессии генов, вовлеченных в липидный и углеводный обмен. Было показано, что в присутствии лигандов, активирующих PPARγ, снижается транскрипционная активность гена лептина. На уровне центральной нервной системы изменение экспрессии PPARγ в проопиомеланокортин-нейронах (РОМС-нейронах) влияет на их чувствительность к лептину, что подтверждается в экспериментах на линии мышей с делецией PPARγ в РОМС-нейронах. На основе этих данных можно предположить, что повышенная экспрессия PPARγ может стать одной из причин развития лептинорезистентности [49]. По данным

исследования А. В. Косыгиной [66], была найдена сильная позитивная корреляционная взаимосвязь экспрессии обеих изоформ гена рецептора PPAR $\gamma$  с экспрессией генов адипокинов как в подкожной, так и в висцеральной жировой ткани. Адипорезистентность развивалась при употреблении высокожировой диеты, обогащенной насыщенными СЖК, даже при нормальном или повышенном уровне адипонектина.

Установлено, что гены, кодирующие адипонектин и его рецепторы, относятся к синтропным генам, ответственным за развитие висцерального ожирения и СД2. При этом носительство однонуклеотидных генетических полиморфизмов, в частности - rs1501299, может предрасполагать к развитию гипoadипонектинемии, усилению выраженности инсулинорезистентности и клинических проявлений метаболического синдрома у пациентов с висцеральным ожирением [2]. Нашими исследованиями выявлена высокая степень ассоциации полиморфизмов генов лептина и рецепторов к адипонектину, что может рассматриваться как фактор риска развития МС и СД2.

То есть, наряду с системным воспалением, активация PPAR $\gamma$  при помощи СЖК приводит к изменению пищевого поведения и диет-ассоциированному увеличению концентрации последних (равно как и глюкозы). Таким образом, возникает очередной порочный круг, приводящий, в конечном итоге, к усугублению уже существующей ИР.

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. Более высокое содержание антиоксидантов в исследуемых образцах приводит к более сильному ингибированию бактериальной биоломинесценции и более низким показателям интенсивности свечения тест-бактерий. Таким образом, 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. Это положение было подтверждено как данными экспериментальной коррекции МС, так и результатами клинических испытаний.

Под влиянием ПППВ с различным содержанием фенольных веществ в течении экспериментального МС произошли определенные изменения.

В группах Э2 и Э3 произошло выраженное снижение экспрессии GLUT4 и PPAR $\gamma$ , сопровождавшееся повышением TLR4. В то же время, не произошло достоверных изменений содержания глюкозы в сыворотке крови по сравнению с таковой в группе с МС без коррекции. Таким образом, применяемые концентрации полифенолов не привели в данных группах к нормализации чувствительности к инсулину. Продолжающая существовать ИР привела к гиперхолестерин- и триглицеридемии, что вызвало истощение SIRT-зависимого механизма экспрессии PPAR $\gamma$ . Между TLR4 и GLUT4 в группе Э3 наблюдалась слабopоложительная корреляция (коэффициент Спирмена 0,4), в группе Э2 какую-либо зависимость между указанными признаками выявить не удалось.

То есть, повышение концентрации полифенолов в рационе привело к определенной стабилизации синтеза провоспалительных медиаторов, что подтверждается отрицательной корреляцией между PPAR $\gamma$  и СРБ в группе Э2 (коэффициент Спирмена -0,3). В группе Э3 наблюдалось снижение содержания ТБК-активных продуктов на 38 % и КПА – на 66 % по сравнению с группой без коррекции. Известно, что продукты, образованные при проведении ТБК-теста, свидетельствуют о присутствии и пропорциональных количествах липидных перекисей [135]. Поэтому, указанные изменения, в сочетании с низкой активностью ЭПА и ТПА (в 1,2 и 2 раза, соответственно ниже контроля), говорили о снижении интенсивности ПОЛ и свободнорадикального окисления. В группе Э2 наблюдался самый низкий среди экспериментальных групп уровень ЦП, что, в сочетании с двукратным увеличением содержания ТБК-активных продуктов и со снижением уровня КСИ ниже контрольных цифр, указывало на продолжающееся угнетение антиоксидантной активности организма, на фоне повышения ингибиторного потенциала. Это положение подтверждалось

высокой степенью отрицательной корреляции между размерами адипоцитов и активностью ЦП и ТБКА и ЦП (коэффициент Спирмена -0,6) и положительной корреляцией между размерами адипоцитов и КА (коэффициент Спирмена 0,5). В группе Э3, однако, наблюдалась сильная положительная корреляция между ТБКА и КПА, а также ТБКА и ЦП (коэффициент Спирмена 1) и сильная отрицательная корреляция между ЦП и СОД (коэффициент Спирмена -1). Данные соотношения иллюстрируют повышение антиоксидантного потенциала под влиянием ПППВ.

Морфофункциональные изменения в группах Э2 и Э3 носили умеренный характер. По-видимому, применение ПППВ, хотя и в недостаточной дозе для полноценной коррекции, все же оказывало антиоксидантный и противовоспалительный эффект. Однако, применяемой концентрации ПППВ в группе Э2 оказалось недостаточно для коррекции свободнорадикального повреждения. Увеличение КПА в 3 раза, снижение ЭПА в 1,3, а АТА – в 2 раза в сочетании со средней положительной корреляцией АТА в группе Э2 с размерами адипоцитов (коэффициент Спирмена 0,5) подтверждали продолжающееся развитие системного воспаления и оксидативного стресса, связанного с абдоминальным ожирением как фундаментальной основой МС.

Таким образом, применение полифенолов позволило дозозависимо стабилизировать ингибиторный и антиоксидантный потенциал в исследуемых группах, хотя и в недостаточной степени.

В группе Э4 нами были зарегистрированы выраженные положительные биохимические и морфофункциональные изменения. Прежде всего, в данной группе произошло снижение содержания ОХС и ТГ и повышение концентрации ЛПВ. Данные изменения, в совокупности с положительной корреляцией между ОХС и TLR 4 (коэффициент Спирмена 0,52), ОХС и PPAR $\gamma$  (коэффициент Спирмена 0,5) (Таблица 4) указывают на снижение липотоксичности и, следовательно, активацию SIRT 1-зависимого механизма подавления активации PPAR $\gamma$ . Произошло достоверное снижение содержания глюкозы в сыворотке крови, отрицательно коррелировавшее с экспрессией GLUT4 (коэффициент

Спирмена -0,6), что на фоне уменьшения холестерин- и триглицеридемии указывает на снижение инсулинорезистентности. Данные изменения происходили на фоне снижения экспрессии PPAR $\gamma$  в 1,5 раза, TLR4 в 1,8 раза ( $p < 0,05$ ). Между GLUT4 и TLR 4 наблюдалась отрицательная корреляция (коэффициент Спирмена -0,6), а между ОХС и TLR 4- слабая положительная корреляция (коэффициент Спирмена 0,52 (Таблица 4), то есть снижение активации TLR 4 по сиртуинового механизму на фоне нормализации липидограммы и сывороточной глюкозы (хотя и при сохраняющейся избыточной экспрессии TLR 4) оказывали недостаточные эффекты на углеводно-липидный обмен.

Кроме того, мы имеем основания полагать, что произошло снижение системной воспалительной реакции, так как имелась положительная корреляционная зависимость между уровнем TLR 4 и СРБ (коэффициент Спирмена 0,4). Уменьшение интенсивности системного воспаления подтверждалось также морфологическими и биохимическими исследованиями в данной группе экспериментальных животных. В жировой ткани крыс данной экспериментальной группы, также, как и в ткани печени, уменьшились проявления воспаления. Более того, в тканях почки наблюдались только гемодинамические (то есть, функциональные) нарушения, без структурных и воспалительных изменений. Явления жирового перерождения миокарда в данной группе носили минимальный характер и не сопровождалось повреждением мышечных волокон. Одновременно в данной группе наблюдались самые высокие среди экспериментальных групп уровни ПА (относительно интактной группы в 1,2 раза) и самые низкие – ТПА (относительно интактной группы в 2,4 раза). Также для антиоксидантного и ингибиторного профиля данной группы была характерна нормализация содержания КСИ и ТБК-А в сочетании высокой степенью отрицательной корреляции между ТБКА/КА и ТБКА/ ЦП (коэффициент Спирмена -1). Кроме того, для данной группы была характерна высокая корреляция между внутри и внеклеточными антиоксидантами (коэффициент Спирмена для корреляции

ЦП/КА составлял 1). Таким образом, снижение стимуляции TLR 4 вследствие уменьшения СЖК уменьшило интенсивность ПОЛ. Эти изменения также были связаны со снижением глюкозотоксичности, на что указывала отрицательная корреляция содержания глюкозы с размерами адипоцитов (коэффициент Спирмена -0,7), а также снижением липотоксичности и инсулинорезистентности, о чем свидетельствовали отрицательная корреляция GLUT 4/ЛПВ (коэффициент Спирмена -0,5).

Таким образом, произошла активация как внутри-, так и внеклеточных антирадикальных защитных механизмов. Поэтому у нас имелись основания полагать, что коррекция нарушений при МС в данной группе произошла более полноценно. То есть, применение более высокой концентрации полифенолов позволило в значительной степени минимизировать проявления оксидативного стресса, но в то же время не привело к нормализации ингибиторного потенциала.

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 ( $p < 0,05$ ). Также в группе Э1 наблюдалось почти двукратное увеличение активности PPAR $\gamma$ , которые, как известно, путем активации P13-К, модулируют экспрессию GLUT 4.

Как указывалось, ранее, препарат «Фэнокор» имеет сложный состав и высокую антиоксидантную активность. Он, прежде всего, характеризуется высоким содержанием *проантоцианов* (суммарно до 4598 г/дм<sup>3</sup> для олигомерных и 172,662 г/дм<sup>3</sup> для полимерных проантоцианов). Исследования, проведенные на людях и экспериментальных животных [375], показали, что антоцианы снижают резистентность к инсулину. Этот эффект может быть достигнут за счет повышения экспрессии гена GLUT4, активации AMP протеинкиназы и снижения экспрессии ретинолсвязывающего белка 4 (RBP4), что, очевидно и произошло в данной группе, так как в ней наблюдается самое высокое содержание GLUT4. В литературе имеются сведения, что некоторые

полифенольные соединения (кемпферол, кверцетин) повышали потребление глюкозы только в инсулин-стимулированных клетках, другие (ресвератрол) были эффективными как в присутствии инсулина, так и в его отсутствие [377]. Можно предположить, что препарат «Фэнкор» с высоким содержанием различных полифенолов, применяемый с первого дня эксперимента, позволил эффективно транспортировать глюкозу внутрь клетки и препятствовал синтезу и накоплению жирных кислот. Это подтверждалось малой степенью абдоминального ожирения и большой вариабельности размеров адипоцитов, что связано с уменьшением содержания триглицеридов под влиянием ПППВ, а также отрицательной корреляцией между концентрацией глюкозы и размерами адипоцитов (коэффициент Спирмена -0,4).

Повышенную экспрессию PPAR $\gamma$  в данной экспериментальной группе можно объяснить инициацией синтеза разных вариантов PPARs полифенольными веществами, входящим в состав «Фэнкора». Вопрос влияния полифенолов на транскрипционные факторы активно обсуждается в современной научной литературе. Так, установлено, что цианидин-3-О- $\beta$ -глюкозид (С3G) и его метаболит протокатехиновая кислота (РСА) в адипоцитах человека значительно увеличивали активность PPAR $\gamma$  ( $p < 0,05$ ), а также экспрессию адипонектина и GLUT4 ( $p < 0,01$ ) [222]. Также под влиянием С3G наблюдалась дифференцировка клеток-предшественников в более мелкие адипоциты, которая коррелировала с увеличением экспрессии генов PPAR $\gamma$  и С/ЕВРа, увеличением секреции адипонектина, снижением секреции фактора некроза опухоли- $\alpha$ , активацией сигнализации инсулина и увеличением поглощения глюкозы [221].

Также кверцетин и транс-ресвератрол ослабляли опосредованное TNF- $\alpha$  подавление PPAR $\gamma$ , и генов-мишеней PPAR $\gamma$ , причем кверцетин одинаково или более эффективен, чем транс-ресвератрол, в ослаблении воспаления, опосредованного TNF- $\alpha$ , и резистентности к инсулину в первичных адипоцитах человека [409].



Как указывалось ранее, PPAR — основные противовоспалительные факторы, тормозящие активность провоспалительных ядерных транскрипционных факторов: активирующего протеина-1 и NFkB. Фармацевтические агонисты PPAR были разработаны специально для воздействия на PPAR $\alpha$  (фибраты) или PPAR $\gamma$  (тиазолидиндионы или глитазоны); в настоящее время они представлены на рынке для пациентов с диабетом с целью индуцирования активности PPAR в периферических клетках. Однако фармакологическая активация PPAR может иметь негативные побочные эффекты, такие как увеличение потребления пищи, усиление сердечного и печеночного адипогенеза и другие [350]. Наши исследования показали высокую способность ПППВ к модуляции PPAR $\gamma$  без перечисленных побочных эффектов. Это подтверждалось и данными клинических исследований. В группе пациентов с ИБС назначение ЭПВ приводило к понижению СРБ к моменту выписки пациентов на 42,7 %. Содержание С-реактивного белка находилось в прямой сильной корреляции с содержанием глюкозы (коэффициент Спирмена 0,64), что на фоне стабилизации гликемии в данной группе пациентов свидетельствовало о модуляции PPAR $\gamma$ -зависимых механизмов повышения чувствительности к инсулину и супрессии провоспалительных медиаторов. Полифенольный концентрат привел к снижению содержания ЦП на 42,1 % ( $p < 0,001$ ), а ТБК-АП – на 29 % в группе больных с ИБС. Между данными показателями существовала положительная корреляция (коэффициент Спирмена 0,5). Это, наряду с повышением КПА, указывало на ослабление ПОЛ и усиление антирадикальных защитных механизмов.

**Кверцетин**, который содержится в препарате «Фэнкор» в значительных количествах (15,4 мг/дм<sup>3</sup>), как известно, активирует Nrf2 в макрофагах [180]. Активация Nrf2 сопровождается ингибированием пути NF-kB и снижением экспрессии мРНК TNF- $\alpha$ , индуцируемой синтазы оксида азота (iNOS), IL-1 $\beta$ , IL-6 и воспалительного белка макрофагов 1 $\alpha$ . Также известно, что в преадипоцитах кверцетин значительно снижает экспрессию липазы и SREBP1c [318].

Содержание **флаван-3-олов** в «Фэнкоре» также составляет значительную часть - (+)-D-техин 1752,6, а(-)-Эпикатехин 1374,2 мг/дм<sup>3</sup>. Их механизм действия состоит в подавлении экспрессии KLF7, который регулирует экспрессию

адипонектина и других генов, связанных с адипогенезом, таких как PPAR $\gamma$ , лептин, СЕВР $\beta$  и аР2 в адипоцитах. Это положение подтверждалось в эксперименте 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.

Среди исследованных нами образцов полифенольной продукции (см. главу 3) «Фэнокор» занимает лидирующие позиции по содержанию *галловой кислоты* (1119,2 г/дм<sup>3</sup>). Исследование М. Танака и соавт. [249] показало, что обработка галловой кислотой ингибирует экспрессию IL-6, iNOS, COX2, рецептора E1, связанного с белком адгезии G и SREBP-1c в жировой ткани, тем самым уменьшая гипертрофию жировой ткани и воспаление, вызванные диетой с высоким содержанием жира. Кроме того, галловая кислота также увеличивает экспрессию SIRT1 у летучих мышей с ожирением и усиливает термогенный эффект летучих мышей [331]. Противовоспалительный эффект галловой кислоты при применении «Фэнокора», по-видимому, обусловил снижение синтеза СРБ практически до значений интактной группы.

Понижение экспрессии TLR4 в группе с коррекцией «Фэнокором» было, очевидно, связано со снижением триглицеридемии и уменьшением размеров адипоцитов, которые прямо коррелировали с концентрацией TLR4 (коэффициент Спирмена 0,5). Известно, что активация TLR4 с последующим запуском сигнальных путей через NF- $\kappa$ B вызывает как системное воспаление, так и инсулинорезистентность. В группе с коррекцией «Фэнокором», как было указано, мы зарегистрировали нормогликемию, увеличение экспрессии GLUT 4 и PPAR $\gamma$ . GLUT 4 и TLR4 сохраняли отрицательных характер взаимозависимости, но с меньшей степенью выраженности и на фоне повышенной экспрессии GLUT 4, а между TLR4 и СРБ, и TLR4 и PPAR $\gamma$  зависимости не было выявлено. В то же самое время наблюдалась значительная положительная корреляция между глюкозой и TLR4 (коэффициент Спирмена 0,7). Как обсуждалось ранее, увеличение экспрессии GLUT 4 и PPAR $\gamma$  в данной

группе экспериментальных животных произошло не под влиянием СЖК, а полифенольных веществ, что сопровождалось ингибированием NF-κB-пути и не являлось маркером системного воспаления и ИР. Это подтверждается положительной корреляцией между СРБ и ЛПВ (коэффициент Спирмена 0,63) и высоким уровнем ЦП (в 2,2 раза выше контрольных цифр). Иными словами, повышение ЛПВ нормализовало транспорт липидов и снизило активность TLR4-зависимого пути синтеза СРБ, что на фоне активизации антиоксидантной системы привело к угнетению системного воспаления, несмотря на активизацию ПОЛ, о чем говорили самые высокие среди исследуемых групп уровни ТБК-А (в 2,8 раза выше контрольных цифр). В то же самое время, в данной группе наблюдалось снижение ПА в 2,2 раза, АТА – в 3,4 раза по отношению к интактным животным. Корреляция между ПА и размерами адипоцитов сохранялась обратная (коэффициент Спирмена -0,6). Между тем, значения ТПА и ЭПА не отличались от таковых при МС без коррекции. Указанный рост ЦП, как установлено, относительно медленный процесс, характерный для хронических состояний. Также ЦП выступает ингибитором перекисного окисления липидов [22, 135]. В нашем эксперименте, по-видимому, возникла повышенная потребность в антиоксидантах, что подтверждалось увеличением содержания ТБК-активных продуктов.

Сообщалось, что флавоноидные соединения ингибируют белково-белковые взаимодействия Nrf2-KEAP1 в цитозоле и уменьшают спонтанную деградацию белка Nrf2. Флавоноиды конкурентно связываются с келч-подобным ECH-ассоциированным белком 1 (KEAP1) в сайте связывания Nrf2, что приводит к транслокации белка Nrf2 в ядро и активации нижестоящих белков HO<sub>1</sub> и NQO<sub>1</sub> [226]. Активация этих нижестоящих белков напрямую влияет на регуляцию генов антиоксидантов, таких как СОД и каталаза. Например, такие флавоноиды, как кверцетин, лютеолин, байкалин защищают сердце посредством активации пути Nrf2 во время химически индуцированного инфаркта миокарда и кардиотоксичности. Кверцетин снижал уровни IL-1β и TNF-α в мононуклеарных

клетках крови путем ингибирования активации NF $\kappa$ B и Akt, индуцированной липополисахаридом [363].

Наши исследования подтвердили, что за счет значительного содержания полифенольных продуктов, «Фэнокор» оказался способен на эффективное снижение проявлений оксидативного стресса. Через модулирование систем внутриклеточной сигнализации и рецепторов PPARs и GLUT 4 на молекулярном уровне «Фэнокор» вызывал уменьшение инсулинорезистентности, подтверждаемое нормогликемией, нормохолестерин- и триглицеридемией и повышением ЛПВП, которые обладают антиатерогенным эффектом [319, 379].

Морфологические изменения в органах-мишенях в группе с коррекцией МС при помощи препарата «Фэнокор» были минимальны, но вместе с тем сохранялись нарушения в виде расстройств кровообращения и слабовыраженной лимфоцитарной инфильтрации. На ультрамикроскопическом уровне в печени обнаруживались небольшие жировые включения; в клетках проксимальных канальцев почек – признаки внутрицитоплазматического и внутриядерного отека. Вместе с тем, в тканях сердца отмечались положительные изменения – эндотелиоциты имели значительное количество пиноцитозных пузырьков, что отражало усиление обменных процессов в мышечных клетках. В некоторых клетках миокарда отмечалось расширение цистерн саркоплазматического ретикулума, увеличение количества свободных рибосом и полисом, что свидетельствовало о положительном влиянии препарата на синтетические процессы в кардиомиоцитах и о компенсации негативных последствий метаболического синдрома. Появление делящихся форм митохондрий указывает на гиперплазию митохондрий и позволяет предположить о возрастании биоэнергетического обеспечения внутриклеточных метаболических процессов.

При избыточной массе тела происходит не только увеличение размеров адипоцитов, но и их инфильтрация макрофагами с последующим развитием воспалительных реакций [61]. Именно поэтому ряд ученых считают патологическое ожирение хроническим системным воспалительным процессом. Современными исследованиями показано, что уменьшение в размере гипертрофированных

адипоцитов приводит к повышению секреции адипонектина, обладающего антидиабетической, противовоспалительной и антиатерогенной активностью [127]. В нашем исследовании было установлено, что при коррекции МС ПППВ произошло достоверное снижение размеров висцеральных адипоцитов и стабилизация размеров их ядер. Также изменился характер распределения размеров клеток. Кривая их распределения при МС отличалась значительной вариабельностью и сдвигом в сторону общего увеличения размеров, и одновременно наличием 18 % клеток с размерами меньше большинства таковых в контрольной группе животных. При коррекции препаратом «Фэнокор» вариация становилась умеренной и размеры большинства клеток (78 %) были ниже средних в контрольной группе. Можно предположить, что ПППВ приводят к остановке дальнейшего запасаения липидов в зрелых адипоцитах. На это также указывает уменьшение размеров ядер исследованных клеток данной группы, как свидетельство снижения функциональной активности. Возможно более длительное применение полифенольных продуктов будет способно к дальнейшей нормализации созревания адипоцитов и внутриклеточного обмена в висцеральной жировой ткани и предотвращению таким образом развития абдоминального ожирения и МС.

Положительное влияние полифенольных препаратов подтверждалось также данными обследования пациентов после завершения комплекса санаторно-курортного лечения. В обеих группах больных с применением ПППВ отмечалось снижение интенсивности системной воспалительной реакции и инсулинорезистентности. Данное положение подтверждалось достоверным снижением уровня СРБ в группе больных ИБС на 42,7 % (при применении ЭПВ) и на 39,2 % (при применении ВСК), а также снижением СРБ в группе больных ГБ на 43,6 % (как при использовании ЭПВ, так и ВСК). Кроме того, наблюдалось значительное снижение ПОЛ, подтверждаемое снижением уровня ТБКА на 30,3 % при применении ВСК и на 32,3 % при назначении ЭПВ у больных ИБС и на 25 % в обеих подгруппах с ГБ. 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. Использование

ПППВ способствовало выраженному снижению ЦП у больных ИБС в группах исследования: в группе пациентов с назначением ВСК наблюдалось достоверное уменьшение церулоплазмينا на 39,4 % к моменту выписки пациентов, а в группе с применением ЭПВ – на 42,1 %. Уровни СРБ и глюкозы коррелировали между собой в обеих группах (коэффициент Спирмена 0,4-0,5) (Таблица 6).

Таблица 6 – Корреляционный анализ взаимоотношений показателей углеводно-липидного обмена и АОС - ПОЛ у пациентов с МС и его сосудистыми осложнениями после окончания санаторно-курортного этапа лечения

Показатели	ИБС	ГБ
СРБ/глюкоза	0,4	0,5*
ХС/глюкоза	0,58*	0,56*
ЦП/ТБКА	0,41	0,4
ЦП/КА	0,31	0,3

Примечание: \* -  $p < 0,05$

Аналогичные взаимоотношения наблюдались между концентрациями глюкозы и холестерина (коэффициент Спирмена 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.

Кроме того, у исследуемых больных наблюдалось снижение интенсивности ПОЛ и нормализация антиоксидантной защиты, на что указывала положительная корреляция между концентрациями ЦП и ТБКА на фоне снижения обоих показателей. По-видимому, уменьшение концентрации глюкозы привело к снижению экспрессии генов, регулируемых транскрипционными факторами PPAR $\gamma$ . Прежде всего, это относится к FATP и CD36, которые участвуют в транспорте ЖК из внеклеточного пространства и приводят к гипелипд- и гиперхолестеринемии и накоплению жира в адипоцитах. Снижение содержания жирных кислот,

развившееся по указанному механизму, очевидно, уменьшило экспрессию TLR 4, и, как следствие, активацию сигнальных путей воспаления через NF- $\kappa$ B, что снизило явления инсулинорезистентности.

Рост количества пациентов с ожирением и МС обусловлен урбанизацией, гиподинамией, несбалансированным питанием, однако необходимо отметить, что эта тенденция реализуется на фоне генетической изменчивости в популяции. Полиморфные вариации ряда генов, играющих значительную роль в липидном и углеводном обмене, приводят к развитию метаболических нарушений, таких как дислипидемия, инсулинорезистентность, ожирение. Большинство работ по генетическому тестированию населения проводится за рубежом, недостатком многих из них являются малые выборки и разные популяции. В Российской Федерации вопрос молекулярно-генетических аспектов ожирения остается недостаточно изученным. Результаты многочисленных исследований показали, что с помощью включения нутриентов и биологически активных веществ в рацион человека или же их исключения из рациона ряда можно опосредованно регулировать степень выраженности экспрессии генов, предотвращая развитие или прогрессирование многих алиментарно-зависимых заболеваний. Для предотвращения развития ожирения и его осложнений необходимо изучить, как различные нутриенты влияют на метаболические процессы организма, как изменяются эти процессы на ранних стадиях заболевания, и в какой мере индивидуальные особенности генома связаны с патогенезом заболевания. Данные задачи изучает нутригеномика, основу которой составляет идентификация генетических полиморфизмов, ответственных за особенности углеводного, белкового и жирового обмена и определяющих научные подходы к персонализации питания. В настоящее время исследования по нутригеномике уже позволили идентифицировать ряд генов, аллельные варианты которых ассоциированы с такими заболеваниями, как сахарный диабет, сердечно-сосудистые заболевания. Экспрессия некоторых из них уже на сегодняшний день может быть эффективно скорректирована с помощью диетотерапии и фармакотерапии. Генетическое тестирование успешно применяется при

выявлении лиц с повышенной потребностью в некоторых микронутриентах, причем многие из них являются активными регуляторами генной экспрессии. Однако необходимо отметить, что исследования по нутригеномике в настоящее время ограничиваются в основном поиском генов-маркеров и анализом генных ассоциаций в группах пациентов с соответствующей патологией. Зачастую такие исследования не дают однозначных результатов, так как получены на разных популяциях и в различных этнических группах. Поэтому значимыми для нутригеномики могут быть только обширные исследования, проведенные с тщательным отбором пациентов. Остается неизученным вопрос о качественных и количественных изменениях метаболизма под действием пищевых продуктов у пациентов с различными генотипами. Следовательно, дальнейшее развитие нутригеномики, направленное на изучение у пациентов с ожирением особенностей их генома, позволит улучшить эффективность лечебных мероприятий при данном заболевании и уменьшить степень выраженности нарушения углеводного и липидного обмена [131].

Лечение и профилактика МС и СД2 синтетическими медикаментами представляет серьезные трудности ввиду их серьезных побочных эффектов, высокой стоимости, неэффективности в некоторых случаях и недостаточной доступности для многих людей во всем мире. В связи с этим растет интерес к так называемым «функциональным продуктам питания» – обычной или повседневной пище, которая оказывает положительное влияние на целевую функцию (функции) за пределами питательной ценности / основного питания, потенциально снижает риск заболеваний и имеет разрешенные и научно обоснованные требования к здоровью. Нашими исследованиями установлено позитивное влияние полифенолов винограда при коррекции экспериментального метаболического синдрома, подтверждена их роль как функциональных продуктов питания при реабилитации больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями.



## 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 «Фэнкор» 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

Нами 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

Методика приведена в приложении 1.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

АГ – артериальная гипертензия

АД – артериальное давление

АН – адипонектин

АО – абдоминальное ожирение

АТ – антитромбин

АТА – активность  $\alpha$ -1-антитрипсина

АФК – активные формы кислорода

БАВ – биологически активные вещества

БАД – биологически активные добавки

ВГН – высокая гликемия натощак

ВНОК – Всероссийское Научное Общество Кардиологов

ВОЗ – Всемирная Организация Здравоохранения

ВСК – вино столовое красное

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

ГБ – гипертоническая болезнь

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

ДК – диеновые конъюгаты

ДЛП – дислипидемия

ДО – дыхательный объем

ДЭ – дисфункция эндотелия

ЖЕЛ – жизненная емкость легких

ЖТ – жировая ткань

ИАП-I – ингибитор активатора плазминогена I типа

ИБС – ишемическая болезнь сердца

ИМТ – индекс массы тела

ИР – инсулинорезистентность

ИР-ГИ – инсулинорезистентность-гиперинсулинемия

КПА – каталазоподобная активность

КСИ – кислотостабильные ингибиторы

Л – лептин

ЛПВП – липопротеины высокой плотности

ЛПНП – липопротеины низкой плотности

ЛПОНП – липопротеины очень низкой плотности

МОД – минутный объем дыхания

МОК – минутный объем крови

МОС25%, МОС50%, МОС75% – максимальная объемная скорость выдоха на уровне 25%, 50% и 75% форсированной жизненной емкости легких

МС – метаболический синдром

МСГ – меланокортин

НТГ – нарушенная толерантность к глюкозе

ОПСС – общее периферическое сосудистое сопротивление

ОТ – окружности талии

ОХС – уровень общего холестерина

ПА – пероксидазная активность

ПОЛ – перекисное окисление липидов

ПОМК – проопиомеланокортин

ПППВ – полифенольные продукты переработки винограда

- РААС – ренин-ангиотензин-альдостероновая система
- САД – систолическое артериальное давление
- СВ – системное воспаление
- СД – сахарный диабет
- СД2 – сахарный диабет 2-го типа
- СЖК – свободные жирные кислоты
- СОД – супероксиддисмутаза
- СРБ – С-реактивный белок
- ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания
- ССО – сердечно-сосудистые осложнения
- ТБК-АП – ТБК-активные продукты
- ТГ – триглицериды
- ТПА – трипсиноподобная активность
- ТФР- $\beta$  – трансформирующий фактор роста- $\beta$
- УОК – ударный объем крови
- ФА – физическая активность
- ФЖЕЛ – форсированная жизненная емкость легких
- ФПП – функциональные продукты питания
- ХС – холестерин
- ХС ЛВП – холестерин липопротеидов высокой плотности
- ХС ЛНП – холестерин липопротеидов низкой плотности
- ЦП – церулоплазмин
- ЧДД – частота дыхания
- ЧСС – частота сердечных сокращений
- ЭПА – эластазоподобная активность
- ЭПВ – экстракт полифенолов винограда
- ААСЕ – Американская ассоциация Клинических Эндокринологов



АНА/NHLBI – Американская Ассоциация Кардиологов/Национальный институт Сердца, Легких и Крови

aP2 – белок адипоцитов 2

ATGL – транскрипция генов триглицеридлипазы адипоцитов

C/EBP – Факторы транскрипции семейства C/EBP

C3G – цианидин-3-О-β-глюкозид

CD36 – кластер дифференцировки 36

CNVs – дубликатурные сегменты хромосом

COX-2 – циклооксигеназа 2

CREB – белок, связывающий цАМФ-зависимый элемент

EGIR – Европейская группа по изучению инсулинорезистентности

ER-стресс – стресс эндоплазматического ретикулума

FABP4 – адипоцит-специфичный, СЖК-связывающий транспортный белок aP2

FATP – транспортные белки жирных кислот

FOX A1 – антитело Forkhead box A1 (гепатоцит ядерный фактор 3-альфа NF3a)

FOXO – транскрипционные факторы forkhead box O

FTO – ген ассоциированного с ожирением белка

GLUT4 – транспортер глюкозы 4 типа

IDF – Международная Федерация Сахарного Диабета

iNOS – индуцируемая синтаза оксида азота

IκB – ингибитор κB

INSIG – инсулин-индуцированный ген

IRS – субстрат рецептора инсулина

JIS – Объединенное промежуточное заявление рабочей группы IDF

JNK/AP-1 – ингибиторы янус-киназ

KEAP1 – келч-подобный ECH-ассоциированный белок 1

KLF – Krüppel-подобные факторы

LEPR – рецептор лептина

LXR – печеночный рецептор X

MAP – митоген-активируемый белок

МАРК – митоген-активируемая протеинкиназа

МСР-1 – моноцитарный белок-1 хемоаттрактант

НСЕР АТР III – Национальная Образовательная программа по холестерину -  
Группа по лечению взрослых III

NF-κB – ядерный фактор «каппа-би»

РСА – протокатехиновая кислота

PEPCK – фосфоенолпируваткарбоксикиназа

PI3-K – фосфоинозитид-3-киназа

РОМС (ПОМК) – проопиомеланокортин

РОМС-нейроны – проопиомеланокортин-нейроны

PPAR – пероксисом-активируемые рецепторы

RBP4 – ретинолсвязывающий белок 4

SHC1 – трансформирующий белок 1

SIRT – молчащий информационный регулятор-белок

SNP – однонуклеотидный полиморфизм

SREBP – белок, связывающий стеролчувствительный элемент

TZDs – тиазолидинидионы

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдоминальное ожирение : клинико-социальные аспекты проблемы / В. Б. Гриневич [и др.] // Ожирение и метаболизм. – 2012. – N 2. – С. 28–32.
2. Аметов, А. С. Гипоадипонектинемия – маркер глюкозо-и липотоксичности у пациентов с сахарным диабетом типа 2 и висцеральным ожирением / А. С. Аметов, Л. Л. Камынина, В. М. Литвиненко // Эндокринология. Новости. Мнения. Обучение. – 2018. – Т. 7, N 2(23). – С. 35–45.
3. Аметов, А. С. Клинические аспекты генетики, нутриогенетики и фармакогенетики сахарного диабета 2–го типа / А. С. Аметов, Л. Л. Камынина, З. Г. Ахмедова // Терапевтический архив. – 2015. – Т. 87, N 8. – С. 124–131.
4. Анализ ассоциации полиморфных маркеров генов ADIPOQ, ADIPOR1 и ADIPOR2 с сахарным диабетом 2 типа / Д. С. Ходырев [и др.] // Сахарный диабет. – 2015. – Т. 18, N 2. – С. 5–11.
5. Анализ ассоциаций полиморфных маркеров гена TCF7L2 с сахарным диабетом 2–го типа у жителей Республики Татарстан / Ф. В. Валеева [и др.] // Медицинский альманах. – 2017. – N 6(51). – С.126–129.
6. Антиоксидантная пищевая добавка из ягодной кожуры красного винограда / В. В. Садовой [и др.] // Пищевая промышленность. – 2013. – N 12. – С. 68–70.
7. Антирадикальная активность полифенольных экстрактов плодов рода Vaccinium и влияние их на оксидативный статус / Е. А. Белова, Н. С. Кавушевская, Е. А. Кривых, Л. В. Коваленко // Вестник Новгородского государственного университета. – 2022. – N 1(126). – С. 47–51.
8. Ассоциация аллелей гена адипонектина с сахарным диабетом 2–го типа у жителей Башкортостана / Д. Ш. Авзалетдинова [и др.] // Проблемы эндокринологии. – 2019. – Т. 65, N 1. – С. 31–38.

9. Ассоциация полиморфного маркера G276T гена адипонектина с развитием метаболического синдрома у пациентов киргизской национальности / Ж. Т. Исакова [и др.] // Терапевтический архив. – 2015. – Т. 87, N 10. – С. 85–90.
10. Ассоциация полиморфного маркера rs11061971 гена ADIPOR2 с сахарным диабетом 2-го типа / Л. Н. Бельчикова [и др.] // Проблемы эндокринологии. – 2012. – Т. 58, N 4-2. – С. 8.
11. Ассоциация полиморфных маркеров гена адипонектина с диабетической ретинопатией при сахарном диабете типа 2 у якутов / Л. Л. Алексеева [и др.] // Якутский медицинский журнал. – 2011. – N 1(33). – С. 37–40.
12. Асфандиярова, Н. С. Смертность при сахарном диабете 2 типа / Н. С. Асфандиярова // Сахарный диабет. – 2015. – Т. 18, N 4. – С. 12–21.
13. Ахмедов, В. А. Генетические аспекты формирования неалкогольной жировой болезни печени / В. А. Ахмедов, Т. И. Меликов // Лечащий врач. – 2019. – N 8. – С. 28–31.
14. Ахмедов, В. А. Современные взгляды на факторы возникновения и прогрессирования атеросклероза / В. А. Ахмедов, А. С. Шевченко, А. С. Исаева // Русский медицинский журнал. Медицинское обозрение. – 2019. – Т. 3, N 1–2. – С. 57–62.
15. Ахмедова, З. Г. Полиморфизм генов FTO, LEP и LEPR у пациентов с сахарным диабетом типа 2 в малых этнических подгруппах Республики Азербайджан / З. Г. Ахмедова, С. С. Фараджева // Эндокринология. Новости. Мнения. Обучение. – 2014. – N 2(7). – С. 64–69.
16. Ахметова, Е. С. Патологические и генетические изменения в организме беременной при гестационном сахарном диабете / Е. С. Ахметова // Журнал акушерства и женских болезней. – 2017. – Т. 66, N 5. – С. 27–36.
17. Бирюкова, Е. В. Ожирение: состояние проблемы и возможности терапии в XXI веке / Е. В. Бирюкова, Н. М. Платонова // Эффективная фармакотерапия.

- 2019. – Т. 15, N 41. – С. 32–40.
18. Вавилова, Т. П. Биологическая роль адипокинов как маркеров патологических состояний / Т. П. Вавилова, А. П. Плетень, Р. К. Михеев // Вопросы питания. – 2017. – Т. 86, N 2. – С. 5–13.
19. Варианты гена адипонектина (ADIPOQ) rs2441766 и rs266729: ассоциация с концентрацией общего и высокомолекулярного адипонектина сыворотки крови у женщин с абдоминальным ожирением и метаболическим синдромом / Д. Л. Бровин [и др.] // Медицинская генетика. – 2019. – N 1. – С. 25–34.
20. Василенко, М. А. Роль тканеспецифической продукции адипокинов и провоспалительных молекул в развитии инсулинорезистентности при ожирении : специальность 14.03.03 «Патологическая физиология» : диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Василенко Мария Александровна; Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта. – Калининград, 2016. – 191с.
21. Вахромеева, К. А. Полиморфные генетические маркеры сахарного диабета 2-го типа и их ассоциации с клинико-метаболическими показателями в русской популяции : специальность 14.01.02 «Эндокринология» : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Вахромеева Ксения Александровна; Тюменская государственная медицинская академия. – Тюмень, 2015. – 23 с.
22. Ващенко, В. И. Биология и фармакология церулоплазмينا: от эксперимента до лекарственной терапии / В. И. Ващенко, Т. Н. Ващенко // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2008. – Т. 6. – N 1. – С. 31–44.
23. Вербовой, А. Ф. Ожирение : эпидемиологические и социально-экономические аспекты, профилактика / А. Ф. Вербовой, Л. А. Шаронова // Эндокринология. Новости. Мнения. Обучение. – 2019. – Т. 8, N 3(28). – С. 87–97.

24. Висцеральное ожирение и кардиометаболический риск : особенности гормональной и иммунной регуляции / И. В. Кологривова [и др.] // Ожирение и метаболизм. – 2017. – Т. 14, N 3. – С. 3–10.
25. Влияние качественного состава высокожировой диеты на уровень цитокинов и устойчивость миокарда к ишемии-реперфузии у крыс с синдромом системного воспалительного ответа / Ю. Ю. Борщев [и др.] // Медицинская иммунология. – 2021. – Т. 23, N 5. – С. 1089–1104.
26. Влияние характера питания на SIRTUIN1–опосредованное изменение метаболических процессов / Ю. А. Фефелова [и др.] // Вопросы питания. – 2016. – Т. 85, N 4. – С. 5–13.
27. Волков, В. П. Метаболический синдром : история вопроса / В. П. Волков // Universum : медицина и фармакология. – 2017. – N 4(38). – С. 36–45.
28. Галагудза, М. М. Абдоминальное висцеральное ожирение как основа формирования метаболического синдрома : современное состояние проблемы / М. М. Галагудза, Ю. Ю. Борщев, С. В. Иванов // University Therapeutic Journal. – 2020. – Т. 2, N 1. – С. 30–36.
29. Галиханова, Л. И. Функциональное состояние эндотелия у молодых женщин с ожирением и артериальной гипертензией / Л. И. Галиханова, Э. Г. Муталова // Вестник современной клинической медицины. – 2020. – Т. 13, N 6. – С. 87–94.
30. Галстян, Г. Р. Ожирение и сахарный диабет 2 типа: поиск компромиссного терапевтического решения / Г. Р. Галстян, Е. А. Шестакова, И. А. Скляник // Сахарный диабет. – 2017. – Т. 20, N 4. – С. 270–278.
31. Гемореология и гемостаз у больных с ишемическим инсультом на фоне сахарного диабета 2 типа и метаболического синдрома / М. М. Танащян [и др.] // Анналы клинической и экспериментальной неврологии. – 2014. – Т. 8, N 3. – С. 14–20.

32. Генные сети липидного метаболизма / Н. А. Колчанов [и др.] / Бюллетень СО РАМН. – 2006. – N 2 (120). – С. 29–42.
33. Глобальный доклад по диабету [Global report on diabetes]. Женева: Всемирная организация здравоохранения; 2018. Лицензия: CC BY-NC-SA 3.0 IGOBO3, 2018. [Электронный ресурс]. – URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/275388> (Дата обращения 24.08.2022)
34. Глюкозо- и липотоксичность – взаимоотношающиеся факторы при сочетании сахарного диабета типа 2 и ожирения / А. С. Аметов [и др.] // Врач. – 2014. – N 4. – С. 20–23.
35. ГОСТ 3 54037–2010 Продукты пищевые. Определение содержания водорастворимых антиоксидантов амперометрическим методом в овощах, фруктах, продуктах их переработки, алкогольных и безалкогольных напитках: издание официальное : утвержден и введен в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 30 ноября 2010 г. N 651-ст: Дата введения 2012-01-01. – Москва : Стандартинформ, 2019. – 8 с. – Текст : непосредственный.
36. Деева, Т. А. Клиническое значение неинвазивных маркеров фиброза у пациентов с метаболическим синдромом : специальность 14.01.04 «Внутренние болезни» : диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Деева Татьяна Андреевна ; Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова. – Москва, 2015. – 171 с.
37. Демидова, Т. Ю. Роль инсулинорезистентности в развитии сахарного диабета и других состояний. Современные возможности коррекции / Т. Ю. Демидова, С. Г. Зенина // Русский медицинский журнал. Медицинское обозрение. – 2019. – N 10(II). – С. 116–122.
38. Дерябин, Д. Г. Бактериальная биолюминесценция : фундаментальные и прикладные аспекты / Д. Г. Дерябин. – Москва, 2009. – 246 с. – ISBN 978–5–

- 02–036687–9.
39. Джонсон, Р. Ген ожирения / Р. Джонсон, П. Эндрюс // В мире науки. – 2016. – N 8–9. – С. 112–119.
40. Диетически индуцированные животные модели метаболического синдрома (обзор литературы) / Д. В. Лещенко [и др.] // Верхневолжский медицинский журнал. – 2015. – Т. 14, N 2. – С. 34–39.
41. Дорофиенко, Н. Н. Роль сосудистого эндотелия в организме и универсальные механизмы изменения его активности (обзор литературы) / Н. Н. Дорофиенко // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2018. – N 68. – С. 107–116.
42. Дубинина, Е. Е. Активность и изоферментный спектр супероксиддисмутазы эритроцитов и плазмы крови человека / Е. Е. Дубинина, Л. А. Сальникова, Л. Ф. Ефимова // Лабораторное дело. – 1983. – N 10. – С. 30–33.
43. Егоров, А. Д. Участие транскрипционного фактора PREP1 в процессах адипогенной дифференцировки : специальность 03.01.03 «Молекулярная биология» : диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Егоров Александр Дмитриевич. – Москва, 2017. – 102 с.
44. Ермакова, С. П. Структура и механизм биологического действия некоторых полисахаридов и полифенолов растительного происхождения : специальность 02.00.10 «Биоорганическая химия» : автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора химических наук / Ермакова Светлана Павловна ; Тихоокеанский институт биологической химии им. Г. Б. Белякова. – Владивосток, 2013. – 49 с.
45. Ефременко, Ю. Р. Показатели липидного обмена и свободнорадикального окисления при метаболическом синдроме / Ю. Р. Ефременко, Е. Ф. Королева, Т. Н. Горшкова // Вестник Нижегородского университета им. Н. И. Лобачевского. – 2011. – N 2–2. – С. 183–189.



46. Жеоржеску, Ч. Функциональные продукты питания в Европе. Научный результат / Ч. Жеоржеску, А. Г. Быркэ, Н. И. Мячикова // Технологии бизнеса и сервиса. – 2016. – N 2 (3 (9)). – С. 39–43.
47. Зайцев, Г. П. Совершенствование технологии производства насыщенной полифенолами биологически активной продукции из винограда красных сортов : специальность 05.18.01 «Технология обработки, хранения и переработки злаковых, бобовых культур, крупяных продуктов, плодоовощной продукции и виноградарства» : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата технических наук / Зайцев Георгий Павлович ; Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия. – Краснодар, 2020. – 24 с.
48. Зверев, Я. Ф. Флавоноиды глазами фармаколога. Антиоксидантная и противовоспалительная активность / Я. Ф. Зверев // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2017. – N 4. – С. 5–13.
49. Иевлева, К. Д. Роль лептина и ядерного рецептора PPAR $\gamma$  в патогенезе синдрома поликистоза яичников / К. Д. Иевлева, И. Н. Данусевич, Л. В. Сутурина // Проблемы эндокринологии. – 2020. – Т. 66, N 6. – С. 74–80.
50. Изменения реологических свойств крови при сахарном диабете / А.А. Фабричнова [и др.] // Эндокринология : Новости. Мнения. Обучение. – 2018. – Т. 2, N 23. – С. 26–34.
51. Исмаилов, А. Д. Биолюминесценция как излучательная форма защиты от окислительного стресса у морских фотобактерий / А. Д. Исмаилов // Материалы VII Съезда Российского фотобиологического общества (14–20 сент. 2014 г.). – Пущино, 2014. – С. 104.
52. Исследование антиоксидантной активности крымских полифенольных концентратов биолюминесцентным методом / А. М. Кацев [и др.] // Магарач. Виноградарство и виноделие. – 2018. – Т. 20, N 4(106). – С. 83–85.

53. Кайдашев, И. П. Изменение образа жизни как часть комплексной терапии хронического системного воспаления при метаболическом синдроме / И. П. Кайдашев // Международный эндокринологический журнал. – 2012. – N 2 (42)). – С.143–148.
54. Кайдашев, И. П. Nf- $\kappa$ b-сигнализация как основа развития системного воспаления, инсулинорезистентности, липотоксичности, сахарного диабета 2-го типа и атеросклероза / И. П. Кайдашев // Международный эндокринологический журнал. – 2011. – N (3 (35)). – С. 35–45.
55. Калликреин-кининовая система как возможная мишень в терапии диабетической ретинопатии / Г. А. Яровая [и др.] // Вестник офтальмологии. – 2012. – Т. 128, N 4. – С. 78–81.
56. Каркищенко, Н. Н. Альтернативы биомедицины / Н. Н. Каркищенко. – Москва : Межакадемическое издательство ВПК, 2007. – С. 148
57. Кисиленко, Е. В. Постпрандиальные изменения липидного профиля у пациентов с гипертонической болезнью и ожирением / Е. В. Кисиленко // Евразийский кардиологический журнал. – 2019. – N (2S). – С. 109.
58. Классические и современные представления о метаболическом синдроме. Часть 2. патогенез / Ю. И. Строев [и др.] // Вестник Санкт–Петербургского университета. Медицина. – 2007. – N 4. – С. 1–14.
59. Клиническая оценка гемодинамических и метаболических нарушений, развивающихся при инсулинорезистентности у больных артериальной гипертензией с нормальной массой тела / Л. А. Соколова [и др.] // Артериальная гипертензия. – 2017. – N 23(4). – С. 294–302.
60. Ковалева, М. А. Генетически модифицированные линии лабораторных животных, используемые в качестве модели метаболического синдрома и сахарного диабета / М. А. Ковалева, М. Н. Макарова, В. Г. Макаров // Лабораторные животные для научных исследований. – 2018. – N 1. – С. 22–

- 31.
61. Ковалева, Ю. В. Гормоны жировой ткани и их роль в формировании гормонального статуса и патогенезе метаболических нарушений у женщин / Ю. В. Ковалева // Артериальная гипертензия. – 2015. – Т. 21, N 4. – С. 356–370.
62. Коваленко, Л. В. Воздействие полифенольных корректоров на основные проявления метаболического синдрома в эксперименте / Л. В. Коваленко, Е. А. Белова // Вестник СурГУ. Медицина. – 2016. – N 1(27). – С. 13–16.
63. Коваль, С. Н. Современные представления о возможности прогнозирования течения артериальной гипертензии при метаболическом синдроме / С. Н. Коваль, В. В. Божко, И. А. Снегурская // Артериальная гипертензия. – 2012. – N 6(26). – С. 34–39.
64. Консенсус экспертов по междисциплинарному подходу к ведению, диагностике и лечению больных с метаболическим синдромом / В. Б. Мычка [и др.] // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2013. – N 12(6). – С. 41–82.
65. Костюк, В. А. Растительные полифенольные соединения как компоненты функционального питания / В. А. Костюк // Труды Белорусского государственного университета. Серия : Физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем. – 2016. – Т. 11, N 1. – С. 32–41.
66. Косыгина, А. В. Гормоны жировой ткани – адипонектин и висфатин и экспрессия контролирующих их генов при ожирении у детей : специальность 14.01.02 «Эндокринология» : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Косыгина Анна Васильевна. – Москва, 2011. – 27 с.
67. Кох, Н. В. Подходы к профилактике и лечению метаболического синдрома :

- нутригенетика / Н. В. Кох, А. А. Слепухина, Г. И. Лифшиц // Сибирское медицинское обозрение. – 2017. – N 5(107). – С. 105–109.
68. Красные столовые вина : биохимия, технология, эноterapia / А. М. Авидзба [и др.]. – Краснодар : ООО «Экоинвест», 2016. – 192 с. – ISBN 978–5–94215–328–1.
69. Кубышкин, А. В. Эластолитическая активность бронхоальвеолярного лаважа при моделировании воспалительного процесса в легких / А. В. Кубышкин, И. И. Фомочкина // Український біохімічний журнал. – 2008. – Т. 80, N 1. – С. 89–95.
70. Лептинорезистентность, нерешенные вопросы диагностики / Д. А. Бородкина [и др.] // Проблемы эндокринологии. – 2018. – N 1. – С. 62–66.
71. Литвинов, В. Н. Характеристика некоторых современных методов количественного определения и оценки уровня здоровья / В. Н. Литвинов, Л. Д. Чуб, Ю. Ю. Зенцева // Материалы Всеукраинской научно-методической конференции. – Донецк, 2000. – С. 53–56.
72. Макарова, М. Н. Диет-индуцированные модели метаболических нарушений / М. Н. Макарова, В. Г. Макаров // Лабораторные животные для научных исследований. – 2018. – N 1. – С. 79–91.
73. Марамыгин, Д. С. Адипокины в патогенезе метаболического синдрома / Д. С. Марамыгин, Р. В. Ситников, Д. В. Суменкова // Инновационная наука. – 2017. – Т. 3, N 4. – С. 197–207.
74. Маркова, Т. Н. Адипоцитокينات : современный взгляд на дефиницию, классификацию и роль в организме / Т. Н. Маркова, Н. К. Мищенко, Д. В. Петина // Проблемы эндокринологии. – 2022. – Т. 68, N 1. – С. 73–80.
75. Маханова, Р. С. К вопросу изучения перекисного окисления липидов / Р. С. Маханова // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2011. – N 1(29). – С. 231–234.

76. Медведев, И. Н. Восстановление антиагрегационной активности сосудистой стенки у больных, перенесших тромбоз периферических сосудов, на фоне артериальной гипертензии 1-2 степени при метаболическом синдроме / И. Н. Медведев, О. А. Даниленко // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – N 2. – С. 348.
77. Межгенные взаимодействия и вклад полиморфных локусов генов KCNJ11, ADIPOQ, оментина, лептина, TCF7L2 и PPAR $\gamma$  в развитие сахарного диабета 2-го типа в Кыргызской популяции : предварительные результаты исследования по типу случай–контроль с использованием MDR-анализа / Ж. Т. Исакова [и др.] // Проблемы эндокринологии. – 2018. – Т. 64, N 4. – С. 216–225.
78. Метаболизм и ожирение : вклад гена рецептора лептина / К. Д. Иевлева [и др.] // Acta Biomedica Scientifica (East Siberian Biomedical Journal). – 2017. – Т. 2, N 5-1(117). – С. 56–62.
79. Метаболический синдром / А. Ю. Бабенко, Е. В. Балуква, Н. В. Барышникова [и др.]. – Санкт-Петербург : Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет МЗ Российской Федерации, 2020. – 496 с. – ISBN 978-5-907321-19-9.
80. Метаболический синдром как клиническое проявление эндотелиальной дисфункции / Л. Л. Кириченко [и др.] // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2012. – Т. 11, N 2. – С. 85–89.
81. Метаболический синдром : история развития, основные критерии диагностики / Ю. Н. Беленков [и др.] // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2018. – N 14(5). – С. 757–764.
82. Моделирование метаболического синдрома на крысах / Ю. Ю. Ивницкий [и др.] // Medline. ru. Российский биомедицинский журнал. – 2019. – Т. 20. – С. 275–293.

83. Модель метаболического синдрома, вызванного кормлением фруктозой : патогенетические взаимосвязи обменных нарушений / М. В. Решетняк [и др.] // Медицинский академический журнал. – 2011. – Т. 11, N 3. – С. 23–27.
84. Молекулярные и генетические механизмы патогенеза сахарного диабета 2 типа / О. Н. Белоусова [и др.] // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия : Медицина. Фармация. – 2015. – N 16(213). – С. 12–19.
85. Морфологическая диагностика : подготовка материала для морфологического исследования и электронной микроскопии : руководство / Д. Э. Коржевский [и др.]; под редакцией Д. Э. Коржевского. – Санкт–Петербург : СпецЛит, 2013. – 127 с. – ISBN 978–5–299–00569–1.
86. Мустафаева, А. Г. Взаимосвязь эндотелиальной дисфункции и развития осложнений метаболического синдрома / А. Г. Мустафаева // Казанский медицинский журнал. – 2018. – Т. 99, N 5. – С. 784–791.
87. Мухамедова, Н. Х. К механизму дисфункции эндотелия при метаболическом синдроме у женщин репродуктивного и постменопаузального периода / Н. Х. Мухамедова // Молодой ученый. – 2015. – N 11(91). – С. 683–687.
88. Нейромедиаторы и нейропептиды – биомаркеры метаболических нарушений при ожирении / И. В. Гмошинский [и др.] // Проблемы эндокринологии. – 2018. – Т. 64, N 4. – С. 258–269.
89. Некоторые молекулярно-генетические механизмы формирования ожирения и метаболического синдрома / Г. И. Лифшиц [и др.] // Фармакогенетика и фармакогеномика. – 2017. – N 1. – С. 5–9.
90. Никонова, Л. В. Грелин : физиологические аспекты действия / Л. В. Никонова, Э. В. Давыдчик // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2013. – N 3(43). – С. 23–25.
91. Новые патогенетические факторы в формировании метаболического

- воспаления / Е. В. Кириенкова [и др.] // Российский иммунологический журнал. – 2015. – Т. 9, № 3(18). – С. 283-297.
92. Нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации: методические рекомендации. – Москва Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009. – 36 с. – Доступно по [https://rospotrebnadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT\\_ID=4583](https://rospotrebnadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=4583) Ссылка активна на 14.11.19
93. Ожирение в российской популяции – распространенность и ассоциации с факторами риска хронических неинфекционных заболеваний / Ю. А. Баланова [и др.] // РКЖ. – 2018. – N 6. – С123-130.
94. Ожирение / И. И. Дедов [и др.] // Consilium Medicum. – 2021. – N 4. – С. 311–325.
95. Опыт практического применения препарата "метформин" в лечении пациентов с сахарным диабетом 2 типа / Г. Р. Муракова [и др.] // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2018. – N 2. – С. 111–114.
96. Особенности клеточного иммунитета и цитокинового репертуара у пациентов с метаболическим синдромом / Л. С. Литвинова [и др.] // Бюллетень сибирской медицины. – 2012. – Т. 11, N 3. – С. 53–57.
97. Особенности процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты у практически здоровых мужчин / Л. И. Колесникова [и др.] // Вестник Российской Военно-медицинской академии. – 2012. – N 3(39). – С. 134–137.
98. Особенности течения и качество жизни больных артериальной гипертонией с метаболическими нарушениями / А. М. Терегулова [и др.] // Медицинский вестник Башкортостана. – 2013. – Т. 8, N 6. – С. 118–122.
99. Особенности феррокинетики и параметров системного воспаления у

- пациентов с сахарным диабетом / Н. Н. Мусина, Т. В. Саприна, Т. С. Прохоренко, А. П. Зима // Инновационные технологии в эндокринологии : сборник тезисов IV (XXVII) Национального конгресса эндокринологов с международным участием ( Москва, 22–25 сент. 2021 г.). – Москва : Общество с ограниченной ответственностью "Типография "Печатных Дел Мастер", 2021. – С. 378.
100. Остроухова, Е. В. Сравнительный анализ сортов винограда как источников биологически активных соединений стильбеноидов и флавонолов / Е. В. Остроухова, И. В. Пескова, М. А. Вьюгина // Достижения науки и техники АПК. – 2019. – Т. 33, N 1. – С. 45–49.
101. Оценка влияния пищевого концентрата полифенолов винограда «Эноант» на процесс реабилитации онкологических больных после химиотерапии / В. М. Сорокин [и др.] // Проблемы, достижения и перспективы развития медико-биологических наук и практического здравоохранения : труды Крымского государственного медицинского университета им. С. И. Георгиевского. – Симферополь, 2005. – Т. 141, ч. 1. – С. 79–81.
102. Оценка применимости природных люминесцентных бактерий, выделенных из Азовского и Черного морей, для определения антимикробной активности антибиотиков / С. Л. Сафронюк [и др.] // Аспирантский вестник Поволжья. – 2020. – N 5–6. – С. 175–183.
103. Панков, Ю. А. Мутации в генах лептина и его медиаторов : индукция ожирения в сочетании с разной патологией / Ю. А. Панков // Проблемы эндокринологии. – 2013. – N 2. – С. 49–59.
104. Перспективы использования фитопрепаратов в современной фармакологии / Т. В. Самбукова [и др.] // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2017. – Т. 15, N 2. – С. 56–63.
105. Плохая, А. А. Современные аспекты лечения метаболического синдрома / А. А. Плохая // Ожирение и метаболизм. – 2011. – Т. 8, N 3. – С. 31–37.



106. Пожилова, Е. В. Синтаза оксида азота и эндогенный оксид азота в физиологии и патологии клетки / Е. В. Пожилова, В. Е. Новиков // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2015. – Т. 14, N 4. – С. 35–41.
107. Полиморфизм генов матриксных металлопротеиназ 2 и 9 у пациентов при инфаркте миокарда и метаболическом синдроме / Е. А. Панченко [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2014. – N 10-10. – С. 1964–1970.
108. Полифенолы винограда – функциональные ингредиенты здорового питания в традиционных и инновационных продуктах виноделия / И. В. Черноусова [и др.] // Виноградарство и виноделие. – 2020. – Т. 49. – С. 258–260.
109. Полифенолы выжимки и лозы винограда, качественный и количественный состав / И. В. Черноусова [и др.] // Магарач. Виноградарство и виноделие. – 2021. – Т. 23, N 3(117). – С. 292–298.
110. Полифенольные растительные экстракты: влияние на нарушения углеводного и липидного обмена у лабораторных грызунов / В. К. Мазо [и др.] // Проблемы эндокринологии. – 2016. – Т. 62, N 4. – С. 38–44.
111. Полозова, Э. И. Особенности артериальной гипертензии у больных с метаболическими нарушениями / Э. И. Полозова, Е. В. Пузанова, А. А. Сеськина // Современные проблемы науки и образования. – 2019. – N 3. – С.179.
112. Пушкарев, В. Рецепция и внутриклеточные механизмы действия инсулина / В. Пушкарев // Эндокринология. – 2018. – №3. – С. 269–280.
113. Р 4.1.1672-03. Руководство по методам контроля качества и безопасности биологически активных добавок к пище : утверждено и введено в действие Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации, Первым заместителем Министра здравоохранения Российской Федерации Г.

- Г. Онищенко 30 июня 2003 г. – Москва : Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. – 240 с. Дата введения 2003-06-30.
114. Распространенность абдоминального ожирения в сибирской популяции / Г. И. Симонова [и др.] // Сибирский научный медицинский журнал. – 2015. – Т. 35, N 1. – С. 60–64.
115. Распространенность и биомаркеры метаболического синдрома / О. Ю. Кытикова [и др.] // Ожирение и метаболизм. – 2021. – Т. 18, N 3. – С. 302–312.
116. Распространенность метаболического синдрома у жителей Новосибирска в возрасте от 25 до 45 лет / М. И. Воевода [и др.] // Терапевтический архив. – 2016. – Т. 88, N 10. – С. 51–56.
117. Рецепция и внутриклеточные механизмы действия инсулина / Н. Д. Тронько [и др.] // Эндокринология. – 2018. – Т. 23, N 3. – С. 269–280.
118. Роль NF-κB в развитии синергического ответа макрофагов человека на сочетанную стимуляцию рецепторов NOD1 и TLR4 in vitro / Н. Е. Муругина [и др.] // Иммунология. – 2020. – Т. 41, N 2. – С. 14–23.
119. Роль липоцитокинов в патогенезе метаболического синдрома / Л. В. Щекатурова [и др.] // Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія. – 2013. – № 1(42). – С. 15–25.
120. Романцева, Т. И. Эпидемия ожирения : очевидные и вероятные причины / Т. И. Романцева // Ожирение и метаболизм. – 2011. – Т. 1, N 5. – С.19.
121. Романцова, Т. И. Периваскулярная жировая ткань : роль в патогенезе ожирения, сахарного диабета 2 типа и сердечно-сосудистой патологии / Т. И. Романцова, А. В. Овсянникова // Ожирение и метаболизм. – 2015. – Т. 12, N 4. – С. 5–13.
122. Рычкова, И. В. Встречаемость аллелей и генотипов полиморфных генов лептина G (–2548) A, адипонектина G(276)T и рецептора адипонектина

- A(+219)Т у больных псориазом, страдающих алиментарным ожирением / И. В. Рычкова, О. А. Притуло, К. Д. Малый // Вестник Российской Военно-медицинской академии. – 2019. – N 2(66). – С. 24–27.
123. Сахарный диабет 2 типа и метаболический синдром: молекулярные механизмы, ключевые сигнальные пути и определение биомаркеров для новых лекарственных средств / И. И. Дедов [и др.] // Сахарный диабет. – 2018. – N 21 (5). – С. 364–375.
124. Связь нарушений электрической активности эритроцитов с дислипидемией при метаболическом синдроме / В. И. Подзолков [и др.] // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2018. – Т. 14, N 3. – С. 344–349.
125. Связь полиморфных вариантов гена рецептора лептина с развитием сахарного диабета 2 типа и ожирения / С. В. Зяблицев [и др.] // Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія. – 2016. – N 2(54). – С. 57–61.
126. Северин, Н. А. Функциональная активность полифенольных соединений красного столового вина "Каберне" при метаболическом синдроме / Н. А. Северин, В. И. Мизин, В. В. Ежов // Вестник физиотерапии и курортологии. – 2016. – Т. 22, N 1. – С. 4–8.
127. Сеницкий, М. Ю. Генетический профиль и секретом адипоцитов висцеральной и подкожной жировой ткани у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями / М. Ю. Сеницкий, А. В. Понасенко, О. В. Груздева // Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. – 2017. – Т. 6, N 3. – С. 155–165.
128. Системное воспаление в патогенезе метаболического синдрома и ассоциированных с ним заболеваний / И. Д. Беспалова [и др.] // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2013. – Т. 117, N 2. – С. 5–9.
129. Смирнова, Е. Н. Вегетативная регуляция и эндотелиальная дисфункция у

- пациентов с метаболическим синдромом / Е. Н. Смирнова [и др.] // Журнал МедиАль. – 2015. – N 3(17). – С. 113–116.
130. Смирнова, Е. Н. Содержание лептина, растворимых рецепторов лептина и индекса свободного лептина у больных с метаболическим синдромом / Е. Н. Смирнова, С. Г. Шулькина // Ожирение и метаболизм. – 2017. – Т. 14, N 1. – С. 30–34.
131. Современные тенденции развития нутригеномики ожирения / И. А. Лапик [и др.] // Вопросы питания. – 2016. – Т. 85, N 6. – С. 6–13.
132. Соснова, Е. А. Метаболический синдром / Е. А. Соснова // Архив акушерства и гинекологии им. В. Ф. Снегирева. – 2016. – N 3 (4). – С.172–180.
133. Справочник по клинико–биохимической лабораторной диагностике: в 2 т. / В. С. Камышников. – Минск : Беларусь, 2000. – Т. 2. – 463 с.
134. Супероксиддисмутаза в составе антиоксидантной терапии: состояние вопроса и перспективы / Т. А. Пушкина [и др.] // Неотложная медицинская помощь. Журнал им. Н.В. Склифосовского. – 2016. – N 4. – С. 42–47.
135. ТБК–активные продукты перекисного окисления липидов эритроцитов в УЗ–поле и при наличии этанола / В. А. Игнатенко [и др.] // Проблемы здоровья и экологии. – 2012. – N 4(34). – С. 117–122.
136. Тиазолидиндионы : всерьез и надолго / А. А. Александров [и др.] // Медицинский совет. – 2011. – N 11–12. – С. 92–97.
137. Титов, В. Н. Биологическая функция трофологии (питания) и патогенез метаболического синдрома — физиологического переедания. Филогенетическая теория общей патологии, лептин и адипонектин / В. Н. Титов // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2014. – Т. 58, N 2. – С. 68–79.
138. Титов, В. Н. Лептин и адипонектин в патогенезе метаболического синдрома / В. Н. Титов // Клиническая медицина. – 2014. – Т. 92, N 4. – С. 20–

- 29.
139. Толл–подобные рецепторы в патофизиологии ожирения / О. Ю. Кытикова [и др.] // Ожирение и метаболизм. – 2020. – Т. 17, N 1. – С. 56–63.
140. Тополянская, С. В. Фактор некроза опухоли-альфа и возраст-ассоциированная патология / С. В. Тополянская // Архивъ внутренней медицины. – 2020. – N 10(6). –С. 414–421.
141. Трошина, Е. А. Фармакотерапия ожирения : что нового? / Е. А. Трошина, Е. В. Ершова // Проблемы эндокринологии. – 2018. – Т. 64, N 4. – С. 270–276.
142. Фенольные компоненты винограда сорта Каберне-Совиньон винодельческих хозяйств Крыма / Г. П. Зайцев [и др.] // Химия растительного сырья. – 2015. – N 2. – С. 187–193.
143. Фитотерапия : современное состояние вопроса / Л. Р. Селимзянова [и др.] // Педиатрическая фармакология. – 2016. – Т. 13, N 5. – С. 488–493.
144. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина / Ю. С. Тараховский, Ю. А. Ким, Б. С. Абдрасилов [и др.]. – Пушино : Synchronobook, 2013. – 310 с. –ISBN 978–5–91874–043–9
145. Характеристики пищевого поведения и уровень гормонов, регулирующих аппетит, у пациентов с сахарным диабетом 2 типа и индексом массы тела выше 35 кг/м<sup>2</sup> / Е. В. Тихоненко [и др.] // Ожирение и метаболизм. –2018. – N 15 (1). – С. 30–38.
146. Чаулин, А. М. О биологической роли лептина / А. М. Чаулин, Ю. В. Григорьева // Научное обозрение. Биологические науки. – 2021. – N 1. – С. 32–38.
147. Черняев, А. А. Активность перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты как маркеров эндогенной интоксикации при метаболическом синдроме / А. А. Черняев, А. А. Демидов, Н. А. Прокопенко // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – N 3. – С. 173.

148. Чистяков, Д. В. Регуляция ядерных рецепторов PPAR $\alpha$ ,  $-\beta$ ,  $-\gamma$  при стимуляции системы врожденного иммунитета в условиях гипергликемии : специальность 03.01.03 «Молекулярная биология» : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Чистяков Дмитрий Викторович. – Москва, 2015. – 25 с.
149. Шелест, Б. А. Изменения стенок периферических сосудов у больных артериальной гипертонией с подагрой / Б. А. Шелест // Терапевтический архив. – 2016. – Т. 88, N 5. – С. 43-46.
150. Шендеров, Б. А. Функциональное питание и его роль в профилактике метаболического синдрома / Б. А. Шендеров. – Москва : ДеЛи принт, 2008. – 319 с.
151. Шишкова, В. Н. Механизмы развития сердечно-сосудистых заболеваний при ожирении и инсулинорезистентности : фокус на атеротромботические осложнения / В.Н. Шишкова // Российский кардиологический журнал. – 2016. – N 9 (137). – С. 72–78.
152. Шляхто, Е. В. Эпидемиология метаболического синдрома в различных регионах. Зависимость от используемых критериев и прогностическое значение / Е. В Шляхто, А. О. Конради // Артериальная гипертензия. – 2007. – Т 13, N 2. – С. 95–112.
153. Эффекты эндотелина-1 в развитии и прогрессировании метаболического синдрома и других социально значимых неинфекционных заболеваний (обзор литературы) / Т. П. Голивец [и др.] // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия : Медицина. Фармация. – 2017. – N 19(268). – С. 5–19.
154. Юбицкая, Н. С. Нарушение эндотелийзависимой релаксации сосудов при метаболическом синдроме / Н. С. Юбицкая, М. В. Антонюк, Е. Г. Лобанова // CardioСоматика. – 2013. – Т. 4, N 3. – С. 23–25.

155. Яшин, Я. И. Лекарственные препараты, лекарственные растения и БАДы с антиоксидантной активностью / Я. И. Яшин, А. Н. Веденин, А. Я. Яшин // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2017. – Т. 17, N 3. – С. 496–505.
156. 6-week supplementation with grape pomace to subjects at cardiometabolic risk ameliorates insulin sensitivity, without affecting other metabolic syndrome markers / D. Martínez-Maqueda [et al.] // Food Funct. – 2018. – Vol.9 (11). – P. 6010–6019.
157. A 3-year intervention with a Mediterranean diet modified the association between the rs9939609 gene variant in FTO and body weight changes / C. Razquin [et al.] // Int. J. Obes. – 2010. – Vol. 34 (2). – P. 266 – 272.
158. A comprehensive investigation of variants in genes encoding adiponectin (ADIPOQ) and its receptors (ADIPOR1/R2), and their association with serum adiponectin, type 2 diabetes, insulin resistance and the metabolic syndrome / K. E. Peters [et al.] // BMC medical genetics. – 2013. – Vol.14. – P. 15.
159. A genetic analysis identifies haplotype at adiponectin locus: Association with the metabolic health and obesity phenotypes / X. Zhu [et al.] // Gene. – 2021. – Vol.784. – P. 145593.
160. A guide to understanding endoplasmic reticulum stress in metabolic disorders / I. L. Lemmer [et al.] // Molecular metabolism. – 2021. – Vol. 47. – P101169.
161. A low dose lipid infusion is sufficient to induce insulin resistance and a pro-inflammatory response in human subjects / H. Liang [et al.] // PLoS One. – 2018. – Vol.13 (4). – P. e0195810.
162. A polyphenol-rich fraction obtained from table grapes decreases adiposity, insulin resistance and markers of inflammation and impacts gut microbiota in high-fat-fed mice / B. Collins [et al.] // The Journal of nutritional biochemistry. – 2016. – Vol.31. – P. 150–165.
163. Abed, É. Beneficial effect of resveratrol on phenotypic features and activity of

- osteoarthritic osteoblasts / É. Abed, A. Delalandre, D. Lajeunesse // *Arthritis Res. Ther.* – 2017. – Vol.19 (1). – P.151.
164. Adipokines, Hepatokines and Myokines: Focus on Their Role and Molecular Mechanisms in Adipose Tissue Inflammation / Y. Ren [et al.] // *Frontiers in endocrinology.* – 2022. – Vol. 13. – P. 873699.
165. Adiponectin and Adiponectin Receptor Gene Variants in Relation to Type 2 Diabetes and Insulin Resistance-Related Phenotypes / V. A. Potapov [et al.] // *Rev. Diabet. Stud.* – 2008. – Vol. 5. – P. 28–37.
166. Adiponectin gene polymorphisms associated with diabetes mellitus: A descriptive review / M. Howlader [et al.] // *Heliyon.* – 2021. – Vol.7 (8). – P. e07851.
167. Adipophilin/perilipin-2 as a lipid droplet-specific marker for metabolically active cells and diseases associated with metabolic dysregulation / B. K. Straub [et al.] // *Histopathology.* – 2013. – Vol. 62, 4. – P. 617–31.
168. ADIPOQ polymorphisms are associated with insulin resistance in Japanese women / A. Kitamoto [et al.] // *Endocrine journal.* – 2015. – Vol. 62 (6). – P. 513–521.
169. ADIPOQ rs2241766 Gene Polymorphism and Predisposition to Diabetic Kidney Disease / Q. Han [et al.] // *Journal of diabetes research.* – 2020. – Vol. 2020. – P. 5158497.
170. ADIPOQ single nucleotide polymorphism: Association with adiponectin and lipoproteins levels restricted to men / L. V. Tureck [et al.] // *Meta Gene.* – 2015. – Vol.5. – P. 98–104.
171. ADIPOQ, ADIPOR1, and ADIPOR2 polymorphisms in relation to serum adiponectin levels and BMI in black and white women / S. S. Cohen [et al.] // *Obesity (Silver Spring, Md.).* –2011. – Vol.19 (10). – P. 2053–2062.
172. Adiposity, adipokines, and risk of incident stroke in older men / S. G.



- Wannamethee [et al.] // *Stroke*. – 2013. – Vol. 44(1). – P. 3–8.
173. Aerobic, resistance or combined training: A systematic review and meta-analysis of exercise to reduce cardiovascular risk in adults with metabolic syndrome / M. A. Wewege [et al.] // *Atherosclerosis*. – 2018. – Vol. 274. – P. 162–171.
174. AHR Signaling Interacting with Nutritional Factors Regulating the Expression of Markers in Vascular Inflammation and Atherogenesis / C. Dahlem [et al.] // *International journal of molecular sciences*. – 2020. – Vol. 21, N 21. – P. 8287.
175. Akaberi, M. Grapes (*Vitis vinifera*) as a Potential Candidate for the Therapy of the Metabolic Syndrome / M. Akaberi, H. Hosseinzadeh // *Phytotherapy research : PTR*. – 2016. – Vol.30 (4). – P. 540–556.
176. Al-Suhaimi, E. A. Leptin, resistin and visfatin : the missing link between endocrine metabolic disorders and immunity / E. A. Al-Suhaimi, A. Shehzad // *European journal of medical research*. – 2013. – Vol. 18(1). – P. 12.
177. An overview of diabetes research achievements during a quarter of a century in Diabetes Research Center / S. Esmaeili [et al.] // *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*[online]. – 2021. –P. 1–8. [cited 2022-23-11] –Available from: <https://www.researchgate.net/publication/348646730>
178. Analysis of phenolic compounds and antioxidant abilities of extracts from germinating *Vitis californica* seeds submitted to cold stress conditions and recovery after the stress / S. Weidner [et al.] // *International journal of molecular sciences*. – 2014. – Vol.15 (9). – P. 16211–16225.
179. Animal models of metabolic syndrome: a review / S. K. Wong [et al.] *Nutr. Metab. (Lond)*. – 2016. – Vol.13. – P. 65.
180. Antioxidant and Anti-Inflammatory Potential of Polyphenols Contained in Mediterranean Diet in Obesity: Molecular Mechanisms / A. Nani [et al.] // *Molecules*. – 2021. – Vol. 26. – P. 985.
181. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 56 vegetables / G. F. Deng

- [et al.] // *J. Funct. Food.* – 2013. – Vol. 5. – P. 260–266.
182. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 56 wild fruits from south China / L. Fu [et al.] // *Molecules.* – 2010. – Vol. 15. – P. 8602–8617.
183. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits / L. Fu [et al.] // *Food Chem.* 2011. – Vol. 129. – P. 345–350.
184. Antioxidant capacities, phenolic compounds and polysaccharide contents of 49 edible macro-fungi / Y. J. Guo [et al.] // *Food Funct.* – 2012. – Vol. 3. – P. 1195–1205.
185. Antiproliferative activity of peels, pulps and seeds of 61 fruits / F. Li [et al.] // *J. Funct. Food.* – 2013. – Vol. 5. – P. 1298–1309.
186. Association between +45T>G adiponectin polymorphism gene and type 2 diabetes mellitus and metabolic syndrome in a Venezuelan population / M. Sánchez [et al.] // *F1000Research.* – 2019. – Vol. 8. – P. 292.
187. Association between ADIPOQ +45T>G Polymorphism and Type 2 Diabetes: A Systematic Review and Meta-Analysis / Y. Fan [et al.] // *J. Mol. Sci.* – 2014. – Vol.16. – P. 704–723.
188. Association between adult and childhood socioeconomic status and prevalence of the metabolic syndrome in African Americans : the Pitt County Study / J. Lucove [et al.] // *American journal of public health.* – 2007. – Vol. 97, N2. – P.234–6.
189. Association between polymorphisms of *LEP*, *LEPR*, *DRD2*, *HTR2A* and *HTR2C* genes and risperidone- or clozapine-induced hyperglycemia / A. Puangpetch [et al.] // *Pharmgenomics Pers. Med.* – 2019. – Vol.12. – P.155–166.
190. Association of ADIPOQ polymorphisms with obesity risk: a meta-analysis / J. F. Lu [et al.] // *Hum. Immunol.* – 2014. – Vol.75 (10). – P.1062–1068.
191. Association of ADIPOQ, leptin, LEPR, and resistin polymorphisms with obesity parameters in Hammam Sousse Sahloul Heart Study / N. Zayani [et al.] // *J. Clin.*

- Lab. Anal. – 2017. – Vol.31 (6). – P.e22148.
192. Association of Candidate Gene Polymorphism with Metabolic Syndrome among Mongolian Subjects: A Case-Control Study / A. Chuluun-Erdene [et al.] // *Med. Sci.* – 2020. – Vol. 8. – P. 38.
193. Association of dietary patterns, anthropometric measurements, and metabolic parameters with C-reactive protein and neutrophil-to-lymphocyte ratio in middle-aged and older adults with metabolic syndrome in Taiwan : a cross-sectional study / A. Syauqy [et al.] // *Nutr. J.* – 2018. – Vol.17. – P.106.
194. Association of sustained supraphysiologic hyperinsulinemia and inflammatory signaling within the digital lamellae in light-breed horses / M. R. Watts [et al.] // *J. Vet. Intern. Med.* – 2019. – Vol.33 (3). – P. 1483–1492.
195. Association Study between Ghrelin Gene Polymorphism and Metabolic Syndrome in a Han Chinese Population / Y. You [et al.] // *Clin. Lab.* – 2017. – Vol. 63 (1). – P. 175–181.
196. Associations between ADIPOQ Polymorphisms and Coronary Artery Disease: A Meta-Analysis / X. Zhang [et al.] // *BMC Cardiovasc. Disord.* – 2019. – Vol.19. – P. 63.
197. Associations between obesity candidate gene polymorphisms (fat mass and obesity-associated (FTO), melanocortin-4 receptor (MC4R), leptin (LEP) and leptin receptor (LEPR)) and dietary intake in pregnant women / M. C. Martins [et al.] // *The British journal of nutrition.* – 2018. – Vol. 120, N 4. – P. 454–463.
198. Associations between two common single nucleotide polymorphisms (rs2241766 and rs1501299) of ADIPOQ gene and coronary artery disease in type 2 diabetic patients: a systematic review and meta-analysis / N. Zhao [et al.] // *Oncotarget.* – 2017. – Vol. 8, N 31. – P. 51994–52005.
199. Associations of ADIPOQ and LEP Gene Variants with Energy Intake: A Systematic Review / C. Kroll [et al.] // *Nutrients.* – 2019. – Vol.11 (4). – P. 750.

200. Atabek M. E. Reevaluation of the prevalence of metabolic syndrome in an urban area of Turkey / M. E. Atabek, B. S. Eklioğlu, N. Akyürek // Journal of clinical research in pediatric endocrinology. – 2013. – Vol. 5(1). – P. 50–54.
201. Bains, V. Association analysis of polymorphisms in LEP (rs7799039 and rs2167270) and LEPR (rs1137101) gene towards the development of type 2 diabetes in North Indian Punjabi population / V. Bains, H. Kaur, B. Badaruddoza // Gene. – 2020. – Vol.754. – P. 144846.
202. Beneficial Role of Phytochemicals on Oxidative Stress and Age-Related Diseases / C. Forni [et al.] // BioMed research international [online]. – 2019.– Vol.2019 8748253 [cited 2022-23-11] – Available from:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6475554/>
203. Bioactive stilbenes from *Vitis vinifera* grapevine shoot extracts / N. Chaher [et al.] // Journal of the science of food and agriculture. –2014. – Vol. 94 (5). – P. 951–954.
204. Bioavailability and pharmacokinetic profile of grape pomace phenolic compounds in humans / F. Castello [et al.] // Archives of biochemistry and biophysics. – 2018. – Vol. 646. – P. 1–9.
205. Bioluminescence assays : effects of quinones and phenols / N. Kudryasheva [et al.] // Ecotoxicol. Environ. Saf. – 2002. – Vol. 53(3). – P. 198–203.
206. Boyanapalli, S. S. S. “Curcumin, the king of spices”: epigenetic regulatory mechanisms in the prevention of cancer, neurological, and inflammatory diseases / S. S. S. Boyanapalli, A. N. T. Kong // Curr. Pharmacol. Rep. – 2015. – Vol.1. – P. 129–139.
207. Brown, L. Functional foods as potential therapeutic options for metabolic syndrome / L. Brown, H. Poudyal, S. K. Panchal // Obesity reviews: an official journal of the International Association for the Study of Obesity. – 2015. – Vol.16 (11). – P. 914–941.

208. Calixto, J. B. The role of natural products in modern drug discovery / J. B. Calixto // *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*. – 2019. – Vol.91. – P. e20190105.
209. Cano Rodríguez, I. Alternative therapies in diabetes. Terapias alternativas en diabetes / I. Cano Rodríguez, M. D. Ballesteros Pomar // *Endocrinologia, diabetes y nutricion*. – 2018. – Vol.65 (4). – P.189–191.
210. Capakova, Z. Effects of polyphenols on cell viability of selected varieties of grapes berries and pomace / Z. Capakova, P. Humpolicek, J. Mlcek // *Acta Scientiarum Polonorum. Hortorum Cultus*. – 2018. – Vol. 17, N 2. – P. 115–121.
211. Cardiovascular diseases and vital exhaustion: longitudinal study in Russia/Siberia (WHO MONICA - psychosocial program) / V. Gafarov, M. Voevoda, E. Gromova [et al.] // *Russian Journal of Cardiology*. – 2016. – Vol. 21, N S4. – P. 115–123.
212. Casassa, L. F. Extraction, evolution, and sensory impact of phenolic compounds during red wine maceration / L. F. Casassa, J. F. Harbertson // *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* – 2014. – Vol. 5. – P. 83–109.
213. Catrysse, L. Inflammation and the Metabolic Syndrome: The Tissue-Specific Functions of NF- $\kappa$ B/ L. Catrysse, G. van Loo // *Trends Cell Biol.* – 2017. – Vol.27 (6). – P. 417–429.
214. Chait, A. Adipose Tissue Distribution, Inflammation and Its Metabolic Consequences, Including Diabetes and Cardiovascular Disease / A. Chait, L. J. den Hartigh // *Frontiers in cardiovascular medicine*. – 2020. – Vol.7. – P. 22.
215. Characterization of polyphenols and evaluation of antioxidant capacity in grape pomace of the cv. Malbec / A. Antonioli [et al.] // *Food chemistry*. – 2015. – Vol. 178. – P.172–178.
216. Cocoa and Grape Seed Byproducts as a Source of Antioxidant and Anti-Inflammatory Proanthocyanidins / M. L. Cádiz-Gurrea [et al.] // *International*

- journal of molecular sciences. – 2017. – Vol.18 (2). – P.376.
217. Collins, T. J. Image J for microscopy / T. J Collins // *Biotechniques*. – 2007. – Vol.43 (1). – P.25–30.
218. Common variants in genes encoding adiponectin (ADIPOQ) and its receptors (ADIPOR1/2), adiponectin concentrations, and diabetes incidence in the Diabetes Prevention Program / K. J. Mather [et al.] // *Diabetic medicine: a journal of the British Diabetic Association*. – 2012. – Vol.29 (12). – P. 1579–1588.
219. Complementary and Alternative Medicine for Diabetes / Diabetes Canada Clinical Practice Guidelines Expert Committee, L. D. Grossman, R. Roscoe, A. R. Shack // *Canadian journal of diabetes*. – 2018 – Vol. 42 (1). – P.154–S161.
220. Correlation between serum leptin and its gene expression to the anthropometric measures in overweight and obese children / M. K. Eldosouky [et al.] // *Cell Mol. Biol. (Noisy-le-grand)*. – 2018. – Vol. 64(1). – P. 84–90.
221. Cyanidin-3-glucoside derived from black soybeans ameliorates type 2 diabetes through the induction of differentiation of preadipocytes into smaller and insulin-sensitive adipocytes / T. Matsukawa [et al.] // *J. Nutr. Biochem*. – 2015. – Vol. 26 (8). – P.860–867.
222. Cyanidin-3-O- $\beta$ -glucoside and protocatechuic acid exert insulin-like effects by upregulating PPAR $\gamma$  activity in human omental adipocytes / B. Scazzocchio [et al.] // *Diabetes*. – 2011. – Vol.60 (9). – P. 2234–2244.
223. DHA reduces hypothalamic inflammation and improves central leptin signaling in mice / L. Cheng [et al.] // *Life Sci*. – 2020. – Vol. 257. – P.118036.
224. Diabetes mellitus-associated vascular impairment: novel circulating biomarkers and therapeutic approaches / D. Tousoulis [et al.] // *J. Am. Col. Cardiol*. – 2013. – Vol. 62 (8). – P. 667–676.
225. Diagnosis and Management of the Metabolic Syndrome: An American Heart Association /National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement / S. M.

- Grundy [et al.] // *Circulation*. – 2005. – Vol.112. – P. 2735–2752.
226. Dietary Flavonoids: Cardioprotective Potential with Antioxidant Effects and Their Pharmacokinetic, Toxicological and Therapeutic Concerns / J. Khan [et al.] // *Molecules (Basel, Switzerland)*. – 2021. – Vol. 26(13). – P. 4021.
227. Dietary Strategies Implicated in the Prevention and Treatment of Metabolic Syndrome / R. De la Iglesia [et al.] // *International journal of molecular sciences*. – 2016. – Vol. 17(11). – P. 1877.
228. Do grape polyphenols improve metabolic syndrome components? A systematic review / J. Woerdeman [et al.] // *Eur. J. Clin. Nutr.* – 2017. – Vol. 71(12). – P. 1381–1392.
229. Dyslipidemia in Mexico, a Call for Action / B. Rivas-Gomez [et al.] // *Revista de investigacion clinica; organo del Hospital de Enfermedades de la Nutricion*. – 2018. – Vol. 70, N 5. – P. 211–216.
230. Early endocrine and molecular changes in metabolic syndrome models / C. Larqué [et al.] // *IUBMB Life*. – 2011. – Vol.63 (10). – P. 831–839.
231. Effect of dietary energy and polymorphisms in BRAP and GHRL on obesity and metabolic traits / T. Imaizumi [et al.] // *Obes. Res. Clin. Pract.* – 2018. – Vol. 12. – P. 39–48.
232. Effects of acute intake of grape/pomegranate pomace dietary supplement on glucose metabolism and oxidative stress in adults with abdominal obesity / I.F. Pérez-Ramírez [et al.] // *Int. J. Food Sci. Nutr.* – 2020. – Vol. 71(1). – P. 94–105.
233. Effects of resveratrol in patients with type 2 diabetes mellitus on skeletal muscle SIRT1 expression and energy expenditure / K. P. Goh [et al.] // *Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab.* – 2014. – Vol.24 (1). – P. 2–13.
234. Epigenetics and Epigenomics: Implications for Diabetes and Obesity / E. D. Rosen [et al.] // *Diabetes*. – 2018. – Vol.67 (10). – P. 1923–1931.

235. Esmaili, S. Physiological role of adiponectin in different tissues: a review / S. Esmaili, M. Hemmati, M.Karamian // Arch. Physiol. Biochem. – 2020. – Vol. 126(1). – P. 67–73.
236. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). Frequency of the WHO metabolic syndrome in European cohorts, and an alternative definition of an insulin resistance syndrome / B. Balkau [et al.] // Diabetes Metab. – 2002. – Vol. 28. – P. 364–76.
237. Evaluation of Agraz Consumption on Adipocytokines, Inflammation, and Oxidative Stress Markers in Women with Metabolic Syndrome / J. Espinosa-Moncada [et al.] // Nutrients. – 2018. – Vol.10 (11). – P. 1639.
238. Expert Panel on Detection, Evaluation and T of HBC in A. Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) // JAMA J. Am. Med. Assoc. – 2001. – Vol. 285 (19). – P. 2486–2497.
239. Faller, A. L. K. Polyphenol content and antioxidant capacity in organic and conventional plant foods / A. L. K. Faller, E. F. N. U. Fialho // J. Food Compos. Anal. – 2010. – Vol. 23. – P. 561–568.
240. Fang, H. Adiponectin Regulation and Function / H. Fang, R. L. Judd // Compr. Physiol. – 2018. – Vol.8 (3). – P. 1031–1063.
241. Fatty Acid–Stimulated Insulin Secretion vs. Lipotoxicity / P. Ježek [et al.] // Molecules (Basel, Switzerland). – 2018. – Vol.23 (6). – P. 1483.
242. Fitzgerald, M. Medicinal Plant Analysis: A Historical and Regional Discussion of Emergent Complex Techniques / M. Fitzgerald, M. Heinrich, A. Booker // Frontiers in pharmacology. – 2020. – Vol.10. – P. 1480.
243. Flavanol plasma bioavailability is affected by metabolic syndrome in rats / M. Margalef [et al.] // Food Chem. – 2017. – Vol. 231. – P. 287–294.



244. Fontana, A. R. Grape pomace as a sustainable source of bioactive compounds: extraction, characterization, and biotechnological applications of phenolics / A. R. Fontana, A. Antonioli, R. Bottini // *Journal of agricultural and food chemistry*. – 2013. – Vol.61 (38). – P. 8987–9003.
245. For the Study of Health Assessment and Risk in Ethnic Groups: Study of Health Assessment and Risk Evaluation in Aboriginal Peoples Investigators. Relationship of metabolic syndrome and fibrinolytic dysfunction to cardiovascular disease / S. S. Anand [et al.] // *Circulation*. – 2003. – Vol. 108. – P. 420–425.
246. Fragopoulou, E. The French Paradox three decades later: Role of inflammation and thrombosis / E. Fragopoulou, S. Antonopoulou // *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry* [online]. – 2020. – S0009–8981(20)30329–6. [cited 2022-18-08] – Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cca.2020.07.013>
247. Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: importance in human health and disease prevention / D. Bagchi [et al.] // *Toxicology*. – 2000. – Vol. 148. – P. 187–197.
248. Functional Foods : Product Development, Technological Trends, Efficacy Testing, and Safety / D. Granato [et al.] // *Annual review of food science and technology*. – 2020. – Vol. 11. – P. 93–118.
249. Gallic acid regulates adipocyte hypertrophy and suppresses inflammatory gene expression induced by the paracrine interaction between adipocytes and macrophages in vitro and in vivo / M. Tanaka [et al.] // *Nutr. Res.* – 2020. – Vol. 73. – P. 58–66.
250. Gender-specific associations between ADIPOQ gene polymorphisms and adiponectin levels and obesity in the Jackson Heart Study cohort / P. Riestra [et al.] // *BMC Med. Genet.* – 2015. – Vol. 16. – P. 65.
251. Genetic association of ADIPOQ gene variants (–3971A>G and +276G>T) with

- obesity and metabolic syndrome in North Indian Punjabi population / H. Kaur [et al.] // PloS one. – 2018. – Vol.13 (9). – P. e0204502.
252. Genetic polymorphisms associated with overweight and obesity in uncontrolled Type 2 diabetes mellitus / N. B. Kasim [et al.] // Biomarkers in medicine. – 2016. – Vol.10 (4). – P. 403–415.
253. Genetic polymorphisms in adipokine genes and the risk of obesity: a systematic review and meta-analysis / Z. Yu [et al.] // Obesity (Silver Spring). – 2012. – Vol. 20 (2). – P. 396–406.
254. Genetic Studies of Metabolic Syndrome in Arab Populations: A Systematic Review and Meta-Analysis / Z. Al-Homedi [et al.] // Front. Genet. – 2021. – Vol. 12. – P. 733746.
255. Genetic variant of AMD1 is associated with obesity in urban Indian children / R. Tabassum [et al.] // PloS one. – 2012. – Vol.7 (4). – P. e33162.
256. Genetic variants of adiponectin receptor 2 are associated with increased adiponectin levels and decreased triglyceride /VLDL levels in patients with metabolic syndrome / U. C. Broedl [et al.] // Cardiovasc. Diabetol. – 2006. – Vol. 5. – P.11.
257. Genetic Variation in Adiponectin Receptor 1 and Adiponectin Receptor 2 Is Associated With Type 2 Diabetes in the Old Order Amish / M. Damcott Coleen [et al.] // Diabetes. – 2005. – Vol. 54 (7). – P. 2245–2250.
258. Genetic variations of leptin and leptin receptor are associated with body composition changes in response to physical training / Antti J.L Huuskonen [et al.] // Cell Biochemistry and Function. –2010. – Vol.28 (4). – P. 306–312.
259. Genetics of Severe Obesity / U. Fairbrother [et al.] // Curr. Diab. Rep. – 2018. – Vol.18 (10). – P.85.
260. Georgiev, V. Recent advances and uses of grape flavonoids as nutraceuticals / V. Georgiev, A. Ananga, V.Tsolova // Nutrients. – 2014. – Vol.6 (1). – P.391 – 415.

261. Ghoshal, K. Adiponectin: probe of the molecular paradigm associating diabetes and obesity / K. Ghoshal, M. Bhattacharyya // *World J. Diabetes.* – 2015. – Vol. 6(1). – P. 151–166.
262. Giovinazzo, G. Functional Properties of Grape and Wine Polyphenols / G. Giovinazzo, F. Grieco // *Plant foods for human nutrition (Dordrecht, Netherlands).* – 2015. – Vol. 70(4). – P. 454–462.
263. Gliniak, C. M. A new signal that shrinks fat / C. M. Gliniak, P. E. Scherer // *Nat. Metab.* – 2022. – Vol.4. – P. 305–307.
264. Grape polyphenols reduce gut-localized reactive oxygen species associated with the development of metabolic syndrome in mice / P. Kuhn [et al.] // *PLoS One.* – 2018. – Vol.13 (10). – P. e0198716.
265. Grapevine (*Vitis vinifera* L.) / L. Torregrosa [et al.] // *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.).* – 2015. – Vol.1224. – P. 177–194.
266. Grasso, P. Novel approaches to the treatment of obesity and type 2 diabetes mellitus: bioactive leptin-related synthetic peptide analogs / P. Grasso // *Recent Pat. Endocr. Metab. Immune Drug Discov.* – 2011. – Vol.5 (3). – P. 163–75.
267. Griffin, Michael J. On the Immunometabolic Role of NF- $\kappa$ B in Adipocytes / Michael J. Griffin // *Immunometabolism.* – 2022. – Vol. 4, N 1. – P. e220003.
268. Guo, S. Insulin signaling, resistance, and the metabolic syndrome: insights from mouse models into disease mechanisms / S. Guo // *The Journal of endocrinology.* – 2014. – Vol. 220 (2). – P. T1–T23.
269. Han, L. PPARs : regulators of metabolism and as therapeutic targets in cardiovascular disease. Part II: PPAR- $\beta/\delta$  and PPAR- $\gamma$  / L. Han, W.-J. Shen, S. Bittner // *Future Cardiol.* – 2017. – Vol. 13 (3). – P. 279–296.
270. He, Y. F. Tangeritin inhibits adipogenesis by down-regulating C/EBP $\alpha$ , C/EBP $\beta$ , and PPAR $\gamma$  expression in 3T3-L1 fat cells / Y. F. He, F. Y. Liu, W. X. Zhang // *Genetics and Molecular Research.* – 2015. – Vol. 14, N 4. – P. 13642–

- 13648.
271. Hesperetin glucuronides induce adipocyte differentiation via activation and expression of peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  / K. H. Gamo [et al.] // *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. –2014. – Vol. 78, N 6. – P. 1052–1059.
272. High-Density Lipoprotein Reduction Differentially Modulates to Classical and Nonclassical Monocyte Subpopulations in Metabolic Syndrome Patients and in LPS-Stimulated Primary Human Monocytes In Vitro / J. L. Grün [et al.] // *Journal of immunology research*. – 2018.– Vol. 2018. – P. 2737040.
273. Hills, S. DIAMAP: a road map for diabetes research in Europe / S. Hills, P. A. Halban // *Journal of diabetes science and technology*. – 2011. – Vol. 5 (3). – P. 794–797.
274. Hopps, E. Matrix metalloproteases as a pharmacological target in cardiovascular diseases / E. Hopps, G. Caimi // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci*. – 2015. – Vol. 19 (14). – P. 2583–2589.
275. Hubrecht, R. C. The 3Rs and Humane Experimental Technique: Implementing Change / R. C. Hubrecht, E. Carter // *Animals: an open access journal from MDPI*. – 2019. – Vol.9 (10). – P. 754.
276. Hussey, S. E. TAK-242, a small-molecule inhibitor of Toll-like receptor 4 signalling, unveils similarities and differences in lipopolysaccharide- and lipid-induced inflammation and insulin resistance in muscle cells / S. E. Hussey [et al.] // *Biosci. Rep*. – 2013. – Vol. 33(1). – P. 37–47.
277. Identification of the flavonoid luteolin as a repressor of the transcription factor hepatocyte nuclear factor 4 $\alpha$  / J. Li [et al.] // *J. Biol. Chem*. – 2015. – Vol. 290. – P. 24021–24035.
278. Impact of age and gender on the prevalence and prognostic importance of the metabolic syndrome and its components in Europeans. The MORGAM Prospective

- Cohort Project / J. K. Vishram [et al.] // PloS one. – 2014. – Vol.9 (9). – P. e107294.
279. Important Flavonoids and Their Role as a Therapeutic Agent / A. Ullah [et al.] // Molecules. – 2020. – Vol.25 (22). – P. 243.
280. Increased toll-like receptor activity in patients with metabolic syndrome / I. Jialal [et al.] // Diabetes Care. – 2012. – Vol. 35(4). – P. 900–904.
281. Influence of dietary saturated fat content on adiposity, macrophage behavior, inflammation, and metabolism: composition matters / R.T. Enos [et al.] // J. Lipid Res. – 2013. – Vol.54 (1). – P. 152–163.
282. Influence of Grape Seeds and Stems on Wine Composition and Astringency / O. Pascual [et al.] // Journal of agricultural and food chemistry. – 2016. – Vol. 64(34). – P. 6555–6566.
283. Insulin Signaling and Insulin Resistance Facilitate Trained Immunity in Macrophages Through Metabolic and Epigenetic Changes / E. Ieronymaki [et al.] // Front. Immunol. – 2019. – Vol. 10. – P. 1330.
284. Integrating adipocyte insulin signaling and metabolism in the multi-omics era / C. M. Calejman [et al.] // Trends in biochemical sciences. – 2022. – Vol. 47, N6. – P. 531–546.
285. International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; International Association for the Study of Obesity. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity / K.G. Alberti [et al.] // Circulation. – 2009. – Vol. 120, N 16. – P. 1640–1645.
286. Jonker, A. The Occurrence, Biosynthesis, and Molecular Structure of

- Proanthocyanidins and Their Effects on Legume Forage Protein Precipitation, Digestion and Absorption in the Ruminant Digestive Tract / A. Jonker, P. Yu // International journal of molecular sciences. – 2017. – Vol.18 (5). – P. 1105.
287. Kaminsky, D. 5-Ene-4-thiazolidinones - An efficient tool in medicinal chemistry / D. Kaminsky, A. Kryshchyshyn, R. Lesyk // European journal of medicinal chemistry – 2017. – Vol. 140. – P. 542–594.
288. Kanmani, S. Association of C–Reactive Protein with Risk of Developing Type 2 Diabetes Mellitus, and Role of Obesity and Hypertension: A Large Population–Based Korean Cohort Study / S. Kanmani // Sci. Rep. – 2019. – Vol. 9(1). – P. 4573.
289. Kim, B. Insulin resistance as a key link for the increased risk of cognitive impairment in the metabolic syndrome / B. Kim, E. L. Feldman // Experimental & molecular medicine. – 2015. – Vol. 47(3). – P.e149.
290. Kingston, D. G. Modern natural products drug discovery and its relevance to biodiversity conservation / D. G. Kingston // J. Nat. Prod. – 2011. – Vol. 74. – P. 496–511.
291. Knockdown of NYGGF4 increases glucose transport in C2C12 mice skeletal myocytes by activation IRS–1/PI3K/AKT insulin pathway / X. Q. Zeng [et al.] // J. Bioenerg. Biomembr. – 2012. – Vol.44 (3). – P. 351–355.
292. Kohan, L. Biochemistry: p–9: g–2548a Polymorphism of the leptin gene and type 2 diabetes mellitus risk / L. Kohan, N. Nourouzi // Cell journal (Yakhteh), 12 (supplement one (the 1st international student congress on cell and molecular medicine) [online]. – 2011. – P. 43–43. [cited 2022-08-24] –Available from: <https://www.sid.ir/En/Journal/ViewPaper.aspx?ID=188473>
293. Krga, I. Anthocyanins: From Sources and Bioavailability to Cardiovascular–Health Benefits and Molecular Mechanisms of Action / I. Krga, D. Milenkovic // Journal of agricultural and food chemistry. – 2019. – Vol.67 (7). – P. 1771–1783.
294. L–Arginine Modulates Glucose and Lipid Metabolism in Obesity and Diabetes

- / S. Hu [et al.] // *Curr Protein Pept Sci.* – 2017. – Vol.18 (6). – P. 599–608.
295. Latruffe, N. Strategic Syntheses of Vine and Wine Resveratrol Derivatives to Explore their Effects on Cell Functions and Dysfunctions / N. Latruffe, D. Vervandier–Fasseur // *Diseases.* – 2018. – Vol.6 (4). – P. 110.
296. LEP –2548G>A Polymorphism of the Leptin Gene and Its Influence on the Lipid Profile in Obese Individuals / M. A. Ferreira-Julio [et al.] // *Journal of nutrigenetics and nutrigenomics.* – 2015. – Vol. 7. – P. 223–229.
297. Leptin G–2548A and leptin receptor Q223R gene polymorphisms are not associated with obesity in Romanian subjects / G. C. Alina Constantin [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2010. – Vol. 391. – P. 282–286.
298. Leptin Gene G2548A Polymorphism among Mongolians with Metabolic Syndrome / B. Dagdan [et al.] // *M. Med Sci. (Basel).* – 2018. – Vol.7 (1). – P. 3.
299. Leptin gene polymorphism (rs7799039; G2548A) is associated with changes in serum lipid concentrations during pregnancy: a prospective cohort study / D. R. Farias [et al.] // *European journal of nutrition.* – 2020. – Vol. 59. – P. 1999–2009.
300. Leptin receptor gene Gln223Arg polymorphism is not associated with obesity and metabolic syndrome in Turkish children / Z. D. F. Komşu-Ornek [et al.] // *Turk J. Pediatr.* – 2012. – Vol.54 (1). – P. 20–4.
301. Li, L. Grape and wine polymeric polyphenols: Their importance in enology / L. Li, B. Sun // *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* – 2019. – Vol.59 (4). – P. 563–579.
302. Link between Metabolic Syndrome and Insulin Resistance / Z. Gluvic [et al.] // *Curr. Vasc. Pharmacol.* – 2017. – Vol.15 (1). – P. 30–39.
303. Lipolysis: cellular mechanisms for lipid mobilization from fat stores / G. F. Grabner [et al.] // *Nature metabolism.* – 2021. – Vol. 3, N 11. – P. 1445–1465.
304. Mamedov, M. N. International Diabetes Federation Consensus on Definition of the Metabolic Syndrome: Facts and Comments / M.N. Mamedov // *Rational*

- Pharmacotherapy in Cardiology. – 2009. – Vol. 5(6). – P. 47–50.
305. Marbou, W. Prevalence of Metabolic Syndrome and Its Components in Bamboutos Division's Adults, West Region of Cameroon / W. Marbou, V. Kuete // *BioMed research international* [online]. – 2019. – Vol. 9676984. [cited 2022-23-11] –Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6515192/>
306. Marinangeli, C. P. Functional food ingredients as adjunctive therapies to pharmacotherapy for treating disorders of metabolic syndrome / C. P. Marinangeli, P. J. Jones // *Annals of medicine*. – 2010. – Vol.42 (5). – P. 317–333.
307. Measurement of the levels of leptin, BDNF associated with polymorphisms LEP G2548A, LEPR Gln223Arg and BDNF Val66Met in Thai with metabolic syndrome / K. Suriyaprom [et al.] // *Diabetology & metabolic syndrome*. – 2014. – Vol. 6, N 1. – P. 6.
308. Metabolic consequences of a family history of NIDDM (the Botnia study): evidence for sex-specific parental effects / L. Groop [et al.] // *Diabetes*. – 1996. – Vol. 45 (11). – P.1585–1593.
309. Metabolic syndrome among a middle-aged population in the Red River Delta region of Vietnam / T. Q. Binh [et al.] // *BMC endocrine disorders*. – 2014. – Vol.14. – P. 77.
310. Metabolic Syndrome and 10-Year Cardiovascular Disease Risk in the Hoorn Study / M. Dekker [et al.] // *Circulation*. – 2005. – Vol.112. – P. 666–673.
311. Metabolic syndrome prevalence and its risk factors among adults in China: A nationally representative cross-sectional study / Y. Li [et al.] // *PloS one*. – 2018. – Vol.13 (6). – P. e0199293.
312. Metabolic syndrome prevalence in a multicultural population in Auckland, New Zealand / D. Gentles [et al.] // *N. Z. Med. J.* – 2007. – Vol.120 (1248). – P. U2399.
313. Metabolic syndrome signs in Wistar rats submitted to different high-fructose ingestion protocols / R. De Moura [et al.] // *The British journal of nutrition*. – 2009.



- Vol.101 (8). – P .1178–1184.
314. Metformin effectively restores the HPA axis function in diet–induced obese rats / A. C. Shin [et al.] // *Int. J. Obes. (Lond)*. – 2021. – Vol. 45(2). – P. 383–395.
315. Ministry of Health, Labor and Welfare of Japan: A summary of the National Nutritional and Health Survey of 2016. [Cited 2019-04-02]. – Available from: <https://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/eiyou/dl/h28-houkoku.pdf>.
316. Mishra, B. B. Natural products: An evolving role in future drug discovery / B. B. Mishra, V. K. Tiwari // *Eur. J. Med. Chem.* – 2011. – Vol. 46. – P. 4769–4807.
317. Modification effect of sex and obesity on the correlation of LEP polymorphisms with leptin levels in Taiwanese obese women / D. M. Duan [et al.] // *Mol. Genet. Genomic Med.* – 2020. – Vol.8 (3). – P .e1113.
318. Modulation of Adipogenesis and Oxidative Status by Quercetin and Ochratoxin A: Positive or Negative Impact on Rat Adipocyte Metabolism? / V. Dobrocsyova [et al.] // *Molecules (Basel, Switzerland)*. – 2019. – Vol. 24, N 20. – P. 3726.
319. Modulation of PPAR Expression and Activity in Response to Polyphenolic Compounds in High Fat Diets / J. A. Domínguez-Avila [et al.] // *International journal of molecular sciences*. –2016. – Vol.17 (7). – P. 1002.
320. Molecular Mechanisms of Adipogenesis: The Anti-adipogenic Role of AMP-Activated Protein Kinase / B. Ahmad [et al.] // *Frontiers in molecular biosciences*. – 2020. – P. 7–76. [cited 2022-18-08]  
Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmolb.2020.00076/full>
321. Molecular mechanisms of cardioprotection by a novel grape seed proanthocyanidin extract / D. Bagchi [et al.] // *Mutat. Res.* – 2003. – Vol. 523. – P. 87–97.
322. Morabia, A. The Obesity Epidemic as Harbinger of a Metabolic Disorder Epidemic: Trends in Overweight, hypercholesterolemia, and Diabetes treatment in Geneva, Switzerland, 1993-2003 / A. Morabia, M. C. Costanza // *Am. J. Public Health*. – 2005. – Vol. 95. – P. 632–635.

323. Moseti, D. Molecular Regulation of Adipogenesis and Potential Anti-Adipogenic Bioactive Molecules / D. Moseti, A. Regassa, W. K. Kim // International journal of molecular sciences. – 2016. – Vol.17 (1). – P. 124.
324. NAD<sup>+</sup> metabolism and its roles in cellular processes during ageing / A.J. Covarrubias [et al.] // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. – 2021. – Vol. 22 (2). – P. 119–141.
325. Natural Antioxidants in Foods and Medicinal Plants: Extraction, Assessment and Resources / D. P. Xu [et al.] // International journal of molecular sciences. – 2017. – Vol.18 (1). – P. 96.
326. New insight into adiponectin role in obesity and obesity-related diseases / E. Nigro [et al.] // BioMed research international. – 2014. – Vol.658913. –P.
327. Nutrigenetics and nutrigenomics insights into diabetes etiopathogenesis / G. Berná [et al.] // Nutrients. – 2014. – Vol.6 (11). – P. 5338–5369.
328. Nutrigenomic Functions of PPARs in Obesogenic Environments / S. Chung [et al.] // PPAR research. – 2016. – P. 1687–4757. [cited 2022-23-11] –Available from: <https://www.hindawi.com/journals/ppar/2016/4794576/>
329. Nutrigenomics in Regulating the Expression of Genes Related to Type 2 Diabetes Mellitus / K. Felisbino [et al.] // Front Physiol. – 2021. – Vol.12. – P. 699220.
330. Obesity and other health determinants across Europe : the EURALIM project / S. Beer-Borst [et al.] // J Epidemiol Community Health. – 2000. – Vol.54 (6). – P. 424–430.
331. Oral Gallic acid improves metabolic profile by modulating SIRT1 expression in obese mice brown adipose tissue: A molecular and bioinformatics approach / A. F. Paraíso [et al.] // Life Sci. – 2019. – Vol. 237. – P. 116914.
332. Oxidative status imbalance in patients with metabolic syndrome: role of the myeloperoxidase / hydrogen peroxide axis / L. J. da Fonseca [et al.] // Oxid. Med. Cell Longev. – 2014. [cited 2022-08-18] – Available from:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4216703/>

333. Oxidative Stress Induces Expression of the Toll–Like Receptors (TLRs) 2 and 4 in the Human Peripheral Blood Mononuclear Cells: Implications for Metabolic Inflammation / N. Akhter [et al.] // *Cell Physiol. Biochem.* – 2019. – Vol.53 (1). – P. 1–18.
334. Pahwa, R. Toll–like receptors 2 and 4 mediate hyperglycemia induced macrovascular aortic endothelial cell inflammation and perturbation of the endothelial glycocalyx / R. Pahwa, P. Nallasamy, I. Jialal // *Journal of diabetes and its complications* . – 2016. – Vol.30 (4). – P. 563–572.
335. Palmitate induces DNA damage and senescence in human adipocytes in vitro that can be alleviated by oleic acid but not inorganic nitrate / A. Ishaq [et al.] // *Experimental gerontology.* – 2022. – Vol. 163. – P. 111798.
336. Palmitate induces endoplasmic reticulum stress and autophagy in mature adipocytes: implications for apoptosis and inflammation / J. Yin [et al.] // *Int. J. Mol. Med.* – 2015. – Vol.35. – P. 932–940.
337. Park, E. J. The pharmacology of resveratrol in animals and humans / E. J. Park, J. M. Pezzuto // *Biochimica et biophysica acta.* – 2015. – Vol.1852 (6). – P. 1071–1113.
338. Perez–Gregorio, R. A Critical Review of Bioactive Food Components, and of their Functional Mechanisms, Biological Effects and Health Outcomes / R. Perez–Gregorio, J. Simal–Gandara // *Current pharmaceutical design.* – 2017. – Vol. 23 (19). – P. 2731–2741.
339. Petersen, M. C. Mechanisms of Insulin Action and Insulin Resistance / M. C. Petersen, G. I. Shulman // *Physiological reviews.* – 2018. – Vol. 98 (4). – P. 2133–2223.
340. Plant phenolics as functional food ingredients / C. Santos-Buelga [et al] // *Advances in food and nutrition research.* – 2019. – Vol. 90. – P. 183–257.

341. Plant polyphenols mechanisms of action on insulin resistance and against the loss of pancreatic beta cells / C. Papuc [et al.] // *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* – 2022. – Vol. 62. – P. 1040 – 8398.
342. Plasma Content of Glucose, C–reactive Protein, Uric Acid and Cholesterol in Male, Female and Ovariectomized Rats upon Acute and Chronic Stress—a Path for Development of Cardiovascular Diseases / M. Balog [et al.] // *Coll. Antropol.* – 2015. – Vol. 39 (2). – P. 385–392.
343. Polimorfizm (-2548G/A) genu leptyny u kobiet z nadciśnieniem ciazowym oraz preeklampsja” [The (-2548G/A) polymorphism of leptin gene in women with gestational hypertension and preeclampsia] / K. Drews [et al.] // *Ginekologia polska.* – 2008. – Vol. 79, N 5. – P. 358 – 63.
344. Polymorphism of human leptin receptor gene is associated with type 2 diabetic patients complicated with non–alcoholic fatty liver disease in China / H. Lu [et al.] // *Journal of gastroenterology and hepatology.* – 2018. – Vol. 24. – P. 228–232.
345. Polymorphisms in the leptin (rs7799039) gene are associated with an increased risk of excessive gestational weight gain but not with leptin concentration during pregnancy / M. C. Martins [et al.] // *Nutr. Res.* – 2017. – Vol. 47. – P. 53–62.
346. Polyphenols of red grape wines and alcohol–free food concentrates in rehabilitation technologies / A. Kubyshkin [et al.] – POLYPHENOLS Open access peer-reviewed edited volume. – London: IntechOpen, 2018. – P. 99–120. – ISBN: 978-1-78923-425-1
347. Polyphenols : Extraction Methods, Antioxidative Action, Bioavailability and Anticarcinogenic Effects / Mojzer E. Brglez [et al.] // *Molecules* (Basel, Switzerland). – 2016. – Vol. 21 (7). – P. 901.
348. Potential of fruit wastes as natural resources of bioactive compounds / G. F. Deng [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2012. – Vol. 13. – P. 8308–8323.
349. PPARG and ADIPOQ gene polymorphisms increase type 2 diabetes mellitus

- risk in Asian Indian Sikhs: Pro12Ala remains as the strongest predictor / D. K. Sanghera [et al.] // *Metabolism : clinical and experimental*. – 2010. – Vol.59 (4). – P. 492–501.
350. PPAR $\gamma$  signaling and metabolism: the good, the bad and the future / M. Ahmadian [et al.] // *Nat. Med.* – 2013. – Vol.19 (5). – P. 557–566.
351. Prevalence and determinants of metabolic syndrome in Qatar: results from a National Health Survey / M. H. Al-Thani [et al.] // *BMJ open*. – 2016. – Vol. 6(9). – P. e009514.
352. Prevalence and factors associated with metabolic syndrome in an urban population of adults living with HIV in Nairobi, Kenya / C. N. Kiama [et al.] // *The Pan African medical journal*. – 2018. – Vol. 29. – P. 90.
353. Prevalence and trends of metabolic syndrome among adults in the asia–pacific region: a systematic review / P. Ranasinghe [et al.] // *BMC public health*. – 2017. – Vol.17 (1). – P. 101.
354. Prevalence of Metabolic Syndrome and Nonalcoholic Fatty Liver Disease among Premenopausal and Postmenopausal Women in Ho Municipality: A Cross–Sectional Study / A. M. Setroame [et al.] // *BioMed research international*. – 2020. – P. 2314–6133. [cited 2022-18-08]  
Available from: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2020/2168381/>
355. Prevalence of metabolic syndrome in Bangladesh: a systematic review and meta–analysis of the studies / M. Chowdhury [et al.] // *BMC public health*. – 2018. – Vol.18 (1). – P. 308.
356. Prevalence of metabolic syndrome in Iran: A meta-analysis / R. Ostovar [et al.] // *Electronic physician*. – 2017. – Vol. 9 (10). – P. 5402–5418.
357. Prevalence of metabolic syndrome in type 2 diabetes mellitus using NCEP–ATPIII, IDF and WHO definition and its agreement in Gwalior Chambal region of Central India / D. Yadav [et al.] // *Global journal of health science*. – 2013. – Vol.5 (6). – P. 142–155.

358. Prevalence of metabolic syndrome: association with risk factors and cardiovascular complications in an urban population / G. C. Moreira [et al.] // *PLoS one*. – 2014. – Vol.9 (9). – P. e105056.
359. Prevalence of the Metabolic Syndrome in the United States, 2003–2012 / M. Aguilar [et al.] // *JAMA*. – 2015. – Vol. 313(19). – P. 1973–1974.
360. Procyanidins : From Agro-Industrial Waste to Food as Bioactive Molecules / L. J. Valencia-Hernandez [et al.] // *Foods*. – 2021. – Vol.10 (12). – P.3152.
361. Qiao, Q. Diagnostic criteria of glucose intolerance and mortality / Q. Qiao, J. Tuomilehto // *Minerva Med*. – 2001. – Vol.92 (2). – P.113 – 119.
362. Quercetin enhances adiponectin secretion by a PPAR–gamma independent mechanism / S. Wein [et al.] // *European journal of pharmaceutical sciences : official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences*. – 2010. – Vol.41 (1). – P. 16–22.
363. Quercetin reduces the transcriptional activity of NF–kB in stable coronary artery disease / N. Chekalina [et al.] // *Indian Heart J*. – 2018. – Vol. 70(5). – P. 593–597.
364. Red Grape Skin Polyphenols Blunt Matrix Metalloproteinase–2 and –9 Activity and Expression in Cell Models of Vascular Inflammation: Protective Role in Degenerative and Inflammatory Diseases / N. Calabriso [et al.] // *Molecules (Basel, Switzerland)*. – 2016. – Vol.21 (9). – P. 1147.
365. Reddon, H. The importance of gene–environment interactions in human obesity / H. Reddon, J. L. Guéant, D. Meyre // *Clinical science (London, England: 1979)*. – 2016. – Vol.130 (18). – P. 1571–1597.
366. Relation between ADIPOQ Gene Polymorphisms and Type 2 Diabetes / Z.-P. Li [et al.] // *Genes*. – 2015. – Vol. 6. – P. 512–519.
367. Relationship between serum adiponectin and the first phase of glucose–stimulated insulin secretion in individuals with different glucose tolerance / Q. Zhou [et al.] // *Journal of diabetes investigation*. – 2018. – Vol. 9 (5). – P. 1128–1134.

368. Renin inhibition improves metabolic syndrome, and reduces angiotensin II levels and oxidative stress in visceral fat tissues in fructose-fed rats / C. L. Chou [et al.] // *PLoS One*. – 2017. – Vol.12 (7). – P. e0180712.
369. Research advances on astragaloside-IV in treatment of diabetes mellitus and its complications pharmacological effects / Liang-Zhen You [et al.] // *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. – 2017. – Vol. 42 (24). – P. 4700–4706.
370. Ricketts, M. L. Polyphenols: Novel–Signaling Pathways / M. L. Ricketts, B. S. Ferguson // *Curr. Pharm. Des.* – 2018. – Vol. 24(2). – P.158–170.
371. Role of genetic variants in ADIPOQ in human eating behavior / K. Rohde [et al.] // *Genes Nutr.* – 2015. – Vol. 10(1). – P. 449.
372. Role of IGF–1 System in the Modulation of Longevity: Controversies and New Insights from a Centenarians' Perspective / G. Vitale [et al.] // *Frontiers in Endocrinology*. – 2019. – Vol.10. – P. 1664–2392.
373. Role of Leptin in Cardiovascular Diseases / M. S. Poetsch [et al.] // *Frontiers in endocrinology*. – 2020. – Vol. 11. – P. 354.
374. Role of Leptin in Inflammation and Vice Versa /A. Pérez-Pérez [et al.] // *International journal of molecular sciences*. – 2020. – Vol. 21, N 16. – P. 5887.
375. Rózańska, D. The significance of anthocyanins in the prevention and treatment of type 2 diabetes / D. Rózańska, B. Regulska–Iłow // *Adv. Clin. Exp. Med.* – 2018. – Vol.27 (1). – P. 135–142.
376. rs1501299 Polymorphism in the adiponectin gene and their association with total adiponectin levels, insulin resistance and metabolic syndrome in obese subjects / D. A. De Luis[ et al.] // *Ann. Nutr. Metab.* 2016. – Vol. 69, N 3–4. – P. 226–231.
377. Ruban, E. Prospects for Development of Antidiabetic Polyphenol–Based Drugs: Mechanisms of Hypoglycemic Action and Pharmacokinetics / E. Ruban, T. Kolisnyk, G. Slipchenko // *Annals of Mechnikov Institute*. – 2015. – Vol. 4. – P. 17–24.

378. Saklayen, M. G. The Global Epidemic of the Metabolic Syndrome / M. G. Saklayen // Current hypertension reports. – 2018. – Vol.20 (2). – P. 12.
379. Scavenger Receptor Class B type 1 (SR–B1) and the modifiable risk factors of stroke / C. Lenahan [et al.] // Chin. Neurosurg. JI. – 2019. – Vol. 5. – P. 30.
380. Semaphorin 3 C is a Novel Adipokine Representing Exercise–Induced Improvements of Metabolism in Metabolically Healthy Obese Young Males / J. S. Nam [et al.] // Scientific reports. – 2020. – Vol.10 (1). – P. 10005.
381. Seo, E. J. Phytochemicals as inhibitors of NF– $\kappa$ B for treatment of Alzheimer's disease / E. J. Seo, N. Fischer, T. Efferth // Pharmacological research. – 2018. – Vol.129. – P. 262–273.
382. Shabana, H. S. Leptin promoter variant G2548A is associated with serum leptin and HDL–C levels in a case control observational study in association with obesity in a Pakistani cohort / H. S. Shabana // J Biosci. – 2016. – Vol.41 (2). – P. 251–255.
383. Shin, S. Prevalence of metabolic syndrome in the Gulf Cooperation Council countries: meta-analysis of cross-sectional studies / S. Shin, H. Jee // Journal of exercise rehabilitation. – 2020. – Vol.16 (1). – P. 27–35.
384. Sirtuins in glucose and lipid metabolism / X. Ye [et al] // Oncotarget. – 2017. – Vol. 8, N 1. – P. 1845–1859.
385. Smooth muscle glucose metabolism promotes monocyte recruitment and atherosclerosis in a mouse model of metabolic syndrome / V. Z. Wall [et al.] // JCI insight. – 2018. – Vol.3 (11). – P. e96544.
386. Stenkula, K. G. Adipose cell size: importance in health and disease / K. G. Stenkula, C. Erlanson–Albertsson // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp.Physiol. – 2018. – Vol. 315 (2). – P. 284–295.
387. Stratton, C. F. Cheminformatic comparison of approved drugs from natural product versus synthetic origins / C. F. Stratton, D. J. Newman, D. S. Tan // Bioorganic & medicinal chemistry letters. – 2015. – Vol.25 (21). – P. 4802–4807.



388. Study of insulin status in metabolic syndrome in correlation with presence of other risk factors / S. Shekhar [et al.] // *Int. J. Res. Med. Sci.* – 2016. – Vol. 4. – P. 2734–2737.
389. Sun, Q. Isoflavonoids from *Crotalaria albida* Inhibit Adipocyte Differentiation and Lipid Accumulation in 3T3–L1 Cells via Suppression of PPAR– $\gamma$  Pathway / Q. Sun, G. Chou // *PloS one.* – 2015. – Vol.10 (8). – P. e0135893.
390. Supplementation of a grape seed and grape marc meal extract decreases activities of the oxidative stress-responsive transcription factors NF- $\kappa$ B and Nrf2 in the duodenal mucosa of pigs / D. K. Gessner [et al.] // *Acta Vet. Scand.* – 2013. – Vol. 55 (1). – P. 18.
391. Synthesis of New 6–{[ $\omega$ –(Dialkylamino(heterocyclyl)alkyl]thio}–3–R–2H–[1,2,4]triazino[2,3–c]quinazoline–2–ones and evaluation of their anticancer and antimicrobial activities / G. G. Berest [et al.] // *Sci. Pharm.* –2012. – Vol. 80, N 1. – P. 37–65.
392. Synthesis, cytotoxicity by bioluminescence inhibition, antibacterial and antifungal activity of ([1, 2, 4] triazolo[1,5–c]quinazolin–2–ylthio)carboxylic acid amides / L. N. Antipenko [et al.] // *Archiv der Pharmazie.* – 2009. – Vol. 342, N 11. – P. 651–662.
393. Systematic Review of Metabolic Syndrome Biomarkers: A Panel for Early Detection, Management, and Risk Stratification in the West Virginian Population / K. Srikanthan [et al.] // *International journal of medical sciences.* – 2016. – Vol.13 (1). – P. 25–38.
394. Systemic Inflammation in Metabolic Syndrome: Increased Platelet and Leukocyte Activation, and Key Role of CX3CL1/CX3CR1 and CCL2/CCR2 Axes in Arterial Platelet–Proinflammatory Monocyte Adhesion / P. Marques [et al.] // *Journal of clinical medicine.* – 2019. – Vol.8 (5). – P. 708.
395. The Association of SNP276G>T at Adiponectin Gene with Insulin Resistance

- and Circulating Adiponectin in Morbid Obese Patients after a Biliopancreatic Diversion Surgery / D. A. de Luis [et al.] // *Obesity surgery*. – 2017. – Vol. 27, N 12. – P.3247–3252.
396. The continuing epidemics of obesity and diabetes in the United States / A. H. Mokdad [et al] // *JAMA*. – 2001. – Vol. 286. – P. 1195–2000.
397. The correlation of atherosclerosis and triglyceride glucose index: a secondary analysis of a national cross-sectional study of Japanese / X. Yang [et al.] // *BMC cardiovascular disorders*. – 2022. – Vol. 22, N 1. – P. 250.
398. The evaluation of serum cystatin C, malondialdehyde, and total antioxidant status in patients with metabolic syndrome / N. Demircan [et al.] // *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*. – 2008. – Vol.14 (2). – P. CR97–CR101.
399. The impact of aerobic exercise training on novel adipokines, apelin and ghrelin, in patients with type 2 diabetes / N. P. Kadoglou [et al.] // *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*. – 2012. – Vol.18 (5). – P.CR290–CR295.
400. The impact of bilberry leaves' polyphenols on the anxiety level, spatial learning and memory of db/db mice / Y. S. Sidorova [et al.] // *Vopr. Pitan.* – 2019. – Vol. 88(3). – P. 53–62.
401. The impact of grape seed extract treatment on blood pressure changes: A meta-analysis of 16 randomized controlled trials / H. Zhang [et al.] // *Medicine*. – 2016. – Vol. 95 (33). – P. e4247.
402. The metabolic syndrome as predictor of type 2 diabetes : the San Antonio heart study / C. Lorenzo [et al.] // *Diabetes care*. – 2003. – Vol. 26, N 11. – P. 3153–9.
403. The MicroRNA-signaling-peroxisome proliferator-activated receptor gamma connection in the modulation of adipogenesis: bioinformatics projection on chicken / C.-J. Huang [et al.] // *Poultry science* 2022. – Vol. 101, N 8. – P. 101950.

404. The nuclear factor kappa B signaling pathway: integrating metabolism with inflammation / L. Tornatore [et al.] // *Trends Cell Biol.* – 2012. – Vol. 22 (11). – P. 557–566.
405. The prevalence of metabolic syndrome and metabolically healthy obesity in Europe: a collaborative analysis of ten large cohort studies / J. V.van Vliet-Ostapchouk [et al.] // *BMC Endocr. Disord.* – 2014. – Vol.14 (1). – P. 9.
406. The rising prevalence of diabetes and impaired glucose tolerance: the Australian Diabetes, Obesity and Lifestyle Study / D. W. Dunstan [et al.] // *Diabetes Care.* – 2002. – Vol. 25. – P.829–834.
407. The Saudi Abnormal Glucose Metabolism and Diabetes Impact Study (SAUDI-DM) / K. Al-Rubeaan [et al.] // *Annals of Saudi medicine.* – 2014. – Vol. 34(6). – P. 465–475.
408. The size of large adipose cells is a predictor of insulin resistance in first-degree relatives of type 2 diabetic patients / J. Yang [et al.] // *Obesity (Silver Spring, Md.)*. – 2012. – Vol. 20, N 5. – P. 932–8.
409. The Therapeutic Effects and Mechanisms of Quercetin on Metabolic Diseases: Pharmacological Data and Clinical Evidence / H. Yi [et al.] // *Oxidative medicine and cellular longevity.* – 2021. – Vol.6678662. [cited 2022-23-11] – Available from: <https://www.hindawi.com/journals/omcl/2021/6678662/>
410. Thiazolidinediones as antidiabetic agents : A critical review / M. J. Nanjan [et al.] // *Bioorganic chemistry.* – 2018. – Vol. 77. – P. 548–567.
411. Tiliroside, a glycosidic flavonoid, ameliorates obesity-induced metabolic disorders via activation of adiponectin signaling followed by enhancement of fatty acid oxidation in liver and skeletal muscle in obese-diabetic mice / T. Goto [et al.] // *J Nutr Biochem.* – 2012. – Vol. 23 (7). – P.768–76.
412. TLR2 and TLR4 mediate an activation of adipose tissue renin-angiotensin system induced by uric acid / J. Zhang [et al.] // *Biochimie.* – 2019. – Vol. 162. –

- P.125–133.
413. Today's and yesterday's of pathophysiology: Biochemistry of metabolic syndrome and animal models / S. Aydin [et al.] // *Nutrition*. – 2014. – Vol. 30 (1). – P.1–9.
414. Toll-like Receptors and Inflammatory Bowel Disease / Y. Lu [et al.] // *Frontiers in Immunology*. – 2018. – Vol. 9. – P. 72.
415. Torregrossa, A. C. Nitric oxide and geriatrics: Implications in diagnostics and treatment of the elderly / A. C. Torregrossa, M. Aranke, N. S. Bryan // *J. Geriatr. Cardiol.* – 2011. – Vol. 8 (4). – P. 230–242.
416. Total phenolic contents and antioxidant capacities of herbal and tea infusions / L. Fu [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2011. – Vol. 12. – P. 2112–2124.
417. Towards an open grapevine information system / A. F. Adam-Blondon [et al.] // *Horticulture research*. – 2016. – Vol. 3. – P. 16056.
418. Transforming growth factor- $\beta$  in stem cells and tissue homeostasis / X. Xu [et al.] // *Bone research*. – 2018. – Vol. 6. – P. 2.
419. Transforming growth factor- $\beta$  signaling pathway-associated genes SMAD2 and TGFBR2 are implicated in metabolic syndrome in a Taiwanese population / E. Lin [et al.] // *Scientific reports*. – 2017. – Vol. 7 (1). – P. 13589.
420. Trends in the prevalence of metabolic syndrome and its components in South Korea: Findings from the Korean National Health Insurance Service Database (2009-2013) / S. E. Lee [et al.] // *PloS one*. – 2018. – Vol.13 (3). – P. e0194490.
421. Tropical foods as functional foods for metabolic syndrome / O. D. John [et al.] // *Food & function* [online]. – 2020. – Vol.11. – P. 6946–6960.
422. Tufarelli, V. An overview on the functional food concept : Prospectives and applied researches in probiotics, prebiotics and synbiotics / V. Tufarelli, V. Laudadio // *J. Exp. Biol. Agric. Sci.* – 2016. – Vol. 6. – P. 3.

423. Understanding the Composition, Biosynthesis, Accumulation and Transport of Flavonoids in Crops for the Promotion of Crops as Healthy Sources of Flavonoids for Human Consumption / Y. S. Ku [et al.] // *Nutrients*. – 2020. – Vol.12 (6). – P.E1717.
424. Variations in ADIPOR1 but Not ADIPOR2 are Associated with Hypertriglyceridemia and Diabetes in an Admixed Latin American Population / G. Mora-García [et al.] // *The review of diabetic studies : RDS*. – 2017. – Vol.14 (2–3). – P.311–328.
425. Variations in the Obesity Gene "LEPR" Contribute to Risk of Type 2 Diabetes Mellitus: Evidence from a Meta-Analysis / M. M. Yang [et al.] // *Journal of diabetes research* [online]. – 2016. –P. 2314–6745. [cited 2022-18-08] Available from: <https://www.hindawi.com/journals/jdr/2016/5412084/>
426. Vega, G. L. Metabolic risk susceptibility in men is partially related to adiponectin /leptin ratio / G. L. Vega, S. M. Grundy // *Journal of Obesity*. – 2013. – Vol. 2013. – P.9.
427. Visceral Fat Area and Serum Adiponectin Level Predict the Development of Metabolic Syndrome in a Community-Based Asymptomatic Population / S. A. Cho [et al.] // *PloS one*. –2017. – Vol.12 (1). – P. e0169289.
428. *Vitis vinifera L.* Grape Skin Extract Prevents Development of Hypertension and Altered Lipid Profile in Spontaneously Hypertensive Rats: Role of Oxidative Stress / G. F. da Costa [et al.] // *Preventive nutrition and food science*. – 2020. – Vol.25 (1). – P. 25–31.
429. WHO monographs on medicinal plants commonly used in the Newly Independent States (NIS) Geneva: WHO [online]. – 2010. [cited 2022-18-08]. – Available from: <https://www.scribd.com/doc/180202309/Apps-who-Int-Medicinedocs-Documents-s17394es-s17394es>
430. WHO traditional medicine strategy: 2014–2023.Geneva [online]. – 2013. [cited

- 2022-18-08]. – Available from: [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/92455/9789244506097\\_rus.pdf](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/92455/9789244506097_rus.pdf)
431. Wine and its metabolic effects. A comprehensive review of clinical trials / E. Fragopoulou [et al.] // *Metabolism: clinical and experimental*. – 2018. – Vol. 83. – P. 102–119.
432. World Health Organization. Global Action Plan: For the Prevention and Control of Non-communicable Diseases. (2013–2020) [online]. [cited 2022-18-08]. – Available from: [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/94384/9789241506236\\_eng.pdf](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/94384/9789241506236_eng.pdf)
433. Yan, J. Green tea catechins prevent obesity through modulation of peroxisome proliferator-activated receptors / J. Yan, Y. Zhao, B. Zhao // *Science China. Life sciences*. – 2013. – Vol.56 (9). – P. 804–810.
434. Yazıcı, D. Insulin Resistance, Obesity and Lipotoxicity / D. Yazıcı, H. Sezer // *Adv Exp Med Biol*. – 2017. – Vol. 960. – P.277–304.
435. Zion Market Research. – 2022. The global dietary supplements market is projected to grow from \$71.81 billion in 2021 to \$128.64 billion in 2028 at a CAGR of 8.68% in forecast period. [cited 2022-30-08]. – Available from: <https://www.fortunebusinessinsights.com/dietary-supplements-market-102082>
436. Zörgő, S. A komplementer és alternatív medicina felé orientálódó terápiaválasztást meghatározó tényezők [Factors determining the selection of treatment options of complementary and alternative medicine] / S. Zörgő, G. Purebl, Á. Zana // *Orvosi hetilap*. – 2016. – Vol.157 (15). – P. 584–592.

## ПРИЛОЖЕНИЯ

### Приложение 1

#### *Препараты*

В качестве препаратов выбора ампело- и энотерапии методикой предусмотрено использование следующих продуктов:

- «Вино столовое красное «Здоровье». СТО 00831617-002-2015.ТУ «Напиток винный «Здоровье» ТИ 9171-003-00831617-2015» (ВСК) с содержанием суммарных полифенолов не менее 2,5 мг/мл в дозе 3,6 мл/кг в сутки, разделенной на два приема (обед/ужин) в течение 2 недель;

или

- «Экстракт полифенолов винограда. СТО 00831617-001-2015.ТУ» (ЭПВ) с содержанием суммарных полифенолов не менее 20 мг/мл, который применяли в дозе 0,45 мл/кг в сутки, разделенной на два приема (обед/ужин) в течение 2 недель [68, 346].

#### *Алгоритм определения варианта ампело- и энотерапии*

Диагностическое правило составлено как алгоритм, с определённой точностью воспроизводящий оптимальный подход к выбору препарата с высоким содержанием полифенолов на основании определения психосоматических характеристик пациента, выполненного квалифицированными врачами учреждений санаторно-курортного профиля.

При поступлении пациенты заполняют опросники (тест на приверженность к употреблению алкогольных напитков и опросник

“Функциональное и психологическое состояние”), приводятся в приложении 1 и 2, которые подвергаются статистическому анализу.

### *Содержание опросника*

Опросник “Функциональное и психологическое состояние” диагностирует оценку пациентом состояния здоровья, определяет уровень тревоги, объективную сторону качества жизни, которая отражает актуальное соматическое и психологическое состояние пациента, особенности его поведенческой активности, материальное и социальное положение, трудовой и семейный статус и субъективную оценку качества жизни. Клинические параметры включали балльную оценку следующих показателей : самочувствие (плохое – 1, удовлетворительное – 2, хорошее – 3, очень хорошее – 4); степень выраженности жалоб : нет – 0, слабо – 1, умеренно – 2, сильно – 3, резко – 4; подсчет общего количества всех жалоб и сумма баллов всех жалоб. На основании полученных результатов выделяли следующие группы :

- низкая удовлетворенность качеством жизни : эмоционально неустойчивые, осторожные в социальных контактах, более тревожные, неуверенные в себе, менее восприимчивые к нововведениям пациенты;
- средняя удовлетворенность качеством жизни : сдержанность в социальных контактах, экспрессивность, эмоциональная неустойчивость, но без тревожности, умеренно развитые волевые качества;
- высокая удовлетворенность качеством жизни : высокий уровень коммуникативной компетентности, эмоциональная устойчивость, организованность, высокий уровень стрессоустойчивости, уверенность в себе, тактичность, практическая направленность.

При использовании предлагаемого опросника получаемые с его помощью данные рекомендуется рассматривать в контексте других данных (результатов объективных методов и соавт.).

Тест на приверженность к употреблению алкогольных напитков включает блок вопросов относительно характера употребления алкогольных напитков.



Интерпретация результатов теста : при ответах 2–4 на 1 вопрос, «да» на вопрос 5 и «нет» на вопрос 6 – рекомендовано включение пациентов в группы с применением ВСК; при ответах 5–6 на 1 вопрос, «нет» на вопрос 5 и «да» на вопрос 6 – рекомендовано включение пациентов в группы с применением ЭПВ.

### *Объективные критерии*

Также выполнялись объективные, функциональные и лабораторные исследования, на основании результатов которых определяли функциональный класс стенокардии и недостаточности кровообращения, степень и стадию артериальной гипертензии, стратификацию факторов риска сердечно-сосудистых осложнений и уровень антиоксидантного статуса по концентрации церулоплазмينا плазмы крови (по методу Ревина) и степень напряжённости острофазового ответа – по концентрации С-реактивного протеина (иммунотурбидиметрическим методом). Концентрация СРБ меньше 1 мг/л указывает на низкий риск развития сердечно-сосудистых заболеваний и их осложнений, 1–3 мг/л – средний риск, больше 3 мг/л – высокий риск сосудистых осложнений у практически здоровых лиц и у больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями. Референсные значения : 200 - 400 мг/дл. Тест на определение работоспособности  $PWC_{170}$  проводится по методике В. Н. Литвинова и соавт. Испытуемому предлагается пройти расстояние 600 м за как можно более короткий промежуток времени (не бегом). Значения  $PWC_{170}$  вычисляются по формуле :  $PWC_{170}$  (кгм/мин) =  $A+K/t$ , где  $t$  – время прохождения дистанции,  $A$  и  $K$  – расчетные коэффициенты ( $A = -9,56$ ;  $K = 3516,54$ ).

По результатам теста к группе работоспособных относятся мужчины с результатом теста 900 кгм/мин и выше, а женщины с показаниями 750 кгм/мин и выше.

К группе с умеренным ограничением работоспособности относятся мужчины с результатом теста 600-899 кгм/мин и женщины с показанием теста 515 – 749 кгм/мин.

К группе со значительным ограничением работоспособности относятся мужчины с результатом теста 306-599 кгм/мин и женщины с показаниями 306–

514 кгм/мин.

### ***Генетическое тестирование***

Исследуются следующие полиморфные маркеры : rs11061971 гена ADIPOR2 (показана зависимость с риском развития с СД 2 типа в русской популяции); аллель +219Т rs11061971 и аллель +795А rs16928751 гена ADIPOR2, а также генотип GG- АД полиморфизма G (-2548) А гена лептина (rs7799039) (достоверно связаны с более высоким артериальным давлением у больных СД2); генотипы AA (rs11061971) и GG (rs16928751) гена ADIPOR2 (связаны с риском развития СД2 в переходных популяциях, в т.ч. на юге РФ); генотип GA полиморфизма rs16928751 гена ADIPOR2 (связан с увеличением ИМТ, как ключевого фактора МС). Таким образом, выделяются группы риска :

1. Группа с риском развития МС и СД2 – представители русской популяции (центральные и северные районы европейской части РФ)
2. Группа с риском артериальной гипертензии на фоне СД2 и МС
3. Группа с риском развития СД2 – представители популяций юга РФ
4. Группа с повышенным риском увеличения ИМТ в сочетании с МС и СД2

### ***Правила работы врача с алгоритмом***

В регистрационный лист заносятся данные о больном в соответствии с практическими задачами, стоящими перед врачом : развёрнутый клинический диагноз и ведущий синдром, наличие недостаточности кровообращения с определением функционального класса, наличие/отсутствие противопоказаний, степень приверженности пациента к употреблению алкогольных напитков, данные лабораторных и инструментальных методов обследования и соавт. Врачу предлагается выбрать в каждой графе таблицы наиболее подходящие для

пациента утверждения и в соответствии с результатом определить препарат для проведения ампело- и энотерапии. Алгоритм выбора препарата приводится в

таблице А.

Таблица А – Определение препарата ампело- и энотерапии в комплексе санаторно-курортного лечения больных сердечно-сосудистыми заболеваниями

Исследуемые параметры		Препарат выбора	
		ВСК	ЭПВ
ИБС:	стабильная стенокардия, функциональный класс	I, II	II, III
	постинфарктный кардиосклероз	показан	показан
АГ	степень	I, II	II, III
	стадия	I, II	II, III
Риск ССО		средний, высокий	высокий, очень высокий
Недостаточность кровообращения, функциональный класс		I, II	II, III
Сумма баллов “Функциональное и психологическое состояние”		высокая, средняя	средняя, низкая
		удовлетворенность	
Тест на приверженность к употреблению алкогольных напитков		низкая	высокая
Концентрация СРБ, мг/л		меньше 1 или 1-3	больше 3
Церулоплазмин, мг/дл		200-400	больше 400, меньше 200
Определение работоспособности по тесту PWC <sub>170</sub>		Сохранение работоспособности или умеренное ограничение	Умеренное или значительное ограничение работоспособности
Результаты генетического тестирования		Отсутствие риска	Положительный результат хотя бы по одной из выявленных групп риска

При интерпретации профиля врачам следует обращать внимание на соотношение оценок в двух областях, соответствующих двум группам назначаемых для энотерапии продуктов :

1) ВСК предпочтительно использовать у пациентов с незначительными проявлениями основного заболевания, с I степенью и стадией АГ, или с невысоким функциональным классом недостаточности кровообращения, с умеренным риском возникновения сердечно-сосудистых катастроф без выраженных нарушений психической и социальной адаптации, с низким или среднем уровнем приверженности к употреблению алкогольных напитков, относящихся к группе работоспособных или с умеренным ограничением работоспособности при определении  $PWC_{170}$ ;

2) пациентам с высоким функциональным классом стенокардии, высоким риском возникновения сердечно-сосудистых катастроф, умеренной артериальной гипертензией, более высоким функциональным классом недостаточности кровообращения, наличием психической дезадаптации, связанной преимущественно с высоким уровнем приверженности к употреблению алкогольных напитков и значительным ограничением работоспособности при определении  $PWC_{170}$ , а также положительным результатом по генетическому тестированию хотя бы одной группы риска следует рекомендовать применение ЭПВ.

## Приложение 2



### Приложение 3

Министерство здравоохранения Республики Крым

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель министра здравоохранения  
Республики Крым



Н.Н. Деркач

27.05.2019

**Применение энотерапии с использованием насыщенных  
полифенолами винограда продуктов в комплексном санаторно-  
курортном лечении больных с сердечно-сосудистой патологией**

**Методические рекомендации**

г. Симферополь, 2019

УДК 663.253.34/269:616.12

ББК 53.51

**Организации – разработчики:**

- Медицинская академия им. С.И. Георгиевского Федерального Государственного Автономного Образовательного Учреждения Высшего Образования «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского»
- Федеральное Государственное Бюджетное Учреждение науки «Всероссийский Национальный научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия «Магарач» РАН»
- Государственное унитарное предприятие Республики Крым «Санаторий АЙ-ПЕТРИ»

**Авторы: Кубышкин А.В., Шрамко Ю.И., Фомочкина И.И., Огай Ю.А., Черноусова И.В., Зайцев Г.П., Борисюк В.С., Стоянов В.С.**

Применение энотерапии с использованием насыщенных полифенолами винограда продуктов в комплексном санаторно-курортном лечении больных с сердечно-сосудистой патологией / Методические рекомендации. Под редакцией А.В. Кубышкина.- Симферополь.- 2019.- 24 с.

**Рецензенты:**

**Каладзе Н.Н.**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой педиатрии, физиотерапии и курортологии Медицинской академии им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского»

**Голубова Т.Ф.**, доктор медицинских наук, профессор, директор ГБУ ЗРК «Научно-исследовательский институт детской курортологии, физиотерапии и медицинской реабилитации»

**Хренов А.А.**, доктор медицинских наук, профессор кафедры пропедевтики внутренней медицины Медицинской академии им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского»

Методические рекомендации предназначены для специалистов санаторно-курортных учреждений, клиник и других медицинских учреждений, занятых лечением, реабилитацией, профилактикой больных ишемической болезнью сердца и гипертонической болезнью с применением энотерапии.

ISBN



УТВЕРЖДАЮ»

Зам. директора по научной  
работеИнститута  
«Медицинская академия им.  
С.И. Георгиевского» ФГАОУ  
ВО «КФУ им. В.И.Вернадского»  
Фомочкина И.И.

2021 г.

## АКТ

о внедрении результатов научных исследований в учебную работу

1. **Наименование предложения для внедрения:** Способ оценки оксидативного стресса при метаболическом синдроме
2. **Кем внедрено, исполнитель, адрес:** Ю.И. Шрамко — доцент кафедры, кафедра общей и клинической патофизиологии; соавторы: Кубышкин Анатолий Владимирович профессор, заведующий кафедрой общей и клинической патофизиологии, Фомочкина Ирина Ивановна профессор, заведующая кафедрой общей и клинической фармакологии, международный медицинский факультет, ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского» медицинской академии им. С.И. Георгиевского (г. Симферополь, бульвар Ленина 5/7), Таримов Кирилл Олегович, младший научный сотрудник, лаборатория аналитических исследований, инновационных и ресурсосберегающих технологий, ФГБУН «Всероссийский национальный научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия «Магарач» РАН»
3. **Источник информации:** Заявка № 2021103910 от 16.02.2021
4. **Где и когда внедрено:**
5. кафедра хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии Института «Медицинская академия им. С.И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского»
6. **Результаты применения данного внедрения** за период с ноября 2021 г. по настоящее время. Общее количество обученных: 50

**Эффективность внедрения** (в соответствии с критериями, изложенными в источниках информации): Обучение студентов диагностике оксидативного стресса позволяет прогнозировать эффективность заживления у челюстно-лицевых пациентов с метаболическим синдромом.

Заведующий кафедрой  
хирургической стоматологии и  
челюстно-лицевой хирургии,  
профессор, д.м.н.

« 30 » / 12 2021г.



Безруков С.Г.





УТВЕРЖДАЮ

Зам. директора по научной работе  
Института «Медицинская академия  
им. С.И. Георгиевского» ФГАОУ  
ВО «КФУ им. В.И. Вернадского»  
Фомочкина И.И.

2021 г.

АКТ

о внедрении результатов научных исследований в учебную работу

1. **Наименование предложения для внедрения:** Способ реабилитации больных с ишемической болезнью сердца на санаторно-курортном этапе
2. **Кем внедрено, исполнитель, адрес:** Ю.И. Шрамко — доцент кафедры, кафедра общей и клинической патофизиологии; соавторы: Захарьян Елена Аркадьевна, доцент кафедры внутренней медицины №1, Фомочкина Ирина Ивановна, профессор, заведующая кафедрой общей и клинической фармакологии, международный медицинский факультет, ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского» медицинской академии им. С.И. Георгиевского (г. Симферополь, бульвар Ленина 5/7), Таримов Кирилл Олегович, младший научный сотрудник, лаборатория аналитических исследований, инновационных и ресурсосберегающих технологий, ФГБУН «Всероссийский национальный научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия «Магарач» РАН», Черноусова Инна Владимировна, старший научный сотрудник, ФГБУН «Всероссийский национальный научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия «Магарач» РАН»
3. **Источник информации:** Заявка № 2021136296 от 07.12.2021
4. **Где и когда внедрено:** кафедра внутренней медицины №1 Института «Медицинская академия им. С.И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского»
5. **Результаты применения данного внедрения за период с ноября 2021 г. по настоящее время.** Общее количество обученных: 50

**Эффективность внедрения** (в соответствии с критериями, изложенными в источниках информации): Обучение студентов реабилитации больных с ишемической болезнью сердца позволяет снижать риск развития осложнений ИБС.

Заведующий кафедрой внутренней  
медицины №1, профессор, д.м.н.

« 12 » 12 2021г.



Ушаков А.В.